

## **Determinação da digestibilidade *in vitro* de milho moído submetido a três níveis de amilase exógena<sup>1</sup>**

Paula Lobo Ferreira de ASSIS<sup>2</sup>, João Teodoro PADUA<sup>3</sup>, Cristine dos Santos Settimi CYSNEIROS<sup>4</sup>, Reginaldo Nassar FERREIRA, Cirano José ULHOA, Júlio Pietsch Cunha MENDONÇA

<sup>1</sup> Parte da dissertação de Mestrado da primeira autora.

<sup>2</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal na EV/UFG – Goiânia. Bolsista do CNPq. E-mail: paulaloboassis@hotmail.com

<sup>3</sup> Departamento de Produção Animal - EV/UFG. Pesquisador do CNPq.

<sup>4</sup> Doutora em Ciência Animal, ICB, UFG. E-mail: cysneiroscristine@hotmail.com

**Palavras-chave:** amido, *Aspergillus awamori*, ruminantes.

### **Introdução**

O uso de dietas concentradas, com o intuito de se obter alta produtividade e melhorias na criação de bovinos, implica, geralmente, na formulação de rações com altos teores de amido. Todavia, um dos problemas em confinamentos é a escolha da alimentação, em função do seu alto custo. Assim, deve-se cada vez mais procurar alternativas para melhor aproveitamento desse alimento, maximizando a viabilidade da produção de carne bovina.

Dentro os aditivos alternativos destacam-se as enzimas, que são proteínas globulares de estrutura terciária ou quaternária que agem como catalisadores biológicos e podem conter outras substâncias, como vitaminas e minerais como cofatores (FIREMAN & FIREMAN, 1998). A sua função catalítica depende de alguns fatores, como a concentração do substrato e da enzima e o ambiente no qual a reação ocorrerá.

A utilização de suplementos enzimáticos para manipular a digestão ruminal do amido, pode permitir melhora na produtividade além de atuar como um substituto dos promotores de crescimentos nas dietas dos animais de produção.

Alguns dos fatores mais importantes a considerar são: a temperatura, o pH, a umidade e a presença de co-enzimas e inibidores. Para uma boa utilização de enzimas, sua atividade biológica deve sobreviver aos rigores da fabricação e à estocagem da ração, resistir ao baixo pH e às enzimas proteolíticas do trato digestório (SOTO-SALANOVA et al., 1996).

As enzimas exógenas utilizadas na alimentação animal podem ser produzidas industrialmente por laboratórios especializados, por meio de culturas aeróbias, sendo derivadas da fermentação fúngica, bacteriana e de leveduras (BORGES,1997).

As amilases estão entre as primeiras enzimas conhecidas. Promovem a hidrólise do amido em açúcares redutores, sendo detectadas há mais de um século em grande variedade de materiais biológicos. Foram descritas em 1811 nos extratos de trigo; em 1831 na saliva; em 1833 no malte; em 1846 no sangue; e em 1881 produzidas pelo fungo *Aspergillus oryzae* (HARGER, 1982).

Apesar de nos últimos anos as amilases microbianas terem recebido mais atenção dos pesquisadores, devido sua maior termoestabilidade, a liquefação do amido por aquelas enzimas tem se constituído na unidade operacional mais cara do processo de sacarificação, principalmente por serem produzidas por fermentação submersa (SOUZA et al., 1996). Assim, no campo da biotecnologia pesquisas sobre a produção de amilases termoestáveis de menor custo, são recomendadas (SOUZA et al., 1996).

## **Material e Métodos**

O experimento está sendo realizado no Laboratório de Enzimologia e Laboratório de Fisiologia da Digestão do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás (UFG).

Para manutenção do fungo *Aspergillus awamori* utilizada no trabalho, utilizou-se de placas de Petri, contendo meio MEX, constituído de extrato de malte 3,0% (p/v) e Ágar 2,0% (p/v), autoclavado a 120° C por 20 minutos. A cultura foi mantida por 10 dias a 30°C, e posteriormente as placas foram estocadas a 4° C.

Para a produção da solução enzimática, cinco discos de cultura (5 mm), com esporos do *A awamori*, foram retirados das placas de cultivo e inoculados em erlenmeyers de 1,0 L, contendo 300 mL de meio de indução (fonte de carbono 10 g/L, extrato de levedura 10 g/L, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,1 g/L, sulfato de magnésio 0,5 g/L, sulfato de ferro 0,1/L e KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,2 g/L). Forragem de milho, moído em moinho com peneira de crivo de 1 mm, foi utilizado como fonte de carbono.

Os frascos foram incubados em agitador rotatório (Controlled Environment Incubator Shaker, Brunswick Scientific Co. Inc., U.S.A) à 30 °C e 180 rpm.

Os tratamentos testados são: Tratamento controle (sem enzima), Nível 1 (5 mL de enzima), Nível 2 (10 mL de enzima) e Nível 3 (20 mL de enzima). Os tratamentos controle e Nível 1 já foram concluídos. Os níveis de enzimas serão aplicados por aspersão, de forma uniforme, em 24 g de milho moído.

A digestibilidade *in vitro* será determinada pela metodologia do fermentador ruminal (DAISY<sup>II</sup>/ANKOM<sup>®</sup>), descrita por HOLDEN (1999). Para a coleta do líquido ruminal está sendo utilizado um bovino nelore, com peso médio de 550 kg e munido de fístula ruminal. O animal está sendo mantido em baia, confinado enquanto durar o experimento. A dieta padrão consiste de volumoso à vontade e 1 kg de milho/dia.

Para cada tratamento foram feitas duas coletas de líquido ruminal. Amostras de 0,5 g do milho moído, após tratamento, foram acondicionadas em sacos de filtros (F57 ANKOM<sup>®</sup>), que foram incubados em jarros com líquido ruminal e solução tampão, a 39°, em meio anaeróbio. Cada tratamento foi feito individualmente nos jarros da incubadora. As amostras tratadas (duplicata) foram retiradas nos tempos 0, 6, 12, 18, 24 e 48 horas, perfazendo um subtotal de 12 sacos de filtro por jarro (4 no total). Como foram realizadas duas baterias por tratamento, utilizou-se no total 96 sacos.

A digestibilidade *in vitro* da MS foi calculada utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{DIVMS} = 100 - \{[\text{PF} - (\text{PS} \times \text{FC}) / \text{PA} \times \text{MS}] \times 100\}$$

Em que: PF: peso final filtro, PS: peso filtro vazio, FC: fator de correção, PA: peso amostra, MS: matéria seca da amostra.

## **Resultados e Discussão**

As médias da digestibilidade *in vitro* do milho moído após tratamentos, nos tempos 0, 6, 12, 18, 24 e 48 horas, são exibidas na Tabela 1.

Tabela 1 Médias da digestibilidade *in vitro* (%) referentes a quatro repetições, dos tratamentos controle e nível 1, nos tempos 0, 6, 12, 18, 24 e 48 horas.

	Controle (sem enzima)					Nível 1 (com enzima)				
	R1	R2	R3	R4	Média	R1	R2	R3	R4	Média
0h	2,85	3,65	1,07	2,42	2,50	17,32	16,68	17,29	18,29	17,40
6h	10,5	9,11	9,76	3,66	8,26	21,54	22,94	21,2	18,16	20,96
12h	31,37	27,36	30,36	21,79	27,72	36,46	36,68	33,78	33,44	35,09
18h	46,1	42,44	49,03	43,17	45,19	51,92	46,6	48,11	45,33	47,99
24h	52,68	57,19	58,09	55,82	55,95	59,37	56,25	60,2	55,48	57,83
48h	80,12	82,92	76,66	79,73	79,86	81,92	78,07	73,32	76,68	77,50

R1: repetição um; R2: repetição dois; R3: repetição três; R4: repetição quatro.

A partir dos resultados obtidos (Tabela 1), nota-se que o tratamento enzimático aumentou a digestibilidade *in vitro* da MS. A aplicação de 5 mL de enzimas, em relação ao tratamento controle, foi suficiente para aumentar a DIVMS do milho moído, nas primeiras 12 horas.

