

A Nutritime Revista Eletrônica é uma publicação bimestral da Nutritime Ltda. Com o objetivo de divulgar revisões de literatura, artigos técnicos e científicos bem como resultados de pesquisa nas áreas de Ciência Animal, através do endereço eletrônico: <http://www.nutritime.com.br>. Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

## RESUMO

A lignina é um componente natural das forragens e está presente nas dietas dos ruminantes como um fator antinutricional por reduzir a digestibilidade da fibra no rúmen. Portanto, o conhecimento aprofundado sobre a lignina e como minimizar seu efeito negativo é a chave para progredir na melhoria do valor nutritivo das fontes volumosas lignificadas utilizadas na alimentação animal. O objetivo deste trabalho foi revisar o processo de lignificação na célula vegetal e compreender o mecanismo de ação das principais tecnologias aplicadas a fontes volumosas lignificadas a favor da melhoria de sua qualidade nutricional.

**Palavras-chave:** fibra, carboidratos, digestibilidade, bioquímica, tecnologia.

## Lignina: caracterização, efeito e manipulação na nutrição de ruminantes

Fibra, carboidratos, digestibilidade, bioquímica, tecnologia.

Rafael Araújo de Menezes<sup>1\*</sup>

Lúcio Carlos Gonçalves<sup>2</sup>

Frederico Patrus Ananias de Assis Pires<sup>3</sup>

Guilherme Lobato Menezes<sup>3</sup>

Alan Figueiredo de Oliveira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestrando na Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.\*E-mail: [rafaelaraujodemenezes@gmail.com](mailto:rafaelaraujodemenezes@gmail.com).

<sup>2</sup> Professor Adjunto na Universidade Federal de Minas Gerais –UFMG.

<sup>3</sup> Doutorando na Universidade Federal de Minas Gerais –UFMG.

## LIGNIN: CHARACTERIZATION, EFFECT AND MANIPULATION IN THE NUTRITION OF RUMINANTS

### ABSTRACT

Lignin is a forage's natural component present in ruminants diets as an anti-nutritional factor due to its negative effect on fiber digestibility. Therefore, a deeper understanding of lignin and ways to minimize its effects is key to improve the nutritional value of lignified roughage sources used in animal feed. The objective of this study was to review the lignification process in the plant cell as well as understand the mechanism behind the main technologies applied on lignified forage sources intending to improve nutritional quality.

**Keyword:** dairy cows, milk production, lipids, ruminal metabolism.

## INTRODUÇÃO

O nome lignina provém do latim “lignum” que significa madeira, em virtude de a lignina ser um dos principais componentes estruturais presentes nos tecidos vegetais (exceto fungos, algas e líquens) e também o segundo polímero mais abundante na natureza, depois da celulose. Na planta, tem o papel fortificador de paredes celulares e suporte físico de tecidos, bem como contribui com a longevidade dos tecidos, facilita o transporte de água e protege a parede celular da degradação, da perda hídrica, da radiação ultravioleta, das lesões teciduais e das infecções (HATFIELD & VERMERRIS, 2001). Trata-se de uma importante substância de sustentação e proteção dos vegetais que, segundo linhas de estudos evolucionárias, desempenhou função primordial na adaptação dos vegetais aquáticos para a sobrevivência e perpetuação em ambiente terrestre (NACZK & SHAHIDI, 2004).

A lignina está naturalmente presente nas forragens em diferentes teores e composições, independente da apresentação do volumoso (pasto, silagem, feno ou resíduos agroindustriais). Na nutrição animal, a lignina é apresentada como uma substância não nutricional e indigestível, que atua como barreira física contra o ataque dos microrganismos sobre a parede celular vegetal. Além disso, sua ligação com carboidratos e proteínas os deixa indisponíveis para digestão e absorção animal (HALPIN, 2019).

Sabe-se que a alimentação de ruminantes se baseia no consumo de forragem, seja como ingrediente da ração ou fonte exclusiva de alimento. É por meio da fermentação ruminal dos carboidratos, dentre eles os presentes na parede celular vegetal (celulose e hemiceluloses), que os ruminantes adquirem suas principais fontes energéticas e proteicas para sua sobrevivência e produção. Por reduzir o acesso microbiano e enzimático e, conseqüentemente, a fermentação ruminal dos carboidratos fibrosos, é notável a influência da lignina na qualidade final da dieta, na eficiência alimentar e no desempenho animal. Logo, o trabalho de melhoramento genético das forragens tropicais e os avanços tecnológicos que visam reduzir o teor de lignina e sua interação com os carboidratos fibrosos são oportunos para promover o melhor desempenho zootécnico e nutricional dos ruminantes em diferentes sistemas de alimentação.

## Caracterização e definições de lignina

A diversidade da constituição das ligninas é tamanha que há variações não somente entre espécies vegetais, mas até mesmo entre tecidos da mesma planta (SALIBA et al., 2001). Essas diferenças parecem ser influenciadas também pelas condições edafoclimáticas, pelo estágio de maturação e pelo manejo a que são submetidas (SALIBA, 1998; DIXON et al., 2001).

