

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI
CAMPUS TANCREDO DE ALMEIDA NEVES
CURSO DE BACHARELADO EM ZOOTECNIA

INVESTIGAÇÃO DA POSSÍVEL FORMAÇÃO DO CLUSTER METÁLICO-LIGNO
CELULÓSICO EM RESÍDUOS DE MILHO.

HÉRCIO JORGE TRINDADE JR.

SÃO JOÃO DEL REI –MG

DEZEMBRO DE 2019.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI
CAMPUS TANCREDO DE ALMEIDA NEVES
CURSO DE BACHARELADO EM ZOOTECNIA

INVESTIGAÇÃO DA POSSÍVEL FORMAÇÃO DO CLUSTER METÁLICO-LIGNO
CELULÓSICO EM RESÍDUOS DE MILHO.

HÉRCIO JORGE TRINDADE JR.
Zootecnista

SÃO JOÃO DEL REI – MG

DEZEMBRO DE 2019.

HÉRCIO JORGE TRINDADE JR.

INVESTIGAÇÃO DA POSSÍVEL FORMAÇÃO DO CLUSTER METÁLICO-LIGNO
CELULÓSICO EM RESÍDUOS DE MILHO.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Zootecnia,
da Universidade Federal de São João Del Rei-*Campus* Tancredo de Almeida Neves,
como parte das exigências para a obtenção do diploma de Bacharel em Zootecnia.

Comitê de Orientação:

Orientador: Prof. Fernando de Paula Leonel (*UFSJ/CTAN*)

SÃO JOÃO DEL REI-MG

DEZEMBRO DE 2019

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos, da Biblioteca da
UFSJ/CTAN.

Bibliotecário(a): _____

TRINDADE JUNIOR, H. J.

Investigação da possível formação do Cluster Metálico Ligno-Celulósico em Resíduos de Milho/ Hércio Jorge Trindade Júnior – 2019. 36f

Defesa (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal de São João del Rei – *Campus* Tancredo de Almeida Neves, São João del Rei, 2019.

Bibliografia.

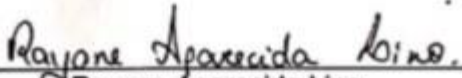
Orientador: Fernando de Paula Leonel

1. Ruminantes. 2. Nutrição Mineral 3. Resíduo de Milho

I- LEONEL, F.P. (Orientador)

INVESTIGAÇÃO DA POSSÍVEL FORMAÇÃO DO CLUSTER METÁLICO-LIGNO
CELULÓSICO EM RESÍDUOS DE MILHO.

Defesa Aprovada pela comissão Examinadora em: 03/12/2019



Rayane Aparecida Lino

Mestranda

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri



Bruna Cardoso Braga

Mestranda

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri



Prof. Dr. Fernando de Paula Leonel
Universidade Federal de São João del-Rei



Prof. Dr. Leonardo Marmo Moreira
Universidade Federal de São João del-Rei

AGRADECIMENTOS

“Abençoado seja o senhor, a minha rocha, que treina minhas mãos para guerra e meus dedos para batalha.” Salmos 144:1.

Queria agradecer primeiramente a Deus, por me conceder uma vida feliz e me dar forças para conseguir alcançar meus objetivos.

Ao meu pai Hércio que me ensinou que sem trabalho e suor não há glória, a minha mãe Celma que me ensinou a ter responsabilidade e persistência para não desistir dos meus objetivos. Eles moldaram meu caráter para ser o homem que me tornei.

A minha irmã Thamires minha companheira e amiga onde posso contar sempre com ela em todos os momentos.

Agradecer a minha vó Irene pelas orações e por sempre acreditar em mim.

Um agradecimento em especial aos meus companheiros da República Aldeia, que juntos passamos por momentos inesquecíveis que vou levar para o resto da minha vida. Aow lugar!

Um agradecimento mais que especial, vai para minha amiga/irmã Rayane que esteve comigo presente nesses anos de graduação e sempre acreditou no meu potencial, com certeza essa amizade vai ser para resto da minha vida. Nos momentos mais difíceis ela estava lá para me estender a mão e ajudar a levantar para seguir em frente. Que Deus abençoe ela e sua família. Pode ter certeza que vai ser chamada para ser madrinha do meu casamento e do meu filho kkk!!

Aos colegas do Grupo de Estudo GEPBOV, onde tive a honra de fazer parte da melhor equipe! Grandes amizades e muito aprendizado durante esses anos.

Ao meu orientador, Fernando Leonel por ter me dado essa oportunidade de trabalhar com ele nesse projeto e pela paciência de me orientar. Sou um admirador do seu trabalho, dos seus princípios e do seu caráter. Continue assim, nunca desista das suas ideias e abandone seus sonhos, podemos mudar o Mundo!!

Aos amigos que fiz durante esses anos na Zootecnia e em São João del Rei que sempre me desejaram o bem.

Obrigado a cada um de vocês!

“Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas aquele que vai acompanhado, com certeza vai mais longe.”

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Gráfico de concentração de Cu residual. -----	28
Figura 2- Gráfico de concentração de Zn residual. -----	29
Figura 3- Gráfico da porcentagem da formação de CMLC de Cu. -----	32
Figura 4- Gráfico da porcentagem da formação de CMLC de Zn. -----	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise de Regressão do Cu. -----27

Tabela 2 – Análise de Regressão do Zn. -----29

RESUMO

A alimentação é o fator mais oneroso do sistema de produção de bovinos de corte, dentro desse fator a suplementação mineral é a área da nutrição que demanda maior gasto econômico e em contrapartida é o ramo que possui menor número de estudos, grande parte por causa da complexidade do tema. O processo de absorção de minerais pelo organismo animal é um tema pouco abordado, tornando o processo completo desconhecido e possibilitando que novos estudos acresçam a eficiência do aproveitamento da suplementação mineral. Alguns destes estudos indicam que durante o processo de absorção mineral, podem ocorrer interações entre minerais e outras estruturas que prejudiquem a eficiência da absorção mineral. Aliando o fator econômico aos estudos, foi selecionado como fonte de fibra, o resíduo de milho, que é um alimento de baixo custo, que muitas vezes é subutilizado. Assim, foi testado a intensidade de formação do CMLC (Cluster metálico ligno-celulósico) para zinco (Zn^{2+}), e cobre (Cu^{2+}), metais que foram escolhidos em função de sua relevância nutricional para ruminantes em geral. Foram feitas incubações *in vitro*, com pH semelhante ao encontrado no ambiente ruminal, os níveis de metais incubados seguiram as exigências animais estabelecidas pelo NRC, sendo cinco tratamentos, tratamento controle com zero de adição de mineral, abaixo da exigência animal, semelhante a exigência animal, dobro da exigência animal e o triplo da exigência animal. Os resultados para as suplementações minerais de Zn^{2+} , Cu^{2+} demonstraram que as concentrações residuais dos metais na incubação foram maiores à medida que se aumentava a quantidade incubada no tratamento, mas ao mesmo tempo a proporção comparada entre os tratamentos diminuiu com o acréscimo de mineral. Logo, é possível inferir que a formação do complexo metálico é maior com a presença de quantidades maiores de metais na solução incubada. Pode se inferir também que o número de coordenação do metal suplementado na dieta influencia a quantidade da ocorrência da formação do CMLC, uma vez que, o menor número de coordenação significa menos sítios de ligação disponíveis para ligações com moléculas doadoras de elétrons. Portanto, foi possível deduzir que a formação do CMLC de fato ocorre e constitui um fator agravante da absorção mineral no TGI (Trato gastrointestinal), aumentando a perda dos minerais

ingeridos e sugerindo que os níveis de exigência em suplementação animal necessitam de um maior número de estudos para que se comprovem sua eficácia.

