

EFEITO DA PROTEASE E AMILASE SOBRE O PERFIL FERMENTATIVO DA SILAGEM DE MILHO REIDRATADO NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES

JAMILLE D. DE OLIVEIRA BATISTA RODRIGUES^{1*}, CIBELI DE A. PEDRINI², GLEICE K. RODRIGUES DA SILVA², SULLYVAN S. OLIVEIRA³, ÉRIKA R. DE SENA GANDRA⁴, JEFFERSON R. GANDRA⁴

¹IFMT, Alta Floresta, MT. ²Departamento de Nutrição de Ruminantes e Forragens Conservadas, UFGD, Dourados, MS. ³IFPA, Santarém, PA. ⁴Instituto de Estudos do Trópico Úmido, UNIFESPA, Xinguara, PA.

Contato: jamilledeboraob@gmail.com / Apresentador: JAMILLE D. DE OLIVEIRA BATISTA RODRIGUES

Resumo: O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da adição de protease e amilase em silagem de grão de milho reidratado sob o perfil fermentativo. Foram preparados 28 silos experimentais e distribuídos aleatoriamente em 4 tratamentos: CONTROLE (sem adição de enzimas); AMI (enzima amilolítica); PROT (enzima proteolítica); AMI + PROT (amilase + protease) para avaliação do perfil fermentativo dos silos. O pH se manteve praticamente estável, com resposta do pH em função da PROT e da interação, sendo maior na interação. Houve também diferença para a N-NH₃(mg/dl) em função da PROT e interação, sendo maior no tratamento PROT. Para o perfil de ácidos graxos (AG) foi possível observar diferença para lactato no tratamento PROT e na interação, com maior média de produção de lactato no tratamento PROT. Para valerato e AG totais a resposta foi significativa para o tratamento PROT. A inclusão de amilase e protease melhorou o perfil fermentativo da silagem de grão úmido reidratado.

PalavrasChaves: ensilagem, enzimas, fermentação

EFFECT OF PROTEASE AND AMYLASE ON THE FERMENTATION PROFILE OF REHYDRATED CORN SILAGE IN RUMINANT NUTRITION

Abstract: The aim of the study was to evaluate the effects of adding protease and amylase to rehydrated corn grain silage on the fermentative profile. Twenty-eight experimental silos were prepared and randomly distributed into 4 treatments: CONTROL (without addition of enzymes); AMI (amylolytic enzyme); PROT (proteolytic enzyme); AMI + PROT (amylase + protease) to evaluate the fermentative profile of the silos. The pH remained practically stable, with a pH response depending on PROT and the interaction, being greater in the interaction. There was also a difference for N-NH₃ (mg/dl) depending on PROT and interaction, being greater in PROT treatment. For the fatty acid (FA) profile, it was possible to observe a difference for lactate in the PROT treatment and in the interaction, with a higher average lactate production in the PROT treatment. For valerate and total fatty acids the response was significant for PROT treatment. The inclusion of amylase and protease improved the fermentative profile of rehydrated wet grain silage.

Keywords: silage, enzymes, fermentation

Introdução: O milho é muito utilizado na alimentação animal e se tornou uma importante referência na produção de silagem, principalmente, por suas características bromatológicas. Mas, a maioria dos híbridos cultivados no Brasil possui alta vitreosidade (Faustino et al., 2020) e as técnicas de processamento têm demonstrado benefícios melhorando aspectos relacionados a sua digestibilidade (Prestes et al., 2019). A prática de reidratação é uma alternativa à utilização do grão colhido com alta umidade, mas, silagens de grão úmido são mais instáveis (Muck et al., 2018), e o intuito de melhorar a sua utilização tem incentivado estudos com a inclusão de enzimas (Faustino et al., 2020). Mas, ainda é necessário um melhor entendimento das peculiaridades da fermentação e dos efeitos da adição de enzimas a dieta animal (Moraes et al., 2017), assim, o objetivo foi avaliar a adição de protease e amilase sobre o perfil fermentativo da silagem de milho reidratado.

Material e Métodos: Foram feitos e distribuídos aleatoriamente em quatro tratamentos 28 silos experimentais: 1- Controle (sem enzimas); 2- AMI (amilase); 3- PROT (protease); 4- AMI + PROT (amilase + protease). Foi adicionado inoculante bacteriano, 500g/t de grão úmido de protease (CINBENZA DP100®, extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, atividade de protease 600 UI/g) e 300 ml/ton de matéria fresca de amilase (Kerazyme 3035, atividade de amilase 300 UI/ml). Após 45 dias foi feita a abertura dos silos, a silagem foi homogeneizada e amostras foram coletadas para através de pressão fazer a extração do exsudato da silagem. O pH foi mensurado com potenciômetro digital (MB-10, Marte, Santa Rita do Sapucaí, Brasil). Para análise dos ácidos orgânicos foi utilizada metodologia de Erwin et al. (1961). Quanto ao nitrogênio amoniacal, a análise foi feita como descrito por Kulasek (1972) e adaptado por Foldager (1977). As análises de ácidos graxos de cadeia curta, etanol e ácido láctico foram realizadas segundo os métodos descritos por Rodrigues et al. (2012). A concentração láctica foi avaliada conforme descrita por Ding et al. (1995). Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED de acordo com a seguinte modelo: $Y_i = \mu + E_i + e_i$ onde: Y_{ijklm} = variável dependente, μ = média geral, E_i = efeito de protease ($i = 1$ a 5), e e_i = erro. Os graus de liberdade foram corrigidos por DDFM = kr. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo comando PROC MIXED do SAS, versão 9.0 (Sas, 2009). Os dados foram avaliados por regressão polinomial simples, adotando-se nível de significância de 5%.

