

Avaliação da silagem de grão de milho reidratado e moído com diferentes granulometria adicionados diferentes níveis de pepsina.

Wériko dos Santos Cursino¹, Ronaldo Francisco de Lima², Ícaro dos Santos Cabral³, Diego Souza Pantoja⁴, Rosimery Menezes Frisso⁵, Daniely Pimentel Oliveira⁶, Hilacy de Souza Araújo⁷, Ercvania Rodrigues Costa⁸

1 - Universidade Federal do Amazonas - UFAM

2 - Universidade Federal do Amazonas - UFAM

3 - Universidade Federal do Amazonas - UFAM

4 - Universidade Federal do Amazonas - UFAM

5 - Universidade Federal do Amazonas - UFAM

6 - Universidade Federal do Amazonas - UFAM

7 - Universidade Federal do Amazonas - UFAM

8 - Universidade Federal do Amazonas - UFAM

RESUMO - Avaliou-se o pH, matéria seca e nitrogênio amoniacal das silagens de milho grão moído à 3, 5 e 10 mm, umedecido e adicionados pepsina nas proporções de 0, 0,5, 1 e 2g/Kg de milho moído, e ensilado por 90 dias em silos de PVC. Após os 90 dias, os silos foram abertos, pesados e retirado amostras para análises das silagens. O pH foi maior na silagem com tamanho de partícula de 3mm, em todos os níveis da pepsina, e também apresentou maior perda de matéria seca. A pepsina aumentou o pH dos silos em todos os níveis de inclusão. Não houve interação de perda de matéria seca do milho quando adicionado ou não a pepsina. O teor de amônia nas silagens de milho foi aumentado com a pepsina. A adição da pepsina pode ter acelerado a degradação enzimática inicial das proteínas do milho, proporcionando menor teor de prolaminas no milho. A redução na granulometria do milho, associado a adição de pepsina foi eficiente no aumento do teor de nitrogênio amoniacal de silagens de grão reidratado.

Palavras-chave: milho, pepsina, prolamina.

Evaluation of rehydrated and ground corn silage with different granulometry added different levels of pepsin.

ABSTRACT - The pH, dry matter and ammoniacal nitrogen of the silages of milled corn grain at 3, 5 and 10 mm were evaluated, and pepsin was added in the proportions of 0, 0.5, 1 and 2 g / kg of ground corn, and silage 90 days in PVC silos. After 90 days, the silos were opened, weighed and samples were taken for analysis of the silages The pH was higher in the silage with a particle size of 3mm, at all pepsin levels, and also showed a higher loss of dry matter. Pepsin increased the pH of silos at all inclusion levels. There was no interaction of maize dry matter loss when added or not to pepsin. Ammonia content in corn silages was increased with pepsin. The addition of pepsin may have accelerated the initial enzymatic degradation of maize

proteins, providing a lower prolamin content in maize. The reduction in corn granulometry associated with the addition of pepsin was efficient in increasing the ammoniacal nitrogen content of rehydrated grain silages.

Keywords: corn, prolamine, pepsin.

Introdução

O milho é um dos principais ingredientes energéticos na dieta de ruminantes. Nutricionalmente, o endosperma é o componente mais importante do grão, sendo uma região de grande estocagem de energia. Esta porção constitui 82% do cereal e armazena 98% do amido presente no grão (PAES, 2006). No entanto, a maioria dos híbridos brasileiros são de textura dura, caracterizado com endosperma flint (vítreo) o que lhe confere baixa digestibilidade comparado a híbridos de endosperma farináceo (CORRÊA et al., 2002). O aumento da vitreosidade está associado com a diminuição da degradação ruminal do amido (PHILIPPEAU; MICHALET-DOUREAU, 1998). Essa característica está relacionada ao teor de prolamina no endosperma (HOFFMAN et al., 2012). Trabalhos tem sido realizados para melhorar a digestibilidade do milho duro. Dentre esses, estão o uso de enzimas e a ensilagem do grão reidratado. A ensilagem do grão reidratado tem mostrado ser uma técnica interessante na melhora da digestibilidade do amido do milho (BENTON et al., 2005). Estudos sugerem que a utilização de protease maximizou a digestibilidade ruminal do amido (LIMA et al., 2014), porém não se conhece a quantidade adequada para tal efeito. Sendo assim, o objetivo desse trabalho é avaliar o pH, perda de matéria seca e o teor de nitrogênio amoniacal de silagens de milho grão moído com diferentes tamanhos de partículas, umedecido e submetido a diferentes proporções de pepsina.