As ligninas têm formação complexa, com mais de 30 monômeros já detectados, que realizam diferentes tipos de ligações químicas e sofrem modificações estruturais durante o processo de lignificação na parede celular (MORAIS, 1992; VANHOLME et al., 2019). Essa gama de constituintes e interações torna a lignina um componente complexo de ser estudado, principalmente no que diz respeito a sua constituição e propriedades químicas. Por isso, a tipificação e denominação da lignina de uma amostra pode variar de acordo com o método de obtenção e a caracterização química utilizados.

A definição de lignina proposta por Lapierre (1993) é a mais utilizada nos estudos de nutrição animal, classificando-a como *core* ou *não core*, segundo a sua susceptibilidade à hidrólise e o material residual. A lignina *não core* é liberada da parede celular por hidrólise e formada por compostos fenólicos de baixo peso molecular que estão unidos aos polímeros da parede celular por ligações covalentes. Já a lignina *core*, é resistente à hidrólise e formada por compostos fenilpropanóides condensados que realizam ligações éster-interresistentes. Esses compostos são divididos em três unidades básicas: p-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S). Essas unidades básicas constituem os três principais monômeros da lignina *core* e são chamados de monolignóis. Percebe-se então que a lignina *não core* é mais suscetível às enzimas, então apresenta algum potencial de degradação (SALIBA et al., 2001). Por isso, a definição de lignina *core* ou *não core* torna-se indicada para comparar o valor nutricional de forragens por considerar as características moleculares de estrutura, a composição química e os tipos de ligações existentes. Logo, os esforços para melhoria da digestibilidade de alimentos lignificados se concentram em reduzir a quantidade de lignina *core* e/ou modificar a sua composição de modo a deixá-la

mais susceptível à hidrólise.

A diferença entre os monolignóis está nos grupamentos ligados ao anel aromático: siringila (S) possui dois agrupamentos metóxi (-CH<sub>3</sub>O) nos carbonos três e cinco do anel; guaiacila (G) possui um grupamento metóxi no carbono três; e p-hidroxifenila (H) não possui esse grupamento (FERREIRA, 2016). Os monômeros de guaiacila formam um esqueleto ramificado de estrutura mais condensada (JUNG & CASLER, 1991). Já os monômeros de siringila formam um esqueleto linear e uma estrutura menos condensada (RALPH et al., 2004). Salvo exceções, a lignina das gimnospermas são compostas principalmente pelo monômero G e uma pequena participação do H, enquanto as angiospermas dicotiledônias são formadas por unidades G e S (VANHOLME et al., 2010).

#### **Precusores da lignina e processo de lignificação**

A biossíntese da lignina na célula vegetal avança em sentido topoquímico radial e pode ser dividida em duas fases. A primeira é chamada de fase enzimática ou oxidação horizontal, caracterizada pela ação de diversas enzimas para a formação dos precursores intermediários e finais da lignina no citosol. A segunda fase é chamada de semi-enzimática ou oxidação vertical, caracterizada pela menor ação de enzimas, pela oxidação desidrogenativa dos monômeros e sua polimerização na parede celular.

A biossíntese dos principais precursores da lignina inicia-se na via do ácido chiquímico (RIPPERT et al., 2009). Esta é uma via de metabólitos secundários que ocorre exclusivamente no metabolismo de microrganismos e plantas. O fosfoenolpiruvato, advindo da via glicolítica, e a eritrose-4-fosfato, advinda da via das pentoses fosfato, entram na via cíclica do ácido chiquímico para a formação do chiquimato como composto intermediário e do corismato como produto final. O corismato pode ser utilizado em diferentes vias metabólicas, sobretudo para a síntese de aminoácidos aromáticos, como a fenilalanina, o triptofano e a tirosina (HERRMAN & WEAVER, 1999; BARROS et al., 2016). A fenilalanina e a tirosina serão utilizadas na síntese dos monolignóis. Essa síntese é feita na via dos fenilpropanóides por meio da conversão da fenilalanina e

da tirosina em p-cumarato pelas enzimas fenilalanina amonialiase (PAL), cinamato 4-hidroxilase (CH4) e a bifuncional L-fenilalanina/L-tirosina amônia-liase (PTAL). A partir de então, o p-cumarato é convertido nos ácidos hidroxicinâmicos p-cumárico, cafeico, ferúlico e sinapínico, os quais sofrem uma série de reações enzimáticas até a formação dos álcoois p-cumarílico, coniferílico e sinapílico (TAIZ & ZEIGER, 2004; LIN et al., 2010; BARROS et al., 2019).

Para a formação do álcool p-cumarílico ocorre uma sequência de reações de ligação, redução e desidrogenação pelas enzimas 4-cumarato-CoA ligase (4CL), cinamoil-CoA redutase (CCR) e cinamil álcool desidrogenase (CAD). Para a formação dos álcoois coniferílico e sinapílico estas são as principais reações enzimáticas, porém várias outras são necessárias para completar o processo (BARROS et al., 2019).

