

DETERMINAÇÃO E ESTUDO DA QUANTIDADE E QUALIDADE DA PROTEÍNA DO GRÃO DE MILHO (*Zea mays* L.)¹

DIETRICH GERHARD QUAST²

Sumário

O presente trabalho constitui estudo quantitativo e qualitativo da proteína de 49 amostras de milho. Os trabalhos de análises foram conduzidos separadamente para o germe e o endosperma. Descrevem-se, também, os métodos de análise química utilizados dando especial ênfase ao método para determinação do triptofano que tem dado bons resultados.

Foram as seguintes as principais observações feitas:

1. É bastante elevado o teor médio em proteína bruta das amostras examinadas (10,65%).
2. Os milhos duros apresentaram superioridade significativa aos milhos dentados quanto ao teor de proteína bruta (11,09% e 10,09%).
3. Não há diferença significativa entre milhos dentados e duros quanto à relação triptofano/proteína.
4. A proteína dos grãos ricos em proteína contém aproximadamente 1,10% de triptofano; a proteína dos grãos pobres em proteína contém, em média, 1,20% de triptofano.
A diferença é pouco significativa.
5. A proteína do germe contém mais triptofano que a maioria das proteínas animais e vegetais de elevado valor biológico.
6. A seleção no sentido de aumentar a percentagem de germe no grão é eficiente para aumentar não só a quantidade como principalmente a qualidade da proteína do milho.

INTRODUÇÃO

O milho é sem dúvida, um dos alimentos mais importantes do mundo, não só diretamente para o homem como principalmente para os animais domésticos que são indispensáveis fornecedores da proteína animal para o homem.

O milho é essencialmente um alimento energético devido ao seu elevado teor em hidratos de carbono. Entretanto, devido ao grande volume de milho consumido na alimentação animal, a proteína nele contida contribui substancialmente para o crescimento dos animais. Com o uso cada vez mais difundido dos milhos híbridos de alto rendimento tem-se verificado uma queda na percentagem de proteína que é avaliada de 9,5 para 8,5% em 10 anos nos Estados Unidos da América. Atualmente a tendência geral é a de aumentar novamente os teores de proteína no grão de milho, seja por seleção adequada, seja pela adubação nitrogenada.

Infelizmente, o principal problema do milho relaciona-se mais com a qualidade da proteína que

com a quantidade da mesma. Realmente, a zeína, principal proteína do endosperma do milho, não contém dois dos dez aminoácidos essenciais: a lisina e o triptofano.

A zeína ocorre em proporção variável no milho. Segundo Frey (1951), a zeína constitui aproximadamente 40% da proteína total do grão. Meller *et al.* (1952) afirmam que as demais proteínas do endosperma são de boa qualidade. Também a proteína do germe é de ótima qualidade. Isto compensa, em parte, as deficiências devidas à zeína. Conforme Hixen (1957) a percentagem de zeína no endosperma é variável e pode ser avaliada pela equação ($y=0,692X-1,87$) onde "X" representa a percentagem de proteína bruta no endosperma. Meller *et al.* (1952) confirmam o que se deduz da equação acima: o aumento do teor de proteína no endosperma implica em aumentar principalmente o teor de zeína, o que significa baixar o seu valor biológico. O mesmo autor admite que o milho seja alimento mais indicado para ruminantes onde a deficiência dos dois aminoácidos se faria sentir menos.

Também Frey (1951) constatou que a seleção no sentido de aumentar o teor de proteína bruta resultava em aumento da percentagem de zeína ou queda da percentagem de triptofano sobre a proteína

¹ Trabalho realizado em 1963, quando o autor era aluno da Escola Nacional de Agronomia da Universidade Rural do Brasil, e subvencionado pelo Conselho Nacional de Pesquisas.

² Eng.º Agrônomo do Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, São Paulo.

total. Afirma que a proteína de milhos ricos em proteína parece ser de qualidade inferior àquela de milhos pobres em proteínas.

Klimenko e Sayanova (1959), estudando a quantidade e a qualidade da proteína em híbridos de milho e os seus pais, verificaram que os primeiros continham maior quantidade de proteína e de melhor qualidade. Acentuam a possibilidade e a necessidade do melhoramento no sentido de aumentar a qualidade da proteína do endosperma. Segundo os mesmos autores existem apenas 4% de proteína de boa qualidade no grão de milho.

Meller *et al.* (1952) discordam da maioria dos autores, dizendo que os teores de lisina e triptofano variam diretamente com o teor de proteína dentro de limites relativamente amplos de 8,48 a 14,12% de proteína bruta.

Hansen e Sprague (1946) verificaram que o endosperma do milho doce contém 1% de zeína a menos que o milho dentado. Segundo os autores o endosperma quebradiço (Brittle) é excepcionalmente pobre em zeína. Segundo Woodworth e Jugenheimer o teor de proteína é mais elevado nos milhos duros e cristalinos (Flint). Os milhos moles ou dentados seriam mais pobres em proteína, o que não justifica que os mesmos sejam preferidos pela maioria dos consumidores.