Resultado e Discussão: Houve diferença estatística ($P=0,05$) do pH em função da PROT e interação amilase*protease, com o pH sendo mais alto no tratamento amilase*protease. Houve também diferença estatística ($P=0,05$) para a N-NH₃(mg/dl) em função da PROT e interação amilase*protease. Com o N-NH₃(mg/dl) sendo maior no tratamento PROT. Com relação ao perfil de ácidos graxos (AG) em mmol/kg MS foi possível observar diferença estatística ($P=0,05$) para lactato no tratamento PROT e interação amilase*protease, com maior média de produção de lactato no tratamento AMI. Para valerato e AG totais a resposta foi significativa para o tratamento PROT. O ácido acético é o principal ácido orgânico associado positivamente à

estabilidade aeróbia da silagem (Danner et al., 2003). Já o ácido láctico, que pode ser assimilado por leveduras, pode iniciar a deterioração em muitos tipos de silagens (Woelford, 1990). Mas, a deterioração em silagens está mais associada à umidade do material do que à concentração de ácido acético (Rezende et al., 2014). A inclusão da amilase favorece o aumento da população microbiana, e deixa o substrato mais acessível (Junges et al., 2017), já a protease passa a ter um papel mais limitante quanto ao tipo de população que será favorecida, controlando o pH e conferindo uma melhor estabilidade ao silo.

Tabela 1: Perfil fermentativo no momento da abertura dos silos em função dos tratamentos experimentais

Item	Tratamentos experimentais ¹				EPM ²	Valor de P ³		
	CONT	AMI	PROT	AMI+PROT		AMI	PROT	AMI*PROT
<i>Perfil fermentativo</i>								
pH	3.91 ^b	3.81 ^b	4.05 ^{ab}	4.13 ^a	0.025	0.796	<.0001	0.0007
N-NH ₃ (mg/dl)	13.48 ^b	9.53 ^c	25.73 ^a	13.10 ^b	1.379	<.0001	<.0001	0.008
mmol/kgMS								
Etanol	8.50	8.05	7.43	7.03	4.531	0.529	0.319	0.634
Lactato	4.89 ^c	5.48 ^b	7.74 ^a	5.86 ^b	0.296	0.165	0.002	0.011
Acetato	7.12	7.37	8.18	8.95	0.390	0.516	0.100	0.744
Propionato	0.670	0.701	0.697	0.759	0.024	0.403	0.370	0.757
Butirato	1.49	1.50	1.01	2.77	0.311	0.158	0.512	0.161
Isobutirato	0.768	0.804	0.806	0.804	0.017	0.909	0.863	0.398
Valerato	0.899	0.941	0.863	0.857	0.024	0.310	0.001	0.169
Isovalerato	1.08	1.12	1.06	1.08	0.010	0.571	0.600	0.824
AGCR	2.75	2.86	2.73	2.72	0.036	0.485	0.275	0.366
Total	16.92	17.92	20.39	21.06	0.598	0.438	0.005	0.879

¹CONT (sem adição enzimática); AMI (adição de 300 ml/ton de alfa-amilase atividade enzimática de 90 UI/kg); PROT (adição de 500 g/ton de protease atividade de protease 600 UI/g). ²EPM (erro padrão da média). ³Probabilidade de efeito de AMI = alfa-amilase; PROT = protease AMI*PROT= interação amilase e protease

Conclusão: A inclusão de amilase e protease melhorou o perfil fermentativo da silagem de grão úmido reidratado.

Referências Bibliográficas: Ding, M.I.; Koizumi, H.; Suzuki, Y. 1995. Comparison of three chromatographic systems determination of organic acids in wine. *Analytical Sciences*, 11: 239–243. Erwin, E.S.; Marco, G.J.; Emery, E.M. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. of Dairy Science*, 44(9):1768-1771. Faustino, T.F.; Dias e Silva, N.C.; Leite, R.F. 2020. Utilização de grão de milho reidratado e casca de café na alimentação animal. *R. Científica Rural*, 22(1):259-275. Foldager, J. 1977. Protein requirement and non protein nitrogen for high producing cow in early lactation. Ph.D. thesis, East Lansing - Michigan State University. Kulasek, G. 1972. A micromethod for determination of urea in plasma, whole blood and blood cells using urease and phenol reagent. *Polskie Archiwum Weterynaryjne*, 15(4):801-810. Morais, G. et al.. 2017. Additives for grain silages - A review. *Slovak J. of Animal Science*, 50(1):42–54. Muck, R.E. et al. 2018. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. *J. of dairy science*, 101(5):3980-4000. Prestes, I.D. et al. 2019. Principais fungos e micotoxinas em grãos de milho e suas consequências. *Scientia Agropecuaria*, 10(4):559-570. Rodrigues, P.H.M. et al. 2012. Effects of microbial inoculants and amino acid production by-product on fermentation and chemical composition of sugarcane silage. *R. Brasileira de Zootecnia*. 41(6):1394–1400