Palavras chaves:, cobre, lignina, minerais, ruminantes, zinco

ABSTRACT

Feeding is the most expensive factor in the beef cattle production system. Within this factor, mineral supplementation is the area of nutrition that demands the highest economic and counterpart expenditure, and the branch that has the least number of studies, largely because of complexity of the theme. The process of mineral absorption by the animal organism is a little addressed subject, making the complete process unknown and allowing new studies to increase the efficiency of mineral supplementation. Some of these studies indicate that during the mineral absorption process, interactions may occur between minerals and other structures that impair the efficiency of mineral absorption. Combining the economic factor with the studies, it was selected as a source of fiber, corn residue, which is a low cost food, which is often underused. Thus, the intensity of formation of CMLC (Ligno cellulosic metallic cluster) for zinc (Zn^{2+}) and copper (Cu^{2+}) was tested, metals that were chosen due to their nutritional relevance for ruminants in general. *In vitro* incubations were performed, with pH similar to that found in the rumen environment, the incubated metal levels followed the animal requirements established by the NRC, being five treatments, control treatment with zero mineral addition, below the animal requirement, similar to the animal requirement, double the animal requirement and triple the animal requirement. The results for Zn^{2+} , Cu^{2+} mineral supplementation showed that the residual concentrations of metals in the incubation were higher as the amount incubated in the treatment increased, but at the same time the proportion compared between treatments decreased with the addition of mineral. Thus, it is possible to infer that the formation of the metal complex is greater with the presence of larger quantities of metals in the incubated solution. It can also be inferred that the coordination number of the supplemented metal in the diet influences the amount of CMLC formation occurring, since the lower coordination number means fewer binding sites available for binding to electron donor molecules. Therefore, it was possible to deduce that the formation of CMLC does occur and constitutes an aggravating factor of mineral

absorption in the TGI (Gastrointestinal Tract), increasing the loss of the minerals ingested and suggesting that the levels of requirement for animal supplementation require a higher number of minerals. studies to prove their effectiveness.

Keywords: copper, lignin, minerals, ruminants, zinc

Sumário

1.INTRODUÇÃO	12
2.REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Cobre (Cu).....	14
2.2 Zinco (Zn).....	16
2.3 pH.....	18
2.4 Ambiente Ruminal,	19
2.5 Resíduo de Milho	20
2.6 Complexos Metálicos.....	21
2.8 Formação do Cluster	23
3. MATÉRIAS E MÉTODOS	24
3.1. Tratamentos e análises <i>in vitro</i>	24
3.2. Análise estatística.....	26
4. RESULTADOS.....	27
5.DISSCUSSÃO.....	31
6.CONCLUSÃO	34
7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	35

1. Introdução

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de carne bovina, com o avançar da tecnologia, as perspectivas do mercado quanto a produção e o desempenho econômico do segmento, tem obtido tendências crescentes, levando o país a um papel de destaque no mercado mundial, nos quesitos de produtividade e qualidade da carne. O conjunto desses fatores o coloca em uma posição estratégica para a cadeia produtiva e economia doméstica, sendo de grande importância para segurança alimentar do mundo.

Para que se atinja alta produtividade aliada a qualidade, a nutrição é um fator primordial entre aqueles que influenciam a produção animal. A suplementação mineral é uma alternativa indispensável, visto que os minerais trazem elementos que contribuem para o desenvolvimento do rebanho e garantem maior eficiência na produção, fornecendo nutrientes que complementam a dieta dos animais.

O alto custo da suplementação mineral é um dos principais entraves da sua administração, que quando realizada de maneira incorreta acarreta uma perda econômica significativa, resultando em uma queda na percentagem de ganho fisiológico e em resultados de produção. A somar a esses fatos, existem poucos trabalhos na literatura que estudam a interação dos minerais com a dieta, dificultando o aproveitamento máximo desse alimento de alto custo. Transformando o assunto em alvo de pesquisas, com o intuito de solucionar o desperdício desses nutrientes.

De acordo com Lino, 2018, cátions metálicos, como componentes da dieta, podem interagir com diferentes componentes dos alimentos. Os carboidratos fibrosos, por

exemplo, podem ‘indisponibilizar’ esses minerais para absorção intestinal e, conseqüentemente, para o metabolismo animal. Entretanto, uma melhor exploração dessas interações pode contribuir aos estudos de nutrição de ruminantes, uma vez que essas interações podem ser decisivas para atrapalhar a digestão de carboidratos como celulose e hemicelulose, bem como a absorção desses cátions metálicos.

A formação do chamado “cluster metálico ligno-celulósico” (CMLC) na digesta de ruminantes pode aumentar a excreção fecal de minerais (MOREIRA, 2013). As macromoléculas, lignina e hemicelulose podem atuar como bases de lewis (capacidade de um composto em doar um par de elétrons para formar uma ligação covalente coordenada), em cátions metálicos, assim ocorrendo um efeito macrocíclico onde a característica da flexibilidade encontrada na celulose, age como agente quelante para três ou mais sítios de coordenação de um centro ou de vários sítios ao mesmo tempo. Desse modo, dependendo da compactação do material fornecido na dieta para o animal, uma complexa rede de interações químicas pode ser constituídas de cátions metálicos, carboidratos fibrosos e outros compostos.

A projeção de produção de grãos de milho no Brasil, de acordo com o USDA (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos) está estimada em um valor de 96 milhões de toneladas na safra 2018/19, obtendo um incremento de 16,81% se comparado à safra anterior, e um pouco abaixo da safra 2016/17 (1,88%).

Toda produção gera resíduos, em uma lavoura de milho pode se considerar como resíduo o sabugo e a palhada, que não são aproveitados na produção de grãos, um cultivo de milho pode gerar entre 6 e 12 t ha⁻¹ de resíduos vegetais (BREMNER, 1970). Com a

finalidade de obter uma utilização mais lucrativa desse material de baixa qualidade, alternativas de alimentação de ruminantes vem sendo utilizadas.

Como forma de avaliar a formação dessas ligações entre cátions metálicos e moléculas de fibra, o resíduo de milho entra como uma opção viável, pelo seu alto teor de fibra e baixo preço de custo, uma vez que em muitos lugares ele é descartado.