Cada um desses álcoois formados representa um monolignol (S, G ou H) e, uma vez formados, os monômeros são uniformemente distribuídos próximo a membrana plasmática e translocados do citosol para a parede celular, possivelmente pela desglicosidação dos monolignóis por β-glicosidases e translocação nas formas 4-O-glicosiladas (BOERJAN et al., 2003). Outras teorias mais modernas defendem a translocação por meio de vesículas provenientes do complexo de Golgi (VANHOLME et al., 2010) ou pelos transportadores *ATP-binding cassette* (ABC) (TAIZ et al., 2017). Ainda, Boija & Johansson (2006) sugerem que os álcoois coniferílico e sinapílico têm a capacidade de se difundirem através da membrana plasmática. Ao chegarem na parede celular, assim como os demais monômeros, os monolignóis sofrem acoplamento oxidativo e é iniciado o processo de polimerização (TAIZ et al., 2017). Nesta fase, primeiro, os monolignóis sofrem oxidação catalisada por lacases e fenol-oxidases, criando dímeros, os quais são novamente oxidados a radicais fenólicos. Esses radicais se acoplam constituindo desidrodímeros em ligação covalente entre suas subunidades. Assim, o acoplamento entre radicais fenólicos ocorre individualmente até formar o polímero de lignina. Como a estrutura final da lignina é dependente da disponibilidade de cada monolignol e seu respectivo radical fenólico, a polimerização ocorre de maneira alea-

tória e de acordo com a presença relativa de cada um deles, ao passo que também pode ser moldada pelo tipo e concentração das enzimas presentes. Por exemplo, em gramíneas as peroxidases têm maior afinidade com radicais do álcool p-cumarílico do que radicais do álcool sinapílico (VANHOLME et al., 2010; FERREIRA, 2016), favorecendo o acoplamento daquele. Devido a essa diferença de enzimas presentes, angiospermas monocotiledôneas possuem maior concentração de p-hidroxifenila (H), ácido p-cumárico e ácido ferúlico quando comparado com as dicotiledôneas.

### Efeito da lignina na digestibilidade da fibra

A resistência física e química da lignina a classifica como substância indigestível para a nutrição animal e, devido a sua forte ligação com a celulose e as proteínas, estes nutrientes têm a digestibilidade reduzida (TAIZ et al., 2017). Segundo Jung et al. (1993) e RALPH (2010), os ácidos p-cumárico e ferúlico comportam-se como âncoras e ligam fortemente os polímeros de lignina com a celulose e as hemiceluloses. Em estudo de digestibilidades *in vitro* e *in vivo* da FDN (fibra em detergente neutro) de vinte e três forrageiras e em diferentes estágios de maturação, Raffrenato et al. (2017) concluíram que os teores dos ácidos p-cumárico e ferúlico tiveram correlação negativa com a digestibilidade e correlação positiva com o teor de lignina, os quais variaram de acordo com o genótipo da planta e as condições ambientais. Os autores relacionaram estas ocorrências com a existência das ligações do tipo éter e éster entre estes ácidos e os carboidratos fibrosos da parede celular. A lignina, então, tem a capacidade de reduzir a ação hidrolítica de enzimas e microrganismos ruminais sobre os carboidratos fibrosos devido às ligações inter-resistentes entre eles, resultando na menor degradabilidade da fibra no rúmen, menor aproveitamento pelo ruminante e, conseqüentemente, no menor valor nutritivo do alimento.

Embora tenha maior número de ligações éter, o monolignol G realiza ligações cruzadas e estrutura-se, tridimensionalmente, de forma reticulada, o que dificulta sua penetração na parede celular secundária. O monolignol S, por sua vez, realiza apenas ligações simples e estrutura-se de forma linear

o que confere maior poder de penetração. Por isso, plantas com maior proporção dos monômeros G na composição de sua lignina são mais susceptíveis à degradação, enquanto que aquelas com maior proporção do monômero S são menos degradáveis (JUNG & DEETZ, 1993). O teor de ácidos hidroxicinâmicos (principalmente o ácido ferúlico) tem considerável influência na recalitrância de forrageiras, pois funcionam como pontes de ligação covalentes entre os polímeros de carboidratos da parede celular e a lignina (LAM et al., 2003).

Estudos sobre a composição da lignina em função do estágio de maturação de gramíneas indicam que há alteração na relação guaiacila/siringila. Buxton & Russel (1988) trabalharam com gramíneas e leguminosas em diferentes idades e observaram que o avanço da idade de maturação favorece a maior proporção de siringila, o que provavelmente relaciona-se com a redução na digestibilidade e do valor nutritivo.

### Tecnologias aplicadas a fontes volumosas para melhoria da forragem

#### Mutação *brown midrib (bmr)*

Com a finalidade de melhorar o valor nutritivo e aproveitamento da fibra de alimentos lignificados pelos ruminantes, algumas tecnologias podem ser aplicadas de acordo com a fonte volumosa. Uma destas tecnologias é a mutação *brown midrib (bmr)*, em que as plantas mutantes são tipicamente caracterizadas pelo menor conteúdo de lignina e pela coloração vermelha amarronzada na nervura central das folhas e nos colmos. Já foram descobertos seis *loci* (bm1, bm2, bm3, bmr-2, bmr-6 e o bmr-12) que reduzem a atividade de enzimas envolvidas na biossíntese dos precursores da lignina, como a O-metiltransferase (OMT) e a CAD (SATTLER et al., 2014; LI et al., 2015).