Revisão Bibliográfica

No Brasil, o milho cultivado é do tipo duro (Flint) (CORREA et al., 2002). O amido no endosperma do milho duro é quase todo rígido (vítreo), enquanto o milho farináceo tem grande parte de seu amido como endosperma farináceo. Assim os híbridos de milho se diferem pela sua relação de endosperma vítreo: farináceo (WATSON, 1987). Correa et al. (2002), compararam híbridos de milhos cultivados no Brasil e nos Estados Unidos. O híbrido brasileiro menos vítreo teve maior vitreosidade que o mais vítreo dos EUA. Foi observada correlação negativa alta entre vitreosidade e degradabilidade ruminal do amido. O aumento da vitreosidade está associado à diminuição da degradação ruminal do amido (PHILIPPEAU e MICHALET-DOUREAU, 1998). O amido é formado por dois polímeros de glicose, a amilose, um polímero longo e linear, com cerca de 99% das ligações α -1-4, e a amilopectina, uma molécula maior que a amilose, mais insolúvel, com ligações α -1-4, e ramificações α -1-6 (LEHNINGER, 1998). Desta forma fontes de amido com maiores teores de amilopectina, podem apresentar maior digestibilidade (JOBIM et al., 2003). A digestibilidade do amido do milho é limitada, também, pela matriz proteica, formada principalmente pelas prolaminas-zeína que compreendem de 50 a 60% do total da proteína (HAMAKER et al., 1995) e aumentam com o avanço da maturidade do grão encapsulando o amido dentro de uma matriz de proteínas hidrofóbicas (MU-FORSTER e WASSERMAN, 1998; BUCHANAN et al., 2000) impedindo o acesso de enzimas. Philippeau et al. (2000) quantificaram a relação entre vitreosidade e concentração de prolaminas-zeína no milho e concluíram que milhos mais vítreos contêm mais prolaminas-zeína do que milhos menos vítreos. A silagem de milho reidratado vem ser uma alternativa para aumentar a digestibilidade do amido, considerando que os ácidos da fermentação ou o processo de proteólise podem degradar as prolaminas-zeína durante o processo fermentativo (BARON et al., 1986). Hoffman et al. (2011), observaram que a ensilagem de milho por 240 dias reduziu as concentrações de prolaminas-zeína ao longo do tempo. Estudos em nosso laboratório sugeriu que a protease melhorou a digestibilidade ruminal do amido do milho. No entanto esse trabalho foi feito com 1g de protease por kg de milho, e o milho utilizado foi triturado em moinho com peneira de 10mm. Por tanto, há necessidade de testar menores doses de protease combinados com diferentes tamanhos de partícula do milho para reduzir o custo do tratamento.

Materiais e Métodos

O milho grão foi moído em desintegrador de martelo DPM Júnior (Nogueira Máquinas Agrícolas, São João da Boa Vista, SP), com peneiras de 3, 5 e 10mm. Em seguida adicionada protease (Pepsina 1:10000) nas proporções de 0, 0,5, 1 e 2g/kg de milho em um fatorial 4x3. O milho seco moído foi umedecido à 40% e em seguida adicionados protease e ensilados por 90 dias em silos

experimentais de PVC medindo 10x50cm adaptados com válvula tipo Bunsen, com capacidade para 5kg de milho. Todos os tratamentos foram inoculados com 600000 UFC/g de *Lactobacillus plantarum* (Lallemand Brasil, Aparecida de Goiânia - GO). Os silos foram pesados e armazenados em T° ambiente e sob a proteção da luz solar e chuvas. Após a conclusão do tempo de ensilagem, os silos foram novamente pesados para determinar a perda de matéria seca através da diferença do peso antes e depois do processo de ensilagem. Na abertura dos silos, foram coletadas amostras de cada silo, para determinar o pH e nitrogênio amoniacal. Para análise do pH, foram coletadas subamostras de 25g de silagem, que foram adicionadas de 225mL de água destilada e mantidas sobre agitação leve por 20 minutos em shaker horizontal. Outra subamostra de 25g de silagem foi misturada a 200mL de uma solução de H₂SO₄ a 0,2N e mantida em geladeira por 48 horas, efetuando-se, em seguida a filtragem em papel-filtro. Foi analisado, do material filtrado, o nitrogênio amoniacal, mediante destilação com hidróxido de potássio (KOH) 2N. Uma amostra de 100g foi desidratada à 55°C em estufa de ventilação forçada por 72 horas. As amostras secas foram moídas em um moinho de facas acoplados com peneiras de 1mm. Uma subamostra de 1g, em duplicata, foi desidratada a 105°C por 24 horas para determinação do teor de matéria seca e mensuração da perda de matéria seca. As análises estatísticas foram analisadas com o PROC MIXED do pacote estatístico SAS (SAS Institute, 2001). Os principais efeitos incluíram níveis de protease, tamanho de partícula do milho e suas interações.