Ávila (1952) estudando o triptofano em milhos comerciais argentinos, verificou que não havia diferença significativa entre os 9 tipos examinados quanto à percentagem de triptofano. Pelos valores apresentados, verificamos que havia uma leve superioridade dos milhos do tipo dentado sobre os milhos do tipo duro (Flint). Infelizmente, o autor não relaciona os valores achados com os teores de proteína bruta para investigar a qualidade de mesma. Neste particular provavelmente haveria superioridade dos milhos dentados já que os mesmos possuem menor quantidade de proteína.

Marais e Sumts (1940) constataram que o valor biológico do milho integral branco era $76 \pm 1,91$ e $67 \pm 0,98$ para o milho amarelo para o nível protéico de 8%. A proteína do milho branco era significativamente superior àquela do milho amarelo. A complementação da proteína pela adição dos dois aminoácidos, lisina e triptofano, tornou-a de elevado valor biológico.

Stehsel e Wildman (1950) apresentaram explicação interessante para o baixo teor de triptofano no grão de milho. Este alimento é uma fonte extraordinariamente rica em hormônios de crescimento. Durante o processo de maturação parte do triptofano é transformada em auxinas devido à ação de enzimas específicas. O autor provou que a ação de tais en-

zimas é especialmente acentuada em milhos pobres em triptofano onde até 40% deste são transformados em auxinas.

Na parte de Genética, Frey (1951) constatou que as percentagens de proteína, zeína e triptofano são determinadas por 22,6 e 15 gens, respectivamente. A pobreza em proteína e zeína são fatores dominantes.

Segundo Sprague (1955), o melhoramento do milho no sentido de modificar a sua composição química tem sido conduzido de três maneiras distintas:

1. Aumento de alimento energético pela elevação da percentagem do óleo;
2. Seleção no sentido de aumentar o teor de niacina;
3. Incrementação da quantidade e da qualidade da proteína do grão.

A quantidade de proteína pode ser aumentada pela seleção como pela própria adubação nitrogenada. A adubação tem a desvantagem de aumentar principalmente a quantidade de zeína no grão.

De fato, a elevação do teor de proteína não é problema mais sério de vez que já se conhecem variedades com mais de 20% de proteína no grão.

Hixon (1957) afirma que a qualidade (valor biológico) da proteína do germe é igual à das melhores de origem animal. O germe contém, em média 22% da proteína total do grão. Assim a qualidade da fração protéica pode ser incrementada de duas maneiras: 1) Pelo aumento da quantidade de germe; 2) Pelo aumento de lisina e triptofano no endosperma, o que implica em reduzir a quantidade de zeína no mesmo.

O primeiro método parece realmente o mais simples inclusive pela facilidade com que podemos determinar as quantidades de germe e endosperma em grande número de variedades e linhagens. Apresenta, entretanto, a desvantagem de provocar, concomitantemente, um incremento na percentagem de óleo. Isto, à primeira vista, é vantagem. Entretanto, fora de certos limites, registramos uma queda de produção. Assim, este método poderá ser empregado com vantagem até o teor de 15 a 20% de germe.

Sprague (1947) verificou que a seleção pelo aumento de quantidade de triptofano é mais eficiente que a seleção baseada na redução da quantidade de zeína. Da mesma maneira é eficiente a seleção pela quantidade de lisina.

Segundo Hansen e Sprague (1946) a determinação analítica da zeína baseada na solubilidade desta em diversos solventes orgânicos é extremamente empírica, fornecendo resultados mais diversos. O autor não recomenda tais métodos para a avaliação da qualidade da proteína.

Enfim, de tôdas as características o teor de triptofano é o que está mais intimamente ligado com os teores de lisina e niacina, e assim com o próprio valor nutritivo do milho. Entretanto, como observa Frey (1951), a dificuldade de desenvolver métodos analíticos adequados para a sua avaliação tem prejudicado seriamente os trabalhos de desenvolvimento neste sentido.

Devido aos recentes progressos da cromatografia em papel, principalmente no estudo das proteínas e dos aminoácidos, estudamos a possibilidade de aplicar esta técnica à determinação quantitativa da lisina e do triptofano do milho. A técnica utilizada foi essencialmente aquela empregada por Linskens (1955) e Cramer (1953). Vários cromatogramas com padrões dos aminoácidos foram feitos, utilizando concentrações diversas de lisina e triptofano. Cedo verificamos que seria impossível determinar quantidades tão pequenas destes aminoácidos em presença de grandes quantidades dos demais aminoácidos que ocorrem no milho.

Realmente, os resultados práticos obtidos pela cromatografia do hidrolