

## LONGO PERÍODO DE ARMAZENAMENTO E ADIÇÃO DE ENZIMAS AMIOLÓLÍCAS SOBRE O VALOR NUTRICIONAL DE SILAGEM DE MILHO MOÍDO REIDRATADO

JAMILLE D. de O. BATISTA<sup>1</sup>, HAYNE M. C. ARAKI<sup>1</sup>, JULIANE DAMIANI<sup>1</sup>, ANDREI Z. ESCOBAR<sup>1</sup>, GLEICE K. R. da SILVA<sup>1</sup>, EUCLIDES R. OLIVEIRA<sup>1</sup>, RAFAEL H. T. B. de GOES<sup>1</sup>, ISABELLE Z. NOIA<sup>1</sup>, JEFFERSON R. GANDRA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Zootecnia - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Rodovia Dourados-Itahum, km 12, CEP: 79804-970, Dourados, MS, Brasil.  
Contato: jamilledeborao@gmail.com

**Resumo:** O objetivo deste experimento foi avaliar a ação de enzimas amilolíticas e o tempo de armazenamento no valor nutricional da silagem de milho reidratado. Foram preparados 120 silos experimentais em baldes de plástico contendo válvulas de Bunsen para evitar a penetração de gás e permitir a saída de gás. Três tratamentos foram analisados: 1-Control (CON); 2-GLU (glucoamilase); 3-  $\alpha$ -AMI ( $\alpha$ -amilase). Todos os silos foram inoculados com *L. plantarum* ( $4,0 \times 10^{10}$  ufc/g) e *P. acidipropionici* ( $2,6 \times 10^{10}$  ufc/g) adicionado a 4g/t. Os silos foram abertos (5 /tratamento/tempo) nos dias 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 de armazenamento. Amostras de 500g de cada tratamento foram coletadas para determinar MS, CINZA, MO, PB, EE, FDN, FDA, LIGNINA e AMIDO. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o PROC MIXED do SAS 9.3, como medidas repetidas e os efeitos fixos foram incluídos: enzima, tempo e interação enzima/tempo. As diferenças entre os tratamentos foram estudadas por contrastes ortogonais. Foram observados efeitos para todas as variáveis ( $P < 0,005$ ) – enzima; tempo de armazenamento; interação enzima/tempo. A adição de enzimas diminuiu a quantidade de MS, aumentou a quantidade de MO, PB, EE e nutrientes digestíveis totais, aumentando a quantidade de Mcal/kg MS.

**Palavras Chave:** alfa-amilase; glucoamilase; enzima; amido

## LONG STORAGE PERIOD AND AMYLASES ADDITION ON NUTRITIONAL VALUE OF REHYDRATED GROUND CORN SILAGE

**Abstract:** The aim of this trial was to evaluate the action of amylolytic enzymes and storage time on nutritional value of rehydrated ground corn silage. One hundred and twenty experimental silos were prepared in plastic buckets containing Bunsen valves to avoid gas penetration and allow gas escape. Three treatments were analyzed: 1-Control (CON); 2-  $\alpha$ -AMI, ( $\alpha$ -amylase); 3-GLU, (glucoamylase). All silos were also inoculated with *L. plantarum* ( $4,0 \times 10^{10}$  ufc/g) e *P. acidipropionici* ( $2,6 \times 10^{10}$  ufc/g) added at 4 g/t of hydrated ground corn. The silos were packed and were opened (5 mini silos per treatment per time point) on days 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 of storage. Samples of 500g of each treatment were collected for DM, ASH, OM, CP, EE, NDF, ADF, LIGNIN and STARCH. Data were submitted to analysis of variance using the PROC MIXED of SAS 9.3 as repeated measures and fixed effects were included: enzyme, time and enzyme by time interaction. The differences between the treatments were studied by orthogonal contrasts. Effects were observed for all variables ( $P < 0.005$ ) - enzyme; storage time; enzyme by time interaction. Enzymes addition decreased the amount of DM increased the amount of OM, CP, EE and total digestible nutrients, thus increasing the amount of Mcal/kg MS.