Resultados e Discussão

Os dados de pH médio, perda de matéria seca em porcentagem e teor de nitrogênio amoniacal das silagens de milho grão moído e reidratado com tamanhos de partícula 3, 5 e 10 mm, durante 90 dias de ensilagem e submetidos a 0, 0,5, 1.0 e 2.0 g de pepsina por kg de milho estão apresentados na tabela 1. O tamanho de partícula do milho e a adição de pepsina afetou o pH das silagens e a perda de matéria seca (P<0.01). Já o teor de amônia foi afetado apenas pela adição de pepsina na silagem. O pH das silagens foi de 4,02, 3,96, e 3,94 para tamanhos de partícula 3 mm, 5 mm e 10 mm respectivamente e de 3,96, 3,99, 3,99 e 3,98 para adição de 0, 0,5, 1 e 2g de pepsina/kg de milho respectivamente. A silagem com tamanho de partícula 3mm apresentou pH superior às granulometrias 5 e 10 mm, em todos os níveis de pepsina. A adição da pepsina aumentou o pH em todos os níveis, quando comparado com o nível 0 de pepsina na silagem. A silagem de milho apresentou perda de matéria seca maior quando ensilado com o milho moído à 3 mm. Não houve interação de perda de matéria seca do milho quando adicionado ou não a pepsina. O teor de amônia nas silagens de milho foi aumentado com a pepsina (Figura 1). A adição da pepsina pode ter acelerado a degradação enzimática inicial das proteínas do milho, e conseqüentemente isso proporciona menor teor de prolaminas no milho. Philippeau et al. (2000) quantificaram uma correlação positiva entre vitreosidade e concentração de prolaminas-zeínas no milho, concluindo que os milhos mais vítreos contêm maiores teores de prolaminas-zeínas presentes no seu endosperma do que os menos vítreos. As prolaminas-zeínas por serem hidrofóbicas, são insolúveis em solventes normais para o ambiente ruminal. Desta forma quanto menor a concentração de prolaminas na silagem de milho melhor será sua digestibilidade no ambiente ruminal. Ferraretto et al. (2014), afirmam que o nitrogênio amoniacal pode ser um bom indicador da digestibilidade do amido, apresentando correlação entre o aumento da concentração da amônia com maior digestibilidade do milho. A adição de 0,5 gramas de pepsina/kg de milho, parece ser suficiente para elevar o teor de nitrogênio amoniacal das silagens de milho grão moído e reidratado e conseqüentemente digestibilidade. Além disso, o maior pH das silagens com menor tamanho de partícula e a maior perda de matéria seca, pode ser conseqüência de maior degradação de proteínas no milho, explicado pelo maior teor de nitrogênio amoniacal quando foi adicionado 0,5g de pepsina por quilograma de milho. A degradação de proteína pode ter causado um efeito tampão na silagem reduzindo a queda do pH.

Conclusões

Conclui-se com esse trabalho que a adição de pepsina e a redução no tamanho de partículas em silagem de milho grão reidratado podem aumentar a degradação de proteínas do milho, mostrado pelo aumento do teor de nitrogênio amoniacal.

Gráficos e Tabelas

Tabela 1. Resultados de pH, perda de matéria seca (MS) e concentração de amônia em porcentagem da MS de milho grão moído em 3 mm (P3), 5 mm (P5) e 10 mm (P10), submetidos a 0 g, 0,5 g, 1,0 g e 2g de pepsina/kg de milho reidratado e ensilado por 90 dias.

	Pepsina 0			Pepsina 0,5			Pepsina 1			Pepsina 2			EPM	Partícula	Pepsina	Interação
	P3	P5	P10	P3	P5	P10	P3	P5	P10	P3	P5	P10				
pH	3,98	3,90	3,90	4,03	3,99	3,95	4,05	3,96	3,96	4,02	3,97	3,96	0,017	<0,01	<0,01	0,68
	% da MS															
Perda	9,07	5,91	4,83	8,28	2,46	3,47	5,37	3,69	1,36	7,44	5,87	1,80	0,016	<0,01	0,12	0,72
Amônia	0,09	0,15	0,10	0,16	0,15	0,15	0,16	0,15	0,15	0,16	0,15	0,15	0,005	0,10	<0,01	0,05

EPM = Erro padrão da média.