Tem-se como objetivo avaliar a possível formação de um cluster metálico-ligno-celulósico (CMLC) entre cátions metálicos e componentes da dieta encontradas no resíduo de milho. As condições testadas para avaliar a possível formação correspondem a um ambiente semelhante, em termos de pH, aquele encontrado no rúmen, ou seja, próximo a neutralidade.

2. Revisão de Literatura

2.1 Cobre (Cu)

O cobre é um elemento químico de transição, que contribui para o arranjo de várias enzimas essenciais no metabolismo celular e possui dois isótopos estáveis, ^{63}Cu e ^{65}Cu . O número atômico do Cobre é 29 e sua massa atômica 63,54 u.m.a., sendo encontrado em quatro estados de oxidação, dentre eles o metálico Cu^0 , o cuproso Cu^{1+} , o cúprico Cu^{2+} , forma iônica estável no meio biológico, e o íon trivalente Cu^{3+} . O número de coordenação do Cu^{2+} é seis.

Entre as funções atribuídas a esse metal, tem destaque sua ação como um ótimo antioxidante, além da participação na composição de diversas enzimas envolvidas na

produção de energia celular, na formação de tecidos conectivos e na produção de melanina (BERCHIELLI et al, 2011). O Cobre está relacionado a funções importantes no metabolismo como a tirosinase, ligada à função de pigmentação da pele; citocromo oxidase, que é essencial para o processo final da oxidação; ceruloplasmina, que libera a condução do cobre e também a disponibilidade do ferro; transaminasis, que auxiliam no metabolismo dos aminoácidos, e a lisina oxidase, que auxilia na formação de tendões, ossos e elasticidade das artérias.

Bremner (1970) avaliou a absorção de Cu no trato gastrointestinal de ovelhas e observou que a absorção do mineral no rúmen foi baixa. Descreveu a presença de uma associação desse nutriente com o resíduo microbiano do rúmen, onde, ao ser disponível no abomaso, ocorreria uma diminuição da solubilidade do Cu. O órgão-estoque de Cu nos ovinos é o fígado e, de acordo com Saylor et al. (1980), mais da metade do Cu encontrado no citosol dos hepatócitos, nessa espécie, estaria associado às metalotioneínas (MT).

A deficiência de cobre é um problema comum em bovinos sob pastejo extensivo em várias partes do mundo (LUCCI, 1997). A deficiência de cobre pode causar sintomas críticos aos bovinos, como diarreia, irregularidades na reprodução, desordens ósseas, nervosas e cardiovasculares, escassez na pigmentação do tecido epitelial e desordem na queratinização dos pêlos. A hipocuprose em ovinos pode causar fragilidade e perda da ondulação da lã ou despigmentação da lã preta, alterações congênitas ou adquiridas da mielina (ataxia enzoótica), osteoporose, anemia e redução do crescimento. Em bovinos, diversos quadros clínicos são observados na hipocuprose, podendo ocorrer menor

desenvolvimento corporal e baixo desempenho reprodutivo, anemia, osteoporose, alterações da pigmentação dos pêlos e diarreia (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999).

2.2 Zinco (Zn)

O Zinco (Zn) é um microelemento do grupo dos metais, com estado de oxidação $2+$ e número de coordenação é igual a 4.

As funções designadas ao elemento no organismo animal, tem finalidades específicas e de grande importância como a composição do RNA nucleotídeo transferase, RNA polimerase, fosfatase alcalina, carboxipeptidase, álcool desidrogenase e anidrase carbônica (COUSINS, 1996). O Zn foi identificado como peça-chave no processo de queratinização (MÜLLING, 2000). As Metalotianinas necessitam da ação do Zn como ativador, tornando um elemento essencial no processo metabólico enzimático.

Tomlinson et al. (2004) estudando a participação do Zn no processo de queratinização das unhas dos bovinos postulou que a presença do ácido ribonucleico, desoxirribonucléico, grupos aldeído livres, ácido ascórbico e fosfatase alcalina nas células que estivessem em processo de queratinização, serviria como indicador de intensa atividade celular. Isso indicaria, também, que quantidades consideráveis de Zn seriam encontradas nesse tecido. O Zn regularia a calmodulina, a proteína quinase C e a síntese de fosfato inositol, todos esses compostos seriam importantes no processo de diferenciação e queratinização dos queratinócitos. Assim como o Cu, o Zn atuaria como

ativador da superóxido-dismutase (SOD), enzima responsável pela prevenção da peroxidação lipídica.

De acordo com Bremner (1970), a solubilidade do Zn no rúmen seria extremamente baixa. Contudo, ela tenderia a aumentar, após a passagem do conteúdo digestivo para o abomaso. O acréscimo de solubilidade ao pH do abomaso, favorece a dissolução dos complexos insolúveis que chegariam do rúmen, inserindo uma porção proteica na dieta.

O local onde ocorre a maior absorção de Zn é o intestino delgado, no entanto, essa absorção pode sofrer flutuações, devido à presença de metalotioneínas (MT) e outros elementos, como Ca, Cu, selênio (Se) e cádmio (Cd), (SILVA et al, 2017).

O excesso de Zn na dieta em ruminantes pode causar complicações aos animais. Campbell e Mills (1979) forneceram uma dieta com excesso de Zn para ovelhas gestantes e avaliaram os efeitos dessa suplementação, o Zn induziu severa deficiência de Cu nas ovelhas gestantes, gerando alta incidência de abortos e natimortos. O consumo de alimentos, o ganho de peso e a conversão alimentar, foram reduzidos para as fêmeas que receberam o nível máximo de Zn (750mg Zn/kg dieta). Ainda, segundo esses autores, a deficiência de Cu refletiu a mesma condição nos neonatos.

Underwood e Suttle (1999) destacaram que a deficiência de Zn também poderia afetar o sistema imune, causando atrofia do timo, com subsequente redução do sistema humoral. Entre outros sintomas, a deficiência desse elemento, pode ocasionar alopecia, paraqueratose, emaciação, linfopenia, restrição de proteínas plasmáticas como a albumina, monocitose entre outros sinais de depressão imune.

2.3 pH

O pH foi originalmente definido por Sorensen em 1909 em termos da concentração de íons hidrogênio (em nomenclatura moderna) como, $\text{pH} = -\lg (c_{\text{H}} / c^{\circ})$ em que c_{H} é a concentração de íons hidrogênio em mol dm^{-3} , e $c^{\circ} = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ é a concentração da quantidade padrão (CHAIRMAM et al, 2002).

O entendimento sobre o conceito de pH é essencial para inúmeros processos biológicos. Ao nos referirmos sobre o pH, fazemos menção ao potencial hidrogeniônico de uma solução, isto é, a quantidade dispersa de H^+ ou H_3O^+ em um solvente de uma solução.

De acordo com o conceito da dissociação iônica de Arrhenius, uma substância é classificada ácida se, em ambiente aquoso, ela liberar como único cátion o H^+ (ou H_3O^+). Quanto maior a parcela desses íons no ambiente, mais ácido será a solução.