**Keywords:** alpha-amylase; glucoamylase; enzyme; starch

**Introdução:** No Brasil, a dieta de ruminantes é predominantemente composta de forragem, e os grãos como o milho e o sorgo, surgem como opção para o período de estiagem (LUCCI et al., 2008). Porém, apesar de o grão de milho apresentar alto conteúdo de carboidratos, principalmente amido, a maioria dos híbridos cultivados no Brasil possui alta vitreosidade, e além dessa matriz proteica, as fortes ligações entre os grânulos de amido limitam sua digestibilidade (FRANZONI, 2012). Por esse motivo, a adição de compostos enzimáticos na dieta animal tem sido utilizado mais frequentemente no intuito de melhorar o desempenho e rentabilidade dos nutrientes (CAMPESTRINI; SILVA; APPELT, 2005), tendo este trabalho o objetivo de avaliar a ação de enzimas amilolíticas e o tempo de armazenamento no valor nutricional da silagem de milho reidratado.

**Material e Métodos:** O grão de milho moído foi reidratado na proporção de 30:100 (L/kg). Foram preparados 120 silos experimentais divididos nos seguintes tratamentos: 1-Control (CON); 2-  $\alpha$ -AMI ( $\alpha$ -amilase), 300 mL/t de matéria fresca; 3-GLU (glucoamilase), 300 mL/t de matéria fresca. Todos os silos foram inoculados com *L. plantarum* ( $4,0 \times 10^{10}$  ufc/g) e *P. acidipropionici* ( $2,6 \times 10^{10}$  ufc/g) adicionado a 4g/t. Os silos foram armazenados e abertos (5/tratamento/tempo) nos dias 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 de armazenamento. Uma amostra (500g) de cada tratamento foi coletada para determinar a matéria seca (método 950.15), cinza (método 942.05), matéria orgânica (MO, MM-cinzas), proteína bruta (CP,  $N \times 6,25$ , método 984.13) e extrato de etéreo (EE, método 920.39) (AOAC, 2000). A fibra de detergente neutro (FDN, sem sulfito de sódio), fibra de detergente ácido (FDA) e lignina (método do ácido sulfúrico) foram determinadas de acordo com Van Soest; Robertson; Lewis, (1991). O amido foi determinado utilizando o método de Hendrix, (1993) e a concentração de energia líquida de milho estimada de acordo com NRC (2001). Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC MIXED do SAS 9.3 como medidas repetidas e os efeitos fixos foram incluídos: enzima, tempo e interação enzima por tempo. As diferenças entre os tratamentos foram estudadas por contrastes ortogonais, como segue: CON vs AMI + GLU (C1) e AMI vs GLU (C2).

**Resultado e Discussão:** Foram observados efeitos para todas as variáveis ( $P < 0,005$ ) – enzima; tempo de armazenamento; interação enzima/tempo. A inclusão das enzimas reduziu o teor da MS, e teve efeito tanto para C1 quanto para C2. Para a PB e EE, maiores teores foram observados nos silos tratados com enzimas

demonstrando efeito para C1. Um aumento no teor de MO também foi constatado. Klingerman et al. (2009) testando a inclusão de enzimas amilolíticas encontraram uma melhor digestão da MS, MO e PB em vacas que receberam dieta com enzima, e então puderam explicar a melhora na produção de leite desses animais. Para o teor de amido, comparando a inclusão das enzimas com o controle, ocorreu uma redução do valor, concordando com os dados de Chen et al., (1995), que relataram menor teor de amido mesmo quando a MS, MO, PB e FDN foram superiores quando o grão foi tratado com enzimas amilolíticas. A redução do amido, então, está intimamente relacionada à atividade enzimática, que deixou este componente mais exposto para ser utilizado nas etapas de fermentação no silo.

