



DIGESTIBILIDADE INTESTINAL VERDADEIRA DA PROTEÍNA EM GRÃOS DE CEREAIS

Giovane Diorgenes Bozelli (PIBIC/CNPq-FA/Uem), Francine Mezzomo Giotto, Ana Lúcia Teodoro, Denes dos Santos Alves, Antonio Ferriani Branco (Orientador), e-mail: afbranco@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias /Maringá, PR.

Área: Ciências Agrárias 5.04.00.00-2 **Subárea:** Zootecnia 5.04.00.00-2

Palavras-chave: PNDR, ruminantes, três estágios

Resumo:

A digestibilidade intestinal verdadeira (DIV) de proteína de diferentes cereais foi analisada por meio das técnicas *in situ* e *in vitro*. Foram utilizados 2 bovinos holandeses, com cânulas ruminais para incubação *in situ* das amostras. A DIV dos cereais foi avaliada com pepsina+pancreatina e somente com pancreatina, procedidas ou não da incubação ruminal. Os alimentos que sofreram a incubação ruminal obtiveram uma maior variação na DIV, quando relacionadas aos que tiveram ou não a pré-incubação com pepsina. Os que passaram pela pré-incubação com pepsina possuíram uma maior DIV em comparação aos que somente foram incubados com pancreatina.

Introdução

Uma técnica *in vitro* para estimar a digestão intestinal da proteína deve simular as condições fisiológicas dos ruminantes, incluindo os efeitos provenientes da fermentação ruminal, ser rápida, confiável barata e ser aplicável a uma ampla variedade de alimentos (Branco et al., 2006). Entre os diversos métodos desenvolvidos, nenhum foi capaz de reunir todos essas características.

A técnica de três estágios (Calsamiglia & Stern, 1995) vem sendo testada como método para estimar a digestibilidade intestinal verdadeira da proteína de diferentes alimentos, de maneira prática e conseguindo unir as características supracitadas.

Dessa forma, essa pesquisa foi conduzida com o intuito de estudar os efeitos da fermentação ruminal e da pré-incubação ou não com pepsina



sobre a digestibilidade intestinal verdadeira da proteína dos principais grãos de cereais utilizados na nutrição de ruminantes, através da técnica dos três estágios.

Materiais e métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal (LANA) e na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), ambas pertencentes a Universidade Estadual de Maringá.

Foram utilizados os cereais milho, sorgo, centeio, cevada, triticale, aveia branca e trigo, em um delineamento inteiramente casualizado com três repetições, para avaliar a digestibilidade intestinal verdadeira (DIV) da proteína *in vitro*, segundo a metodologia dos três estágios (Calsamiglia & Stern, 1995 modificada por Gargallo et al., 2006). Inicialmente foi realizada a incubação *in situ* dos cereais, moídos a 2mm (primeiro estágio). Para isto, foram utilizados dois bovinos holandeses, com 24 meses de idade e 400 kg de peso vivo, providos de cânulas ruminais, confinados e alimentados duas vezes ao dia. Os cereais foram colocados em saquinhos de náilon (10 x 8 cm) com poros de 50 μ m e após 10 saquinhos de cada cereal foram incubados no rúmen dos animais, por 16 horas. Após a incubação os saquinhos foram retirados do rúmen, colocados em gelo e lavados com água corrente. Os saquinhos foram secos em estufa com ventilação forçada de ar a 55°C durante 72 horas. Logo após a secagem, foram feitas três amostras compostas por cereal, que então foram a 1 mm para posterior realização da determinação da MS e de nitrogênio pelo método de KJALDAHL (AOAC, 1990). A estimativa da proteína não-degradada no rúmen (PNDR) foi calculada pela diferença da proteína degradada no rúmen (PDR).

A determinação da DIV da proteína foi realizada *in vitro*, submetendo os resíduos da incubação *in situ* (primeiro estágio) e as amostras *in natura* à digestão com pepsina e pancreatina ou só pancreatina. Foram pesados 15 mg de nitrogênio de cada amostra em tubos de 5mL. As amostras foram submetidas à incubação de pepsina mais pancreatina (segundo estágio). Em cada tubo, foi adicionado 10 mL de solução de HCL 0,1 N contendo 3 g/L de pepsina (Sigma P1500, Sigma) a um pH de 1,9 e incubados durante 60 minutos em banho-maria a uma temperatura constante de 38°C sob agitação. Posteriormente, foi adicionando 0,5 mL de NaOH para neutralizar o pH e 13,5 mL de uma solução 0,5 molar de KH₂PO₄, contendo 50 ppm de Timol e 6 g/L de pancreatina (Sigma P1500, Sigma). A incubação permaneceu por mais 24 horas a 38°C com agitação a cada 8 horas. Foi realizada uma segunda incubação do material obtido após o primeiro estágio, utilizando apenas pancreatina e KH₂PO₄. Finalizada a incubação, o resíduo dos tubos foi recuperado em papel filtro, lavado com 500 mL de água destilada. As amostras foram secadas em estufa de ventilação forçada



de ar a 55° C por 48 horas e realizado análise de proteína pelo método Micro Kjaldahl (AOAC, 1990). A DIV da proteína dietética ou da amostra incubada previamente no rúmen foi calculada da seguinte forma:

$$\text{DIV (g)} = \frac{\text{proteína incubada (g)} - \text{resíduo (g)}}{\text{proteína incubada (g)}}$$