A escala de pH difere entre 0 e 14 em temperatura de 25°C . O pH 7 (semelhante ao pH da água) é considerado neutro no meio de solução aquosa, na qual a concentração de H^+ será igual a concentração de OH^- . Sendo o pH 7 como neutro, o pH do sangue, 7,4, é especificamente equilibrado. Valores de pH próximos da neutralidade são também encontrados em secreções derivadas do sangue, como lágrima, saliva e leite humano. Valores abaixo de 7 tende a ter pH mais ácido, exemplo é o suco gástrico que tem um pH igual 1,5. Já para as substâncias consideradas alcalinas com pH acima de 7, temos como exemplo, o bicarbonato de sódio (próximo de 9), e detergentes em geral (CURY et al, 2017).

2.4 Ambiente Ruminal

Os processos fisiológicos do segmento ruminorreticular, permitem a manutenção de padrões de fermentação que proporcionam benefícios para o animal. Os próprios microorganismos que hospedam o animal, têm controle direto sobre seu metabolismo, possibilitando condições necessárias para o desenvolvimento de fungos, bactérias e protozoários, que fazem parte do processo fermentativo no sistema digestório. Entre essas condições ideais temos, presença de anaerobiose, manutenção de pH, temperatura, motilidade ruminal e a presença de microorganismos (BERCHIELLI et al, 2011).

A temperatura ideal para as condições fisiológicas do rumen é próxima à 39° C, sendo regulada por meio de mecanismos homeostáticos. Segundo Broad et al. (1982) a ingestão de água em diferentes temperaturas, pode alterar o ambiente ruminal, modificar seu pH, reduzir a temperatura e causar a diminuição da atividade microbiana, resultando na redução da digestibilidade dos alimentos.

As bactérias anaeróbicas restritas, necessitam de condições com ausência de oxigênio para realizarem a digestão fermentativa. O oxigênio é introduzido no rúmen via alimento, em conjunto com a água ou por propagação dos vasos sanguíneos, e logo é, usado pelas bactérias anaeróbicas facultativas ou é liberado através da eructação (BERCHIELLI et al, 2011).

Os microrganismos também necessitam de pH em faixa ideal para seu desenvolvimento. Os protozoários, bactérias celulolíticas, necessitam de pH 6,2 ou mais alto, enquanto as bactérias aminolíticas são ativas em condições ácidas, com o pH em

torno de 5,8 (BERCHIELLI et al, 2011). Para manter uma faixa ideal de pH para o desenvolvimento dos microorganismos, o bovino secreta a saliva, que serve de tamponante, produzindo cerca de 60 a 180 L/d, a saliva é estimulada através do bolo alimentar pelas características físicas ou fisiológicas do alimento e pela mastigação. O conteúdo salivar possui um pH de 8,1 e assim, neutraliza os ácidos graxos voláteis no rúmen. O rúmen é colonizado por vários microorganismos, que são responsáveis pela fermentação, entre eles estão as bactérias, fungos e protozoários.

2.5 Resíduo de Milho

A fibra de milho é um recurso renovável disponível em grande quantidade, podendo ser uma boa fonte de valiosos produtos de consumo, como por exemplo a goma de fibra de milho (YADAV et al, 2016). Grãos de milho são colhidos quando as plantas estão maduras e a fibra se encontra lignificada, desta maneira, a digestibilidade *in vitro* da matéria seca é geralmente baixa, ou seja, abaixo de 50% para palhada de milho.

O valor nutritivo do resíduo de milho é baixo e os teores de PB, NDT, P e alguns microelernentos (Zn e Cu) estão abaixo das necessidades de mantença de vacas secas nitrogênio está ligado à lignina, numa forma não disponível para os microorganismos do rúmen e para o animal (VETTER, 1975).

Subprodutos obtidos de operações de processamento agrícola, como palha de milho, arroz, farelos de palha e cereais, são ricos em lignocelulose. Fibras isoladas dessas fontes podem ser úteis em inúmeras aplicações, em uma ampla gama de indústrias,

incluindo, alimentos, biocombustíveis, cosméticos, setores de medicina, embalagem, construção e alimentação animal (REDDY E YANG, 2005).

Os resíduos das colheitas são fornecidos como alimentos aos animais domésticos em formas que vão desde, ao tradicional pastoreio de restolho dos campos de grãos colhidos até a preparação de misturas de resíduos picados, que são tornadas mais palatáveis e nutritivas pela adição de compostos ricos em nitrogênio (SMIL, 1999).

Os ruminantes podem digerir celulose porque os microorganismos no rúmen produzem as enzimas necessárias (VAN SOEST, 1994). De fato, para manter a atividade ruminal normal, pelo menos um sétimo da dieta normal dos ruminantes (em termos de matéria seca) deve estar em volumosos (NRC, 1996). Mas a presença de lignina diminui a digestibilidade geral dos resíduos, além disso, além de sua baixa energia metabolizável, eles também são baixos em proteínas e deficientes em minerais (BATH et al. 1997).

A baixa digestibilidade da matéria seca limita a digestão da parede celular das plantas, que é composta por componentes fibrosos como celulose, hemicelulose e lignina. A fibra é constituída por substâncias insolúveis, parcialmente digeríveis e totalmente indigeríveis, que ocupam espaço no trato gastrintestinal dos animais (VAN SOEST, 1994).

2.6 Complexos Metálicos

Os átomos dos metais pesados trazem configurações eletrônicas com alguns elétrons de valência e alguns orbitais livres. Ao se desligar dos elétrons de valência o

átomo de metal se transforma em um íon que pode ser ligado a outro íon, formando ligações de natureza iônica. Porém, seus orbitais vazios podem receber pares de elétrons de uma outra espécie, que os tenha disponíveis, resultando em uma ligação covalente (OLIVEIRA et al., 2009)

Deste modo, a criação de um complexo acontece pela distribuição de pares de elétrons entre um íon metálico e uma espécie capaz de doar elétrons. Este comportamento pode ser tratado segundo a teoria ácido-base de Lewis (OLIVEIRA et al., 2009).

Os elementos inorgânicos que são nutrientes essenciais dos ruminantes em concentrações mais elevadas (macroelementos) são cálcio, fósforo, magnésio, cloro, sódio, enxofre e potássio. Os principais elementos inorgânicos essenciais aos ruminantes em menor concentração (microelementos) são ferro, cobre, manganês, iodo, zinco, cobalto, selênio, cromo e níquel (ZANETTI, 2001).

É possível afirmar que vários íons catiônicos (incluindo íons metálicos), que normalmente estão presentes na maioria das fontes nutricionais, atuam efetivamente como centros de coordenação de vários sítios doadores eletrônicos (átomos de oxigênio com seus pares eletrônicos "livres"). Esses íons atuam como ligantes para os centros de coordenação. De fato, alguns sítios são neutros e outros sítios básicos são carregados negativamente (sítios aniônicos), constituindo assim tipos distintos de sítios doadores eletrônicos (MOREIRA et al., 2013).