Em pesquisas feitas com milho (*Zea mays*), sorgo (*Sorghum bicolor spp.*) e milheto (*Pennisetum glaucum*) os resultados agrônômicos são variáveis e com tendência de menor produtividade de matéria seca. Porém, as avaliações nutricionais e de desempenho animal normalmente são favoráveis ao uso das plantas mutantes. A mutação *bmr* foi observada primeiramente em plantas de milho e é es-

tudada até hoje, demonstrando resultados nutricionais positivos como demonstrado por Miller et al. (2020). Os autores descreveram maiores valores de ingestão de matéria seca, digestibilidade aparente da FDN, taxa de passagem ruminal, produção de leite corrigido para gordura e teor de proteína no leite e menores valores de nitrogênio ureico no leite para vacas alimentadas com dieta a base de silagem de milho *bmr* quando comparadas com vacas alimentadas com dieta a base de silagem de milho convencional.

A mutação *bmr* tem apresentado potencial de mitigação de gás de efeito estufa na pecuária. Hassanat et al. (2017) avaliaram o consumo, parâmetros ruminais, características produtivas e produção de metano (CH<sub>4</sub>) em vacas da raça Holandês alimentadas com dieta contendo milho convencional ou mutante para *bmr*. As vacas aumentaram a produção de proteína e gordura do leite quando alimentadas com milho mutante. O pH ruminal, o número de protozoários, a concentração total de ácidos graxos voláteis e as proporções molares de acetato e propionato foram semelhantes, assim como a produção diária (g/dia) de CH<sub>4</sub>. Logo, os animais alimentados com milho mutante tiveram melhor desempenho e menor emissão de CH<sub>4</sub> por quilo de produto produzido.

Atualmente, as pesquisas brasileiras sobre a mutação *bmr* focam no melhoramento genético do sorgo, pois este apresenta maiores teores de lignina do que o milho. Vários trabalhos utilizam o sorgo para comparar plantas mutantes *bmr* e convencionais (OLIVERA et al., 2004; SABALLOS et al., 2012; BECK et al., 2013; FERREIRA et al., 2015; SÁNCHEZ-DUARTE et al., 2020). No geral, as produções de matéria seca e matéria seca digestível foram maiores para as plantas convencionais (20 x 13 tonMS/ha). Os parâmetros de *stand* e relação folha/colmo foram semelhantes. Já os valores de digestibilidade aparente (54,4% x 40,8%) e *in situ* (76,4% x 70,4%) da FDN, de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (média de 56,6% x 55%), de nutrientes digestíveis totais (NDT - 54,8% x 50,1%) e de produção de leite corrigida para 4% de gordura (33,7 kg/dia x 29,1 kg/dia) foram maiores para as plantas mutantes. Estas plantas também apresentaram

menor valor de fibra em detergente ácido (FDA - média de 38,4% x 37%). Ademais, em todos esses trabalhos foram observadas reduções significativas do teor de lignina de aproximadamente 10 a 20% para as plantas *bmr*. Para Beck et al. (2013), as diferenças entre os genótipos não são significantes em estágios iniciais de maturação, mas em estágios mais avançados as plantas mutantes possuem significativa vantagem nutricional.

Embora as pesquisas sobre a mutação *bmr* estejam centradas em experimentos com sorgo, milho e milheto, essa tecnologia tem potencial para ser usada em diversas outras espécies de gramíneas utilizadas como fonte volumosa na alimentação dos ruminantes. Os principais problemas práticos de campo que essa mutação pode causar são a suscetibilidade ao acamamento e a baixa resistência ao pisoteio (CHERNEY et al., 1991). Casler et al. (2003) sugerem que o *loci bmr* é influenciado por fatores ambientais e por isso devem ser estudados em diferentes condições.

#### RNA de interferência (RNAi)

Além da mutação, tem sido realizada a técnica de melhoramento de precisão intragênica por meio da incorporação de RNA de interferência (RNAi) que causa supressão gênica na síntese de enzimas específicas envolvidas no processo de lignificação. Jung et al. (2016) demonstraram que o aumento da eficiência de sacarificação aumentou em 52 e 76% em duas linhagens transgênicas de cana-de-açúcar, após a supressão das enzimas 4CL. Além disso, obtiveram até 18% mais suco extraído quando comparado com linhagens convencionais justificado pela redução do conteúdo de lignina em até 16,5% nas plantas transgênicas.

A supressão da enzima CCR utilizando-se a mesma técnica resultou na diminuição de 9 a 37% no conteúdo de lignina e no aumento de 15% na digestibilidade ruminal em plantas transgênicas de milho e azevém (*Lolium perenne*), sem afetar a produtividade (TAMASLOUKHT et al., 2011; PARK et al., 2012). Segundo os autores, a inibição dessas duas enzimas reduziu a síntese dos três monolignóis (G, S e H) sem alterar a relação G/S. Também pode-se usar essa técnica para reduzir a concentração de

apenas um ou dois desses monolignóis. TU et al. (2010) descreveram dramática mudança no teor e na composição da lignina em plantas de azevém no primeiro estágio reprodutivo (R1) ao suprimirem a expressão das enzimas OMT e CCR. Comparando-se as hastas das plantas transgênicas com as das convencionais, houve reduções máximas de 41,8% no teor de guaiacila, 45,7% no teor de siringila e 20,5% na relação S/G. Isso resultou no aumento de 11,78 unidades percentuais na digestibilidade *in vivo* da matéria seca.