Tabela 1 - Valor nutricional de acordo com os tratamentos experimentais

Item	Tratamentos <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>				
	CON	$\alpha$ -AMI	GLU		Enzima	Tempo	Interação	C1	C2
	g/kg MS								
MS	585.35	550.28	541.89	3.09	<.0001	<.0001	<.0001	0.001	<.0001
MO	984.12	984.93	985.29	0.50	0.326	<.0001	<.0001	0.152	0.659
PB	75.77	83.63	85.28	1.11	<.0001	<.0001	0.003	<.0001	0.431
EE	14.77	20.01	19.87	0.70	<.0001	0.002	<.0001	<.0001	0.918
Amido	626.04	550.36	525.44	6.89	<.0001	<.0001	0.006	<.0001	0.028
CNF <sup>4</sup>	774.78	764.84	759.59	3.11	0.021	<.0001	0.338	0.009	0.333
FDN	119.46	116.45	120.54	2.57	0.655	<.0001	0.304	0.809	0.377
FDA	84.96	81.95	86.04	2.57	0.655	<.0001	0.304	0.8094	0.377
Lignina	18.53	22.66	24.82	0.64	<.0001	0.393	0.041	<.0001	0.127
Cinzas	15.88	15.06	14.71	0.50	0.326	<.0001	<.0001	0.152	0.659
NDT <sup>5</sup>	876.07	881.71	868.66	9.33	0.477	<.0001	0.320	0.923	0.226
<i>Din vitro</i> <sup>6</sup>	934.43	921.34	914.66	5.28	0.118	<.0001	0.008	0.050	0.490
	Mcal/kg MS								
EB <sup>7</sup>	4.12	4.20	4.17	0.03	0.015	<.0001	0.796	0.007	0.261
ED <sup>8</sup>	3.85	3.87	3.88	0.04	0.477	<.0001	0.320	0.923	0.226
EM <sup>9</sup>	3.44	3.47	3.41	0.04	0.466	<.0001	0.314	0.909	0.219
ELL <sup>10</sup>	2.02	2.04	2.00	0.02	0.488	<.0001	0.311	0.946	0.232

<sup>1</sup>CONT (Controle),  $\alpha$ -AMI (alpha-amilase, atividade enzimática 400 U/mL), GLU (glucoamilase, atividade enzimática 300 U/mL). <sup>2</sup>EPM (erro padrão da média). <sup>3</sup>Contrastes ortogonais C1 (CON vs GLU +  $\alpha$ -AMI); C2 (GLU vs  $\alpha$ -AMI); <sup>4</sup>Carboidratos não-fibrosos (CNF). <sup>5</sup>Nutrientes digestíveis totais. <sup>6</sup>Digestibilidade *in vitro*. <sup>7</sup>Energia bruta. <sup>8</sup>Energia digestível. <sup>9</sup>Energia metabolizável. <sup>10</sup>Energia líquida de lactação.

**Conclusão:** Comparando os silos tratados com o controle houve melhora parcial sobre os parâmetros nutricionais do alimento, mesmo com uma digestibilidade *in vitro* menor nos tratamentos com enzima. Confrontando as enzimas,  $\alpha$ -AMI se mostrou mais consistente, sendo mais eficiente que a glucoamilase.

**Referências Bibliográficas:** ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis**. Gaithersburg, USA, 2000.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M. DA; APPELT, M. D. Utilização De Enzimas Na Alimentação Animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 2, n. 6, p. 259–272, 2005.

CHEN, K. H. et al. Effect of enzyme treatment or steam-flaking of sorghum grain on lactation and digestion in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 78, n. 8, p. 1721–7, 1995.

FRANZONI, A. P. S. **Efeito do processamento do milho e dos teores de fibra no desempenho de bovinos Nelore em terminação**. [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2012.

HENDRIX, D. L. Rapid Extraction And Analysis Of Nonstructural Carbohydrates In Plant-Tissues. **Crop Science**, v. 33, p. 1306–1311, 1993.

KLINGERMAN, C. M. et al. An evaluation of exogenous enzymes with amylolytic activity for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 3, p. 1050–1059, 2009.

LUCCI, C. S. et al. Processamento de grãos de milho para ruminantes: Digestibilidade aparente e “in situ”. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, p. 35–40, 2008.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 2001. 363p.

OWENS, F. et al. Acidosis in cattle : a review. **Journal of animal science**, p. 275–286, 1998.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of dairy science**, v. 74, n. 10, p. 3583–97, 1991.