Curiosamente, centros de coordenação como Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^+ e Cu^{2+} geralmente têm seis ligantes ("número de coordenação": 6), ou seja, esses centros metálicos são freqüentemente centros hexacoordenados. Portanto, cada centro metálico, como o Fe^{3+} , poderia formar seis (6) ligações com diferentes átomos doadores, como átomos de

oxigênio, em sua vizinhança química. Zn^{2+} é normalmente encontrado em um centro tetracoordenado ("número de coordenação": 4) por causa da configuração eletrônica dos seus d orbitais atômicos (d^8). Deste modo, o sistema supramolecular formado pela lignina, celulose e hemicelulose geraria várias regiões quelantes para o centro metálico, que estão estereoquimicamente disponíveis nesta posição molecular, e tem o potencial de formar pelo menos quatro ligações covalentes coordenadas (MOREIRA et al; 2013).

2.8 Formação do Cluster

Considerando que os elementos minerais são componentes forrageiros relevantes, é possível inferir que alguns íons catiônicos podem atuar como "ácidos de Lewis" para o grande número de "bases de Lewis" encontradas na lignina, celulose e hemicelulose. (MOREIRA et al; 2013).

A definição da teoria "ácido base de Lewis", refere-se a compostos capazes de receber ou doar pares de elétrons. Um ácido de Lewis é todo composto, átomo ou íon capaz de receber um par de elétrons para formar uma ligação covalente coordenada, enquanto uma base de Lewis é todo composto, átomo ou íon capaz de doar um par de elétrons para formar uma ligação covalente coordenada.

Deve-se considerar as interações entre cátions metálicos e sítios doadores de elétrons (bases de Lewis), que são encontrados em grande número na celulose, hemicelulose e lignina.

A relativa flexibilidade estrutural da lignina, celulose e hemicelulose deve favorecer a formação de um "número de coordenação" significativo para cada centro metálico. Neste caso, o baixo grau de ordem e o alto grau de heterogeneidade que são comuns à lignina, devem favorecer uma maior disponibilidade de diferentes sítios de oxigênio para coordenar com os vários cátions metálicos, que estão presentes no mesmo meio químico (RALPH, 1998).

Os cátions metálicos agem como um centro de coordenação, recebendo doações de elétrons de compostos estruturais como a celulose, a hemicelulose e a lignina, o arranjo molecular formado por essas moléculas tem sido chamado de cluster metálico ligno-celulósico (CMLC).

Depois de formado, o CMLC, age indisponibilizando compostos metálicos e sobretudo, partes fibrosas encontradas nos alimentos, dificultando a absorção dos mesmos pela parede ruminal e acarretando em uma maior oneração do sistema, uma vez que, a suplementação dos cátions metálicos tende a ser de alto custo.

3. Materiais e Métodos

3.1. Tratamentos e análises *in vitro*

Para a verificação da provável formação do CMLC, foi usado o método de ensaio *in vitro*. O alimento utilizado foi o resíduo do colheita de milho (sabugo, palha, colmo do milho) destinados uma unidade de processamento e beneficiamento de grãos.

O resíduo foi coletado e levado á uma estufa secadora de 55°C, por um período de 48 horas e logo após foi triturado em moinho de facas, com uma peneira de tamanho de partícula de 1,0mm.

Foram preparadas 2 soluções mães, uma contendo água destilada e sulfato de zinco e outra contendo água destilada e sulfato de cobre, através dessas foram feitas diluições com a metade da exigência desses minerais, a exigência, o dobro da exigência e o triplo da exigência para bovinos de corte.

Sendo as exigência de Cobre para Ruminantes de acordo com o NRC: 10mg/kg de MS. Portanto foram feitas incubações de Cu 0mg, 5mg, 10mg, 20mg 30mg. E as exigência de Zinco para ruminantes de acordo com o NRC: 30mg/kg de MS. Incubação Zn 0mg, 15mg, 30mg, 60mg e 90 mg.

Em seguida em tubos do tipo falcon de 50mL, foram colocados 2 g das amostras de resíduo de milho, adicionando a seguir as soluções diluídas com Zn e Cu, em um pH próximo ao pH da água. Após esse procedimento as amostras foram tampadas, e agitadas a cada 1 hora, durante 48 horas em temperatura ambiente.

O processo de filtragem foi realizado em seguida, usando filtro de papel livre de minerais, uma bomba a vácuo foi usada para agilizar o processo. Após a filtragem o material residual do filtro foi colocado na estufa de 105°, permanecendo por um período de 24 horas, depois desse tempo o resíduo foi pesado, obtendo um peso aproximado de 0,2 g de amostra.

Em sequência a amostra foi colocada em tubos de ensaio, adicionando-se aos mesmos 5 mL de ácido nitroperclórico e levado ao bloco digestor a 100°C por 30 minutos. Após

esse período a temperatura foi aumentada a 150°C por mais 30 minutos e depois chegando a 200°C pelos próximos 60 minutos, até o conteúdo obter uma coloração translúcida.

Após a digestão das amostras, as mesmas foram novamente filtradas com papel filtro livre da presença de minerais em um balão volumétrico, e seu conteúdo completado com água destilada até o volume de 10 mL. Esse valor amostral foi dividido em amostra e repetição.

As incubações *in vitro* descritas acima foram repetidas cinco vezes (cinco execuções). Cada corrida foi considerada um bloco e representou a unidade experimental.

3.2. Análise estatística

Os dados obtidos após a incubação foram submetidos à análise de variância com o nível de significância determinado pelo teste F a 1% de probabilidade. O efeito dos níveis de incubação do cobre e do zinco foram avaliados por meio de análise de regressão linear simples. Esses procedimentos estatísticos foram determinados utilizando-se o programa SAS (v.9.4 SAS Systems, Inc., Cary, NC, USA).

4. Resultados

4.1 Cobre

Para o cobre, a análise de variância foi significativa ($p < 0,01$) (Tabela 1) e o valor de regressão revelou efeito linear; de acordo com a equação no gráfico 1. De acordo com essa equação, para cada unidade de cobre adicionada ao resíduo de colheita de milho, quase 0,3 unidades de cobre ficam retidas no material original.