#### Pré-tratamento químico

O pré-tratamento químico é amplamente utilizado para melhorar a digestibilidade de resíduos agroindustriais devido ao seu baixo custo, eficiência e praticidade. Estes resíduos são estrategicamente utilizados na alimentação de ruminantes devido ao favorável custo-benefício como fonte de fibra efetiva e alimento energético para as categorias menos exigentes, como novilhas e animais em confinamento para abate.

O uso de ácido para o tratamento dos materiais lignificados proporciona a hidrólise das hemiceluloses, reduz a cristalinidade estrutural da celulose e aumenta a porosidade da biomassa (SUN & CHENG, 2005), o que melhora a digestibilidade da parede celular. Geralmente usa-se o ácido diluído por conta dos custos mais acessíveis. Porém, os trabalhos descritos na literatura são inconsistentes e controversos quanto à real eficácia do pré-tratamento ácido quanto ao consumo, produção e desempenho de animais leiteiros e de corte.

Os ganhos no valor nutricional desses alimentos também podem ser potencializados pelo pré-tratamento com álcalis. O mais utilizado é o hidróxido de sódio (NaOH), aplicado via solução por imersão ou aspersão durante alguns dias e posteriormente lavado com água para retirar o álcali restante que não reagiu (JACKSON, 1977). Segundo este autor, o NaOH modifica a estrutura cristalina da celulose e promove sua expansão, além de causar a hidrólise de ligações do tipo éster existentes e solubilizar parcialmente as hemiceluloses, a lignina, a sílica e o ácido p-cumárico, o que foi diretamente associado ao aumento da digestibilidade. Gomes et al. (2015), trabalhando com bagaço de cana-de-açúcar integral e pré-tratado com hidróxido de sódio,

observaram o aumento do potencial de degradação do material em 114,58% a 135,33% e da taxa de degradação em 198,12% e 59,26% para caprinos e ovinos, respectivamente. A digestibilidade *in vitro* da matéria seca aumentou de 42,59% para 73,86%.

Outra opção alcalina é a amonização, largamente aplicada em bagaço de cana-de-açúcar, capaz de solubilizar as hemiceluloses e aumentar o teor de nitrogênio total. Neste processo, aplica-se amônia anidra gasosa, amônia líquida, amônia resultante da aplicação de ureia ou ainda a fibra de amônia expandida (*ammonia-fiber expansion - AFEX*) sobre o material em sistema fechado e inicia-se duas principais reações químicas: amoniólise e hidrólise alcalina. Na primeira reação ocorre a amoniólise das ligações do tipo éster entre as cadeias de hemiceluloses e celulose ou entre os carboidratos estruturais e a lignina. Na segunda reação ocorre a hidrólise alcalina das ligações do tipo éster ainda presentes nas fibras. Bals et al. (2010) observaram aumento de 206% na digestibilidade da FDN com o uso de AFEX e de 56% com amônia anidra em gramíneas da espécie *Panicum Virgatum* (*switch grass*). Griffith et al. (2016), utilizando a AFEX no pré-tratamento de palha de cevada, encontraram ganhos de 35% para a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e de 27% para a digestibilidade *in vitro* da FDN, sem prejuízos de consumo. Além disso, o teor de proteína bruta do material tratado geralmente é maior devido à incorporação de nitrogênio durante as reações químicas do processo de amonização. A AFEX mostra-se como a técnica de amonização mais vantajosa por oferecer maior segurança, facilidade de transporte, capacidade de reciclagem e ausência de efeitos prejudiciais à saúde relatados até o momento, embora seja mais onerosa (ADESOGAN et al., 2018).

Com objetivos voltados para a produção de bioenergia, Assumpção et al. (2016) utilizaram o pré-tratamento combinado de ácido sulfúrico (1,45%), peróxido de hidrogênio (7,5%) e hidróxido de sódio (4%) em bagaço de cana-de-açúcar e obtiveram redução de 85,8% da lignina juntamente com 70,7% das hemiceluloses, mantendo preservada as cadeias de celulose. Este trabalho demonstra a eficácia do pré-tratamento combinado para a remoção da lignina

no material. Possivelmente, outras combinações de pré-tratamento são possíveis e passíveis de preservar mais as hemiceluloses.

A maior parte dos trabalhos sobre pré-tratamentos são antigos e mostra-se uma prática menos explorada atualmente por causa das desvantagens práticas que envolvem custos, a redução do consumo dos animais ocasionada pela baixa palatabilidade, alteração de pH e variação da microbiota ruminal, o perigo à saúde humana durante a manipulação dos químicos por apresentarem natureza corrosiva e a poluição ambiental (ADESOGAN et al., 2018). Todavia, novos compostos químicos mais seguros à saúde humana e animal, como por exemplo, a fibra de amônia expandida (*ammonia-fiber expansion - AFEX*) em substituição da amônia ou o hidróxido de cálcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) e o óxido de cálcio ( $\text{CaO}$ ) em substituição do NaOH podem ser utilizados com os mesmos propósitos e com resultados semelhantes (SHRECK et al., 2015; COOK et al., 2016). Mais estudos precisam ser feitos para comprovar a eficácia destes e outras fontes alternativas de pré-tratamento.