Observou-se que em 0 h de incubação do substrato, houve um aumento numérico na média da digestibilidade da MS com aplicação do nível 1 em relação ao tratamento controle. Isso indica que a ação da amilase no milho iniciou antes de sua incubação no rúmen.

DAWSON & TRICARICO (1999) ao avaliarem a ação de enzimas fribolíticas, em estudo *in vitro*, observaram um aumento da ação nas primeiras etapas da digestão.

Verificou-se (Tabela 1), que a média da DIVMS, no tempo de 48 h, para os tratamentos controle e 5 mL de enzimas, foi 79,86% e 77,50%, respectivamente. Tais resultados discordam com o do obtido por ZAMBOM et al., (2001), que foi de 95,15% e dos observados por SANTOS et al., (2001), com valores de 57,80% para milho moído grosso e 68,50% para milho floculado.

As variações nos resultados de digestibilidade *in vitro*, podem variar devido a vários fatores, destacando-se, o tipo de metodologia, composição química dos alimentos, granulometria, entre outros. Para WALDO et al., (1971), a digestibilidade do amido pode apresentar um valor de 68%, podendo chegar até a 99%.

## Conclusões

A utilização da enzima amilase aumentou a digestibilidade *in vitro* da matéria seca do milho moído.

Espera-se com o término do experimento obter o nível ideal de enzima que proporcione melhores resultados sobre a digestibilidade *in vitro* do milho moído.

## Referências Bibliográficas

1. BORGES, F.M. Utilização de enzimas em dietas avícolas. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia - UFMG**, n.20, p.5-30, 1997.
2. FIREMAN, F. A . T., FIREMAN, A . K. A. T. Enzimas na alimentação de suínos. **Ciência Rural**, v.28, n.1, p.173-178, 1998.
3. SOTO-SALANOVA, M.F.;et al . Uso de enzimas em dietas de milho e soja para frangos de corte.In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1996, Campinas. **Anais...**Campinas:FACTA, 1996, p.71-76.
4. HARGER, C.; SPRADA, D.; HIRATSUKA, E. Amilase Fúngica. In: **Bioquímica das Fermentações**, 1982. 56 p.
5. SOUZA, E.L.; HOFFMANN, E.H.E.; CASTILHO, V.M. ; LIMA, V.A.; BELLINI, M.Z.; CRUZ, V.D.; CRUZ, R. Produção e Caracterização de  $\alpha$ -Amilase produzida por *Rhizopus* sp. In: **Arquivos de Biologia e Tecnologia**. 39 (4). Dez, 1996. p. 831-839.
6. HOLDEN, L.A. Comparison of methods of *in vitro* matter digestibility for ten feeds. **Journal Dairy Science**, v. 2, n. 8, p. 1791-1794, 1999.
7. SANTOS, F.A.P.; JÚNIOR, M.P.M.; SIMAS, J.M.C.; PIRES, A.V.; NUSSIO CM.B. Processamento do grão de milho e sua substituição parcial por polpa de citros peletizada sobre o desempenho, digestibilidade de nutrientes e parâmetros sanguíneos em vacas leiteiras. In: **Acta Scientiarum**. V. 23, n. 4, p. 923-931, 2001.
8. ZAMBOM, M.A.; SANTOS, G.T.; MODESTO, E.C.; ALCALDE, C.R.; GONÇALVES, G.D.; SILVA, D.C.; SILVA, K.T.; FAUSTINO, J.O.Valor nutricional da casca do grão de soja, farelo de soja, milho moído e farelo de trigo para bovinos. In: **Acta Scientiarum**. V. 23, n. 4, p. 937-943, 2001.
9. WALDO, D.R.; KEYS JR, J.F.; GORDON, C.H. Corn starch digestion in the bovine. **Journal of Animal Science**., 33(1):305, 1971.
10. DAWSON, K. A.; TRICARICO, J. M. The use of exogenous fibrolytic enzymes in ruminants. In: **Proc. Of the 15 th Annual Symposium Biotechnology in the Feed Industry**. Nottingham University Press, Nottingham, UK, 303-312, 1999.