Tabela 1. Análise de regressão do Cu

Cu RCM	B	IC 99%	p-valor
Interceção	2,2486	[1,7346; 2,7626]	0,000365
TRAT	0,2954	[0,2649; 0,3258]	0,000000

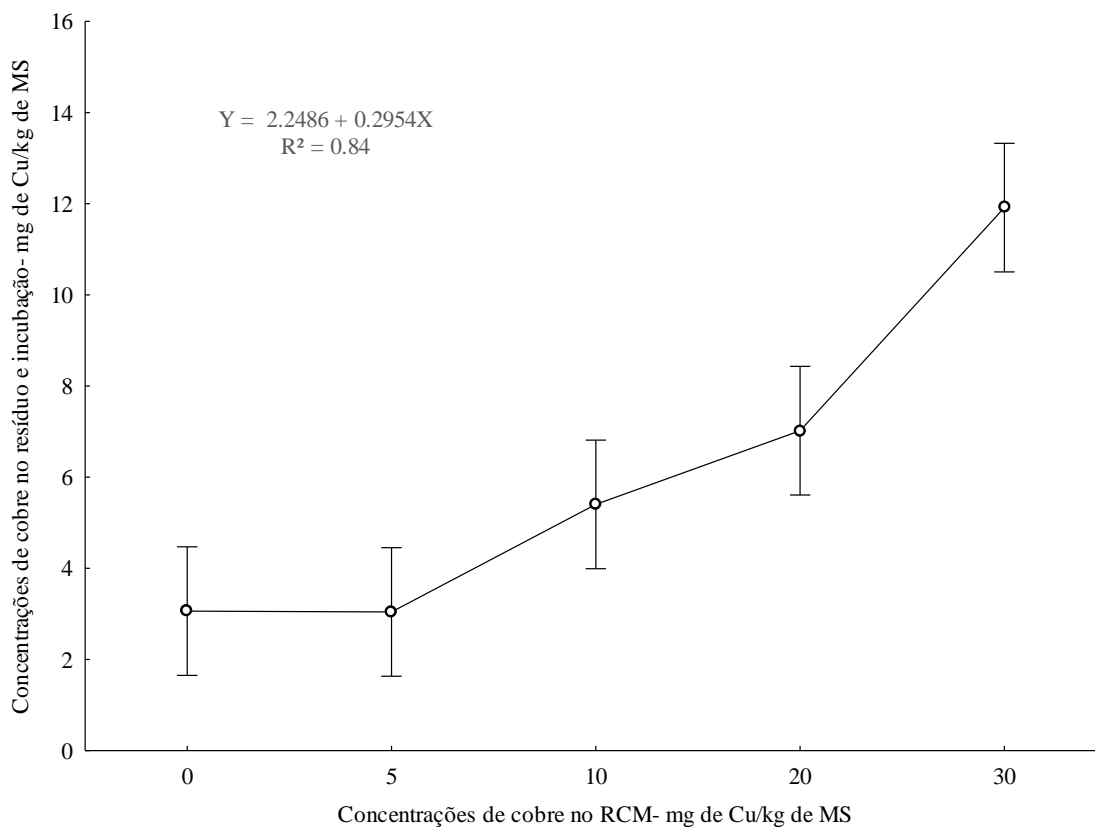


Figura 1. Gráfico de concentração de Cu residual em função dos níveis de Cu na MS

Importante ressaltar que no tratamento controle, as concentrações residuais encontradas se devem ao teor de cobre presente na composição do resíduo do milho, que mesmo presentes em pequenas quantidades, são suficientes para interagir com as moléculas dos carboidratos fibrosos e gerar a formação do CMLC.

4.2 Zinco

Para o zinco, a análise de variância foi significativa ($p < 0,01$) (Tabela 2) e o valor de regressão revelou efeito linear, de acordo com a equação no gráfico 2. De acordo com essa equação, para cada unidade de zinco adicionada ao resíduo de colheita de milho, quase 0,08 unidades de zinco ficam retidas no material original.

Tabela 2. Análise de regressão do Zn

Zn RCM	B	IC 99%	p-valor
Interceção	3,705722	[3,1960; 4,2153]	0,000001
Zn TRAT	0,079657	[0,0696 ;0,0897]	0,000000

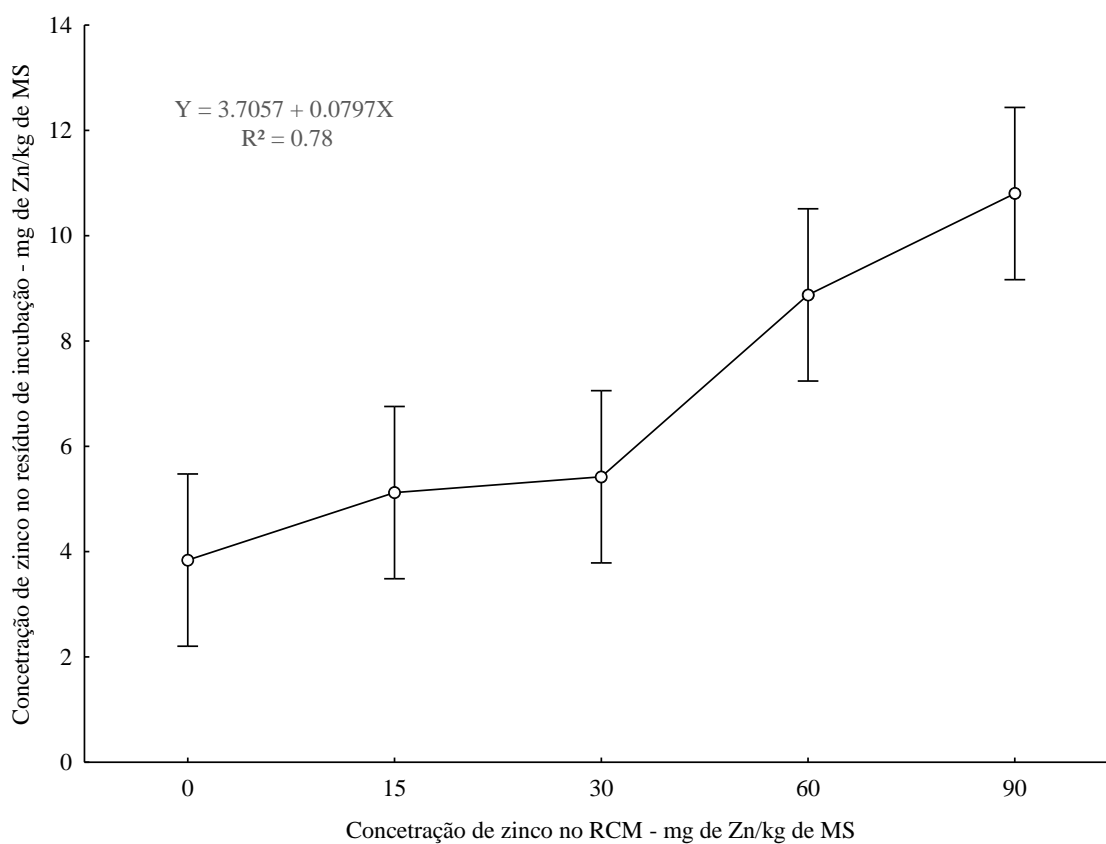


Figura 2. Gráfico de concentração de Zn residual em função dos níveis de Zn na MS

As maiores concentrações de zinco residual, que ficaram retidas na filtragem das amostras foram encontradas quando a quantidade de zinco adicionada correspondia ao triplo da exigência, 90 mg de Zn/kg de MS. Importante ressaltar que no tratamento controle (sem adição de Zn), as concentrações residuais encontradas se devem ao teor de

zinco presente na composição do resíduo do milho, que mesmo presentes em pequenas quantidades, são suficientes para interagir com as moléculas dos carboidratos fibrosos e gerar uma possível formação do CMLC.