#### Liquid hot water

Novas tecnologias que visam melhorar a qualidade de fontes volumosas ricas em fibras lignificadas estão sendo desenvolvidas e testadas. O *liquid hot water* é um processo de cozimento, geralmente em temperaturas entre 160 e 190°C a pH entre 4 e 7, o qual desfaz a matriz celulose-hemiceluloses-lignina e melhora a digestibilidade do material. Requer maior investimento, porém tem como principal vantagem a exclusão de agentes químicos perigosos à saúde e ao meio ambiente.

Estudos de digestibilidade e aproveitamento da energia de fontes volumosas lignificadas já foram testadas e os resultados foram positivos, dentre elas a palhada de milho (MOSIER et al., 2005), palha de trigo (PÉREZ et al., 2008) e bagaço de cana (YU et al., 2013). Os benefícios do *liquid hot water* vão além da melhoria da digestibilidade. Zhang et al. (2019) utilizaram este processo de cozimento para tratar palha de arroz e relataram a redução da fração FDN e FDA em 44,8% e 30,7% respectivamente ( $P < 0,001$ ), o aumento do teor de carboidratos solúveis

em 107% ( $P < 0,001$ ) e a melhoria de 23,6% ( $P < 0,001$ ) da digestibilidade ruminal *in vitro* da matéria seca às 72 horas de incubação, com produção de ácidos graxos voláteis 11,2% maior e aumento da proporção acetato:propionato. Os menores teores de FDN e FDA, bem como a maior proporção de propionato:acetato contribuiu para a menor acumulação de hidrogênio no rúmen e, conseqüentemente, para a menor produção de metano entérico (cerca de 30% a menos de metano produzido por grama de matéria seca digestível).

No estudo com bagaço de cana, Yu et al. (2013) compararam o método *liquid hot water* (LHW) com pré-tratamento químico ácido (HCl) e alcalino (NaOH) e avaliaram a produção de glicose e xilose. Todos os pré-tratamentos aumentaram a produção dos carboidratos. O teor de lignina Klason foi menor para NaOH (2,1%), intermediário para HCl (17,9%) e maior para LHW (19%) em comparação ao material original (21,3%) e, após 72 horas de hidrólise enzimática, a recuperação total dos açúcares glicose e xilose seguiram o mesmo comportamento, com 77,3% para NaOH, 76,6% para HCl e 71,6% para LHW.

#### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A lignina é um composto natural das forragens e as ligações existentes e a proporção de cada monômero estabelecem sua característica de resistência microbiológicas. Na nutrição animal, é um fator antinutricional, reduz a eficiência fermentativa no rúmen e a produtiva. Algumas estratégias têm sido estudadas e utilizadas para reduzir o teor de lignina e/ou modificar sua composição, a fim de aumentar a digestibilidade do alimento, seu valor nutritivo e, conseqüentemente, melhorar o desempenho animal. Mais trabalhos sobre o assunto devem ser realizados utilizando mais espécies de gramíneas para fins zootécnicos.

de ácidos graxos por estes já estarem presentes na dieta (METZ, 2009).

#### REFERÊNCIAS

- ADESOGAN, A.T. et al. Symposium review: Technologies for improving fiber utilization. **J. Dairy Sci.**, 2019.
- ASSUMPÇÃO, S.M.N. et al. Pré-Tratamento combi-