(<http://cdn5.abz.org.br/wp-content/uploads/2017/03/Tabela-1-15.png>)

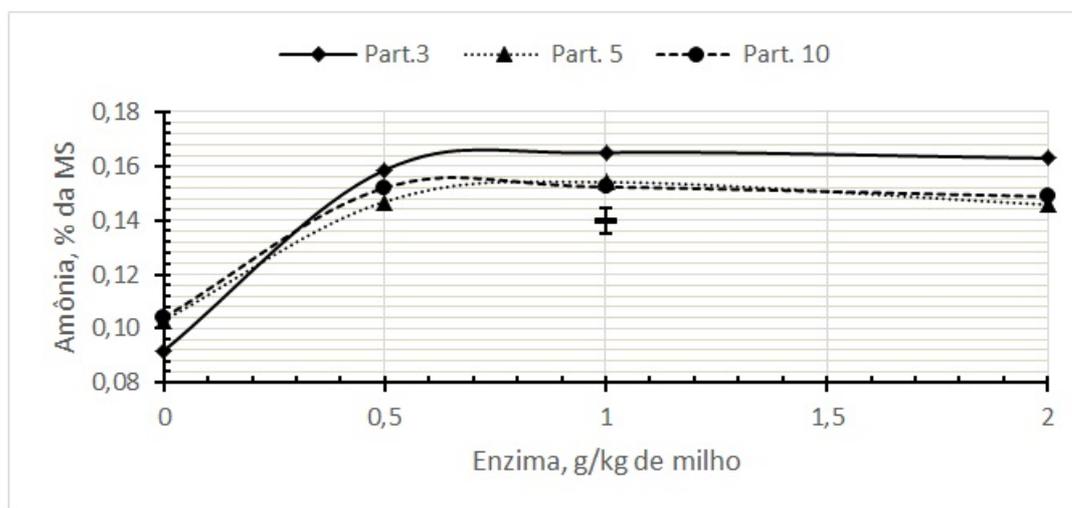


Figura 1. Concentração de amônia em silagens de grão de milho reidratado moído em 3mm, 5mm ou 10mm e submetidos a 0, 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 gramas de pepsina por quilograma de milho.

(<http://cdn5.abz.org.br/wp-content/uploads/2017/03/Figura-1-2.png>)

Referências

- BAKER, S.; HERRMAN, T. Evaluating particle size. MF-2051. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service, Manhattan, KS, 2002. BENTON, J.R.; KLOPFENSTEIN, T.; ERICKSON, G.E.. Effects of corn moisture and length of ensiling on dry matter digestibility and rumen degradable protein. Nebraska Beef Cattle Rep. p.31 – 33, 2005. BARON, V.S.; STEVENSON, K.R.; BUCHANAN-SMITH, J.G. Proteolysis and fermentation of corn-grain ensiled at several moisture levels and under several simulated storage methods. J. Anim. Sci. v.66, p.451-461, 1986. CORREA, C.E.S.; SHAVER, R.D.; PEREIRA, M.N.; LAUER, J.G.; KOHN, K. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. J. Dai. Sci., Lancaster, v.85, n.11, p.3008-3012, 2002. FERRARETTO, L. F. Relationships between dry matter content, ensiling, ammonia-nitrogen, and ruminal in vitro starch digestibility in high-moisture corn samples, 2014. HAMAKER, B.R.; MOHAMED, A.A.; HABBEN, J.E.; HUANG, C.P.; LARKINS, B.A. Efficient procedure for extracting maize and sorghum kernel proteins reveals higher prolamin contents than the conventional method. Cereal Chem. v.72, n.6, p.583-588, 1995. HOFFMAN, P.C.; MERTENS, D.R.; LARSON, J.; COBLENTZ, W.K.; SHAVER R. D. A query for effective mean particle size of dry and high moisture corns. Journal of Dairy Science, v.95, p. 3467 – 3477, 2012. JOBIM C.C., BRANCO A.B., SANTOS G.T. Silagem de grãos úmidos na alimentação de bovinos. In: V Simpósio Goiano sobre Manejo e Nutrição de Bovinos de Corte e Leite, 2003, Goiânia. p. 357-376. LARSON, J.; HOFFMAN, P. C. A method to quantify prolamin proteins in corn that are negatively related to starch digestibility in ruminants. J. Dairy Sci. n.9, p.4834-4839. 2008. LEHNINGER, A. L. Princípio de Bioquímica. 4ª ed. São Paulo: Savier, 1998. p.105. MU-FORSTER, C.; WASSERMAN, B. P. Surface localization of zein storage proteins in starch granules from maize endosperm: Proteolytic removal by thermolysin and in vitro cross-linking of granule-associated polypeptides. Plant Physiology. v.116 p.1563-1571, 1998. PAES, M. C. D. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. Circular Técnica, Embrapa, CNPMS, n.75, p.1-6, 2006. PHILIPPEAU, C.; LANDRY, J.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of the protein distribution of maize endosperm on ruminal starch degradability. J. Sci. Food and Agric. v.80 p.404-408, 2000. PHILIPPEAU, C.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of genotype and ensiling of corn grain on in situ degradation of starch in the rumen. J. Dairy Sci. v.81, p.2178-2184, 1998. WATSON, S. A. Structure and Composition. In: S. A. WATSON; E. R. RAMSTAD, (ed.) CORN CHEMISTRY AND TECHNOLOGY. American Association

of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, MN, 1987, p. 53-82.