5. Discussão

Os tratamentos sem inclusão de Cu e Zn na incubação apresentam uma pequena quantidade destes minerais, mesmo eles não sendo adicionados à mistura. Essa presença se deve aos níveis de cobre e zinco encontrados no alimento volumoso, resíduo de milho, que mesmo sendo em baixa quantidade, são capazes de sofrer interações com as partes fibrosas do alimento quando os mesmos entram em contato com o ambiente ruminal, formando ligações covalentes e indisponibilizando ambos os cátions para a absorção ruminal. A incubação *in vitro*, permitiu que o composto fique retido no filtro, após a incubação de simulação de pH ruminal.

Os tratamentos que tiveram a adição de Cu^{2+} e Zn^{2+} apresentaram comportamentos semelhantes, independentemente da quantidade adicionada desses minerais.

Embora as maiores concentrações de cobre e zinco residual teriam sido encontradas na incubação adicionadas com 30 mg de Cu/Kg de MS e 90 mg de Zn/kg de MS, pode se observar uma queda proporcional na quantidade de resíduo encontrado, quando comparados os 5 níveis de adição dos minerais na incubação. De acordo com os gráficos da figura 3 e 4, a proporção da quantidade de material residual no filtrado diminuiu à medida que se aumentou o nível de inclusão de cobre e zinco.

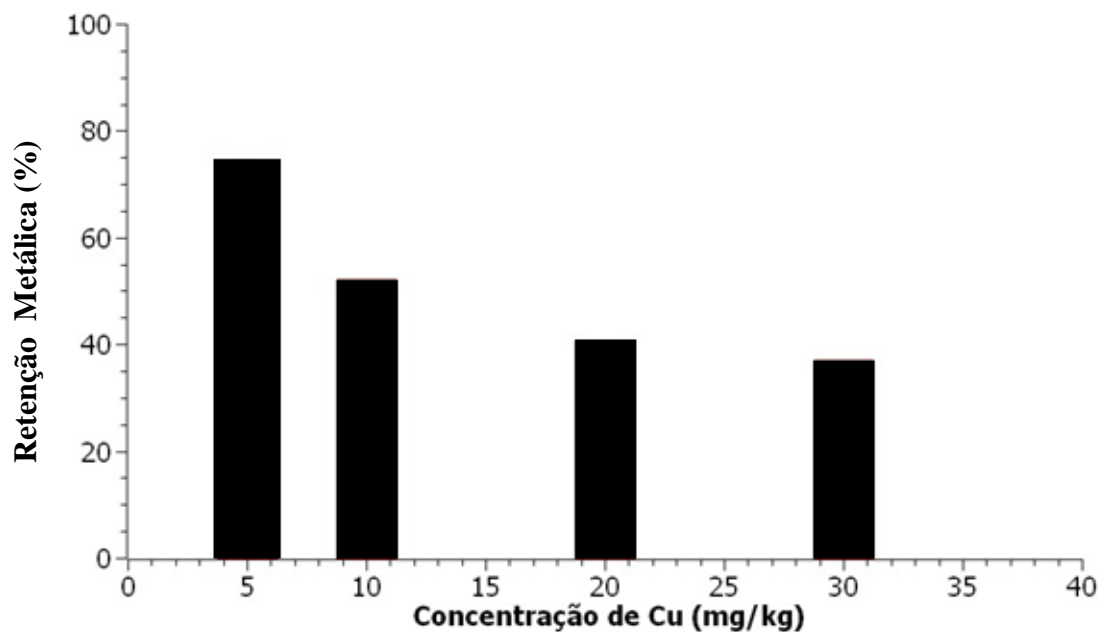


Figura 3. Gráfico da porcentagem da formação de CMLC de Cu.

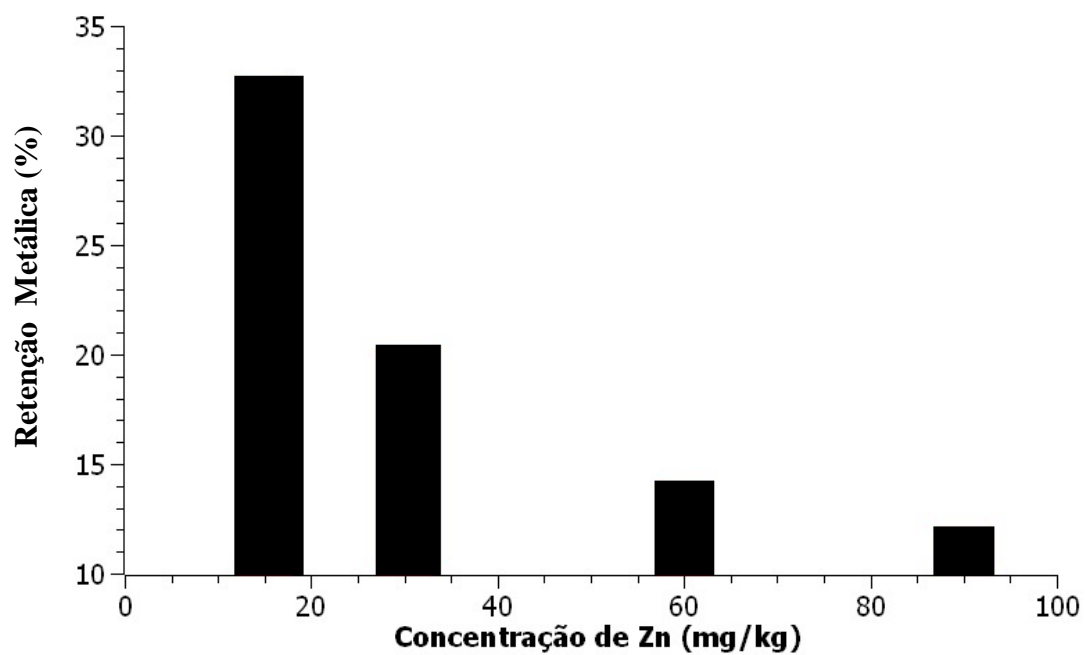


Figura 4. Gráfico da porcentagem da formação de CMLC de Zn.

Uma hipótese para justificar a diminuição do material residual, com o aumento da adição de cobre e zinco na incubação, pode estar relacionada a quantidade fixa de material

fibroso adicionada. À medida que se se aumenta a adição dos minerais, os mesmos poderiam estar passando pela filtragem por não ter material fibroso suficiente para gerar ligações covalentes coordenadas, mas ao mesmo tempo pode se destacar também a diferença nas unidades de medidas de ambos íons, uma vez que para o resíduo de milho foi usado g/kg para o sulfato de cobre (CuSO_4) e sulfato de zinco (ZnSO_4) mg/kg.

Pode-se ressaltar ainda, que quando se suplementa o animal com a quantidade de cobre exigida pelo NRC, 10 mg/kg de MS, de acordo com a Figura 1, apenas 4,7992 mg Cu/kg de MS passam pela filtragem, ou seja o restante fica como material residual no filtro, onde ocorre-se a possível formação do CMLC.