- nado H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/NaOH para Obtenção das Frações Lignocelulósicas do Bagaço da Cana-de-Açúcar. **Rev. Virtual Quim.**, v. 8, p. 803-822, 2016.
- BALS, B., C. WEDDING, V. BALAN, E. SENDICH, AND B. DALE. Evaluating the impact of ammonia fiber expansion (AFEX) pretreatment conditions on the cost of ethanol production. **Bioresour. Technol.** v. 102, p. 1277–1283, 2011.
- BARROS, J. ET AL. Role of bifunctional ammonia-lyase in grass cell wall biosynthesis. **Nat. Plants**, v. 2, p.16-50, 2016.
- BARROS, J. ET AL. 4-Coumarate 3-hydroxylase in the lignin biosynthesis pathway is a cytosolic ascorbate peroxidase. **Nat. Commun.**, v. 10, p. 1-11, 2019.
- BECK, P. ET AL. Effect of brown midrib gene and maturity at harvest on forage yield and nutritive quality of sudangrass. **Grassland Science**, v. 59, p. 52–58, 2013.
- BOERJAN, W.; RALPH, J.; BAUCHER, M. Lignin biosynthesis. Annual Review of **Plant Biol.**, v. 54, p. 519–546, 2003.
- BOIJA, E.; JOHANSSON, G. Interactions between model membranes and lignin -related compounds studied by immobilized liposome chromatography. **BBA**, v. 1758, p. 620–626, 2006.
- BUXTON, D.R.; RUSSEL, J.R. Lignin constituents and cell-wall digestibility of grass and legume stems. **Crop Sci.**, v. 30, n. 4, p. 402-408, 1988.
- CASLER, M.D.; PEDERSEN, J.F.; UNDERSANDER, D.J. Forage Yield and Economic Losses Associated with the Brown-Midrib Trait in Sudangrass. **Crop Sci.**, v. 43, 782–789, 2003.
- CHERNEY, J.H. ET AL. Potential of Brown-Midrib, Low-Lignin Mutants for Improving Forage Quality. **Adv. Agron.**, v. 46, p. 157-198, 1991.
- COOK, D.E. ET AL. The effects of calcium hydroxide-treated whole-plant and fractionated corn silage on intake, digestion, and lactation performance in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 99, p. 5385–5393, 2016.
- DIXON, R.A. ET AL. The biosynthesis of monolignols: a "metabolic grid", or independent pathways to guaiacyl and syringyl units? **Phytochemistry**, v. 7, n. 57, p.1069-1084, 2001.
- FERREIRA, P. D. S. **Potencial forrageiro de um híbrido de sorgo com capim-sudão portador da mutação bmr colhido em quatro estádios de maturação.** Tese (Doutorado). Escola de Veterinária UFMG. Belo Horizonte. 2016.
- FERREIRA, P.D.S. ET AL. Valor nutricional de híbridos de sorgo para corte e pastejo (Sorghum bicolor x Sorghum sudanense) em diferentes fases fenológicas. **Semina: Ciênc. Agrár.**, v. 36, p. 377-390, 2015.
- GOMES, G.M.F. ET AL. Biodegradação do bagaço de cana-de-açúcar por microrganismos ruminais de caprinos e ovinos. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 31, n. 1, p. 204-214, 2015.
- GRIFFITH, C. L. ET AL. Fermentation of ammonia fiber expansion treated and untreated barley straw in a rumen simulation technique using rumen inoculum from cattle with slow versus fast rate of fiber disappearance. **Front. Microbiol.** v. 7, p. 1839, 2016.
- HALPIN, C. Lignin engineering to improve saccharification and digestibility in grasses. **Curr Opin. Biotechnol.**, v. 56, p. 223–229, 2019.
- HASSANAT, F.; GERVAIS, R.; BENCHAA, C. Methane production, ruminal fermentation characteristics, nutrient digestibility, nitrogen excretion, and milk production of dairy cows fed conventional or brown midrib corn silage. **J. Dairy Sci.**, v. 100, p. 2625–2636, 2017.
- HATFIELD, R., VERMERRIS, W. Lignin Formation in Plants. The Dilemma of Linkage Specificity. **Plant Physio.**, v. 126, p. 1351–1357, 2001. doi:10.1104/pp.126.4.1351.
- HERRMANN, K.M.; WEAVER, L.M. The shikimate pathway. **Annu. Rev. Plant Physiol and Plant Mol. Biol.**, v. 50, p. 473-503, 1999.
- JACKSON, M. G. Review article: The alkali treatment of straws. **Anim. Feed Sci. Technol.** v. 2, p. 105–130, 1977.
- JUNG J.H., ET AL. Precision breeding for RNAi suppression of a major 4- coumarate:coenzyme a ligase gene improves cell wall saccharification from field grown sugarcane. **Plant Mol. Biol.**, v. 92, p.505-517, 2016.
- JUNG, H.G. ET AL. Forage Cell Wall Structure and Digestibility. ASA, Madison, Wisconsin, 1993.
- JUNG, H.G.; CASLER, M.D. Relationship of lignin and esterified phenolics to fermentation of smooth bromegrass fibre. **Anim.** v.32, n.1-3, p.63-68, 1991.
- JUNG, H.G.; DEETZ, D.A. Cell wall lignification and degradability. In: Jung, H. G., Buxton, D. R., Ralph,