Os dados de digestibilidade intestinal verdadeira da proteína foram interpretados por análise de variância adotando um nível de significância com $\alpha = 0,05$ e o teste para comparação de médias o Tukey adotando 5% de probabilidade, utilizando-se o programa SAS® 9.2.

Resultados e Discussão

Os resultados presentes na tabela 1, relacionados aos alimentos *in natura*, mostram que não houve aumento ($P > 0,0001$) da DIV da proteína quando foram pré-incubados com pepsina por um período de uma hora, exceto para aveia branca ($P < 0,0001$), que teve uma ligeira melhora na digestibilidade quando submetida à pré-incubação.

Tabela 1 Digestibilidade intestinal verdadeira (DIV) da proteína dos alimentos submetidos ou não à pré-incubação ruminal, à digestão com pepsina + pancreatina e à digestão com pancreatina

Alimentos	Alimento <i>in natura</i>		Alimento incubado		P Contraste	
	Pep.+Pancr ¹	Pancr ²	Pep.+Pancr ¹	Pancr ²	Inc x Innat ³	Pep.Pancr x Pancr ⁴
Milho	73,39	74,38	64,03	66,80	0,004	0,55
Sorgo	37,94	44,98	42,21	38,38	0,64	0,52
Aveia	93,37	93,29	69,96	57,27	<0,0001	0,52
Trigo	85,99	87,27	84,20	81,58	0,03	0,73
Centeio	78,96	82,51	56,46	61,81	<0,0001	0,56
Cevada	57,68	62,68	76,88	72,17	0,0002	0,98
Triticale	83,78	86,34	72,68	71,42	<0,0001	0,89

¹ Alimentos incubados *in vitro* com pepsina e pancreatina;

² Alimentos incubados *in vitro* com pancreatina;

³ Contraste ortogonal entre alimentos pré-incubados no rúmen x *in natura*;

⁴ Contraste ortogonal entre alimentos incubados *in vitro* com pepsina e pancreatina x incubados com pancreatina

Os valores da DIV da proteína dos alimentos incubados no rúmen foram maiores ($P > 0,0001$), exceto para o milho e o centeio, nos cereais que sofreram pré-digestão com pepsina por um período de uma hora (tabela 1). Em virtude desse fato, a pré-incubação com pepsina pode alterar a DIV da proteína.

O contraste usado entre os cereais *in natura* e incubados no rúmen apresentou efeito significativo ($P < 0,0001$), concluindo assim, que a



degradação ruminal diminui a DIV da proteína em parte dos cereais estudados, com exceção do milho, sorgo, trigo e cevada.

Levando em consideração os resultados desse trabalho, e também os observados por Branco et al. (2006), a eliminação de alguma etapa da técnica dos três estágios para determinar a DIV, pode acarretar em uma superestimação ou uma subestimação da digestibilidade intestinal verdadeira da proteína não degradada no rúmen.

Conclusões

Os cereais trigo e cevada apresentaram maiores percentagens de digestibilidade intestinal verdadeira, já sorgo e centeio obtiveram os menores valores. Os alimentos que sofreram a incubação ruminal obtiveram uma maior variação na digestibilidade intestinal verdadeira, quando relacionadas aos que tiveram ou não a pré-incubação com pepsina. Os que passaram pela pré-incubação com pepsina possuíram uma maior degradabilidade intestinal verdadeira em comparação aos que somente foram incubados com pancreatina.

Agradecimentos

Ao meu orientador Antonio Ferriani Branco e ao CNPq pela concessão da bolsa.

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 13 ed. Washington, D.C.: 1980.

BRANCO, A. F, CONEGLIAN, M. S, MAIA, J. F & GUIMARÃES C. K. Digestibilidade intestinal verdadeira da proteína de alimentos para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.35, n.4, p.1788-1795, 2006 (supl.)

CALSAMIGLIA, S.; STERN, M.D. A three-step in vitro procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.73, n.5, p.1459-1465, 1995.

GARGALLO, S.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A. Technical note: A modified three-step in vitro procedure to determine intestinal digestion of proteins. **Journal of Animal Science**. V.84, p. 2163–2167, 2006.