Para a suplementação de Zinco, pode-se destacar que, quando se incuba um material com a quantidade exigida pelo NRC, de 30 mg Zn/kg de MS, de acordo com a Figura 1; 23,90 mg Zn/kg de MS passam pela filtragem, ou seja o restante fica como material residual no filtro, onde ocorre-se a possível formação do CMLC.

Observa-se que a perda percentual de suplemento mineral com a possível formação do cluster é significativa, uma vez que aproximadamente metade, quando se trata do valor básico da exigência de Cobre, é perdido. Em se tratando do Zinco, a perda ou relação ao nível de exigência é de aproximadamente 20% do que é suplementado.

O teor residual do cobre é maior que o encontrado no zinco, levando em consideração a porcentagem entre suplementado e retido e proporcionalmente em relação as suas exigências. Essa diferença deve-se, teoricamente, ao número de coordenação de ambos, uma vez que, o Zn^{2+} é um metal tetracoordenado e o Cu^{2+} hexacoordenado. O fato de o Zinco possuir dois possíveis ligantes a menos que o cobre colabora para que esse

metal seja mais absorvido, uma vez que os seis possíveis ligantes do cobre o tornam um “alvo” mais fácil para o sequestro em parte das fibras e posterior formação do cluster.

5. Conclusão

Por mais que seja de conhecimento de estudiosos que há ocorrência de perdas durante o processo de absorção mineral, uma maior compreensão desse processo ainda é necessária, e os dados obtidos no presente trabalho reforça a ideia de que ocorra sim a formação de um “cluster”, e que esse possa ser o principal entrave da baixa absorção desses minerais.

A maior quantidade de cobre residual, quando comparada a do zinco, reforça a hipótese que o número de coordenação é fator decisivo para os níveis de perda de minerais no TGI, tornando metais com números maiores, mais suscetíveis a serem sequestrados pela porção fibrosa e obterem um menor coeficiente de absorção no organismo animal.

Como ressaltado anteriormente, o preço da suplementação mineral é oneroso, de forma que os dados encontrados justificam a importância sobre a formação do CMLC e evidencia que mais estudos sejam realizados afim de que se possa obter resultados visando à melhoria do processo de absorção mineral.

6. Referências

BATH D DUNBAR J KING J BERY S OBRICH L S . 1997. **Byproducts and unusual feedstuffs**. *Feedstuffs* 69: 32–38.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, V. A.; OLIVEIRA de G. S.; **Nutrição de Ruminantes 2^o Edição**. Funep. 2011.

BREMNER, I. **Zinc, copper and manganese in the alimentary tract of sheep**. *Journal Nutrition British*. v.24, n.1, p.769-783, 1970.**Embrapa Milho e Sorgo Sistemas de Produção**, 2 ISSN 1679-012X Versão Eletrônica - 4^a edição. Set./2008

CAMPBELL, J.K.; MILLS, C.F. **The Toxicity of Zinc to Pregnant Sheep**. *Environmental Research*. v.20, n.1, p.1-13 1979.

CHAIRMAN, B.R.P; RONDININI,S; COVINGTON, A.K; BAUCKE,F.G.K; BRETT, C.M.A; CAMÕES,M.F; MILTON, M.J.T; MUSSINI,T.; NAUMANN, R; PRATT,K.W; SPITZER,P.; WILSON, G.S. **Measurement Of pH. Definition, Standards, And Procedures**. *Pure Appl. Chem.*, Vol. 74, No. 11, pp. 2169–2200, 2002.

COUSINS, R.J. **Present Knowledge in Nutrition**, 7th Ed. (Filer,L. J. & Ziegler, E.E., eds.), pp.293–306. *International Life Science Institute Press*, Washington, DC.1996. 288p.

CURY, J. A.; TENUTA, L. M. A.; TABCHOURY, C. P. M. **Bioquímica oral**. São Paulo: Artes Médicas, 2017. (Série Abeno: Odontologia Essencial - Parte Clínica).

LINO, R.A. **Investigação da Possível Formação do Cluster Metálico Ligno-Celulósico na Dieta de Ruminantes/ Universidade Federal de São João del Rei – 2018**. 32f

LUCCI, C. S. **Nutrição e Manejo de Bovinos Leiteiros**. São Paulo: Manole, 1997. 169 p.

MADHAV P. YADAV; KEVIN B. HICKS; DAVID B. JOHNSTON; ARLAND T. HOTCHIKISS JR.; HOA K. CHAU; KYLE HANAH. **Production of bio-based fiber gums from the waste streams resulting from the commercial processing of corn bran and oat hulls**. Food Hydrocolloids. Elsevier. 2016

MATTHEWMAN RW DIJKMAN JT . 1993. **The nutrition of ruminant draught animals**. *Journal of Agricultural Science* 121: 297–306.

MOREIRA, L. M. et al.; **A new approach about the digestion of fibers by ruminants** Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, Salvador, v.14, n.2, p.382-395 abr./jun., 2013

MÜLLING, C. **The use of nutritional factors in prevention of claw diseases- Biotin as an example for nutritional influences on formation and quality of hoof horn**. Pages 78–80 in 11th International Symposium on Disorders of the Ruminant Digit. C. M. Mortellaro, L. De Vecchis, and A. Brizzi, eds. Parma, Italy. 2000.

OLIVEIRA, I. M. F. De; Silva, M. J. De F. Da; Tófani, S. de F. B; **Fundamentos de química analítica**, Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

RALPH, J; HATFIELD, RD; SEDEROFF, RR; MACKAY, JJ **Variações na lignina: o que estudos recentes sobre mutantes e transgênicos da via da biossíntese de lignina revelam sobre a lignificação** . Madison, WI: EUA Dairy Forage Research Center, 1998. p.34-38.

SAYLOR, W.W.; MORROW, F.D.; LEACH, R.M. **Effects of dietary copper supplementation of rats.** Journal Nutrition Animal, v.110, n.8, p.460-468.1980.

TOMLINSON, J.W.; WALKER, E.A.; BUJALSKA, I.J.; DRAPER, N.; LAVERY, G.G.; COOPER, M.S.; STEWART, P.M. **11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of glucocorticoid response.** Endocrine Reviews, v.25, n.5, p.831-866, 2004.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock.** 3a Ed., CAB International. 1999. 614p.

USDA (United States Department of Agriculture), <https://www.usda.gov/> 2019

VACLAV SMIL, Crop Residues: **Agriculture's Largest Harvest: Crop residues incorporate more than half of the world's agricultural phytomass,** *BioScience*, Volume 49, Issue 4, April 1999, Pages 299–308, <https://doi.org/10.2307/1313613>

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant, 2nd ed.** Ithaca, NY: Cornell University, 1994. 476p

VETTER, R.L. **Composition and nutritional quality of crop residues.** In: CROP RESIDUE SYMPOSIUM OF AGRONOMY SOCIETY MEETING, Knoxville. Proceedings. p.16,1975.

ZANETTI, MA **Suplementação mineral para bovinos de corte.** Em: SIMPÓSIO GOIANO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 3., Goiânia. Anais ... Goiânia: Congresso Brasileiro de Nutrição Animal, 2001. p.223-242.