- J. **Forage Cell Wall Structure and Digestibility**, v. 1, p. 315-346. 1993.
- LAI, C. ET AL. Facilitating enzymatic digestibility of larch by in-situ lignin modification during combined acid and alkali pretreatment. **Bioresour. Technol.**, v. 311, p. 123517–, 2020.
- LAM, T.B.T.; IYAMA, K.; STONE, B.A. Hot alkali-labile linkages in the walls of the forage grass *Phalaris aquatica* and *Lolium perenne* and their relation to in vitro wall digestibility. **Phytochemistry**. v. 64, p. 603–607, 2003.
- LAPIERRE, C. Application of new methods for the investigation of lignin structure. In: Jung, H.G., Buxton, D.R., Hatfield, R.D., et al. **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: ASA, p.133-163. 1993.
- LI, J. ET AL. Map-based cloning and expression analysis of BMR-6 in sorghum. **J. Genet.**, v. 94, p. 445–452, 2015.
- LIN, D.R.; ET AL. Initial screening studies on potential of high phenolic-linked plantclonal systems for nitrate removal in cold latitudes. **J. Soils Sediment.**, v. 10, p. 923-932, 2010.
- MILLER, M.D. ET AL. Influence of fiber degradability of corn silage in diets with lower and higher fiber content on lactational performance, nutrient digestibility, and ruminal characteristics in lactating Holstein cows. **J. Dairy Sci.**, v. 104, 16p., 2020.
- MORAIS, S.A.L. **Contribuição ao estudo químico e espectroscópico da lignina de madeira moída do Eucalyptus grandis: Isolamento, quantificação e análise estrutural**. Belo Horizonte, 1992. 260p. Tese (Doutorado em Química) - UFMG/ICEx, 1992.
- MOSIER, N. ET AL. Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover. **Bioresour. Technol.**, v. 96, p. 1986–1993, 2005.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **J. Chromatogr. A**, v. 1054, p. 95–111, 2004.
- OLIVER, A.L.; GRANT, R.J.; PEDERSEN, J.F.; O'REAR, J.. Comparison of Brown Midrib-6 and -18 Forage Sorghum with Conventional Sorghum and Corn Silage in Diets of Lactating Dairy Cows. **J. Dairy Sci.**, v. 3, p. 0–644, 2004.
- PARK S.H. ET AL. Downregulation of maize cinnamoylcoenzyme A reductase via RNA interference technology causes brown midrib and improves ammonia fiber expansionpretreated conversion into fermentable sugars for biofuels. **Crop. Sci.** v. 52, p. 2687-2701. 2012.
- PÉREZ, J.A. ET AL. Optimizing Liquid Hot Water pretreatment conditions to enhance sugar recovery from wheat straw for fuel-ethanol production. **Fuel**, v. 87, p. 3640–3647, 2008.
- RAFFRENATO, E. ET AL. Effect of lignin linkages with other plant cell wall components on in vitro and in vivo neutral detergent fiber digestibility and rate of digestion of grass forages. **J. Dairy Sci.**, v. 100, p. 8119–8131, 2017.
- RALPH, J. ET AL. Lignins: natural polymers from oxidative coupling of 4-hydroxyphenylpropanoids. **Phytochemistry Reviews**, v. 3, n. 1, p.29-60, 2004.
- RALPH, J. Hydroxycinnamates in lignification. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, p. 65–83, 2010.
- RIPPERT, P. ET AL. Tyrosine and Phenylalanine are Synthesized Within the Plastids in Arabidopsis. **Plant Physiol.**, v. 149, p. 1251–1260, 2009.
- SABALLOS, A. ET AL. Brown midrib2 (Bmr2) encodes the major 4-coumarate:coenzyme A ligase involved in lignin biosynthesis in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). **Plant J.**, v. 70, p. 818-830, 2012.
- SALIBA, E. DE O. S. ET AL. Lignins: Isolation methods and chemical characterization. **Ciênc. Rur.**, v. 31, p. 917–928, 2001.
- SALIBA, E.O.S. **Caracterização química e microscópica das ligninas dos resíduos agrícolas de milho e de soja expostas a degradação ruminal e seu efeito sobre a digestibilidade dos carboidratos estruturais**. Belo Horizonte, Tese (Doutorado em Ciência Animal) – EV-UFMG, 252p., 1998.
- SÁNCHEZ-DUARTE, J.I. ET AL. Short communication: Meta-analysis of dairy cows fed conventional sorghum or corn silages compared with brown midrib sorghum silage. **J. Dairy Sci.**, 2020.
- SATTLER, S.E. ET AL. Characterization of Novel Sorghum brown midrib Mutants from an EMS-Mutagenized Population. G3: **Genes, Genomes, Genetics**, v. 4, p. 2115-2124, 2014.
- SHRECK, A. L. ET AL. Digestibility and performance of steers fed low-quality crop residues treated with

- calcium oxide to partially replace corn in distillers grains finishing diets. **J. Anim. Sci.**, v. 93, p. 661–671, 2015.
- SUN, Y., AND J. J. CHENG. 2005. Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production. **Bioresour. Technol.**, v. 96, p. 1599–1606.
- TAIZ, L. ET AL. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. [tradução: Alexandra Antunes Mastroberti ... et al.], 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. SBN: 978-85-8271-367-9.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Surface protection and secondary defense compounds. **Plant Physiol.**, v. 2, p. 320–345, 2004.
- TAMASLOUKHT, B. ET AL. Characterization of a cinnamoyl-CoA reductase 1 (CCR1) mutant in maize: effects on lignification, fibre development, and global gene expression. **J. Exp. Bot.** v. 62, p. 3837-3848. 2011.
- TU, Y. ET AL. Functional Analyses of Caffeic Acid O-Methyltransferase and Cinnamoyl-CoA-Reductase Genes from Perennial Ryegrass (*Lolium perenne*). **The Plant Cell**, v. 22, p. 3357–3373, 2010.
- VANHOLME, R. ET AL. Lignin biosynthesis and its integration into metabolism. **Curr. Opin. Biotechnol.**, v. 56, p. 230-239, 2019.
- VANHOLME, R. ET AL. Lignin Biosynthesis and Structure. **Plant Physiol.**, v. 153, 895–905, 2010.
- YU, Q. ET AL. Liquid hot water pretreatment of sugarcane bagasse and its comparison with chemical pretreatment methods for the sugar recovery and structural changes. **Bioresour. Technol.**, v. 129, p. 592–598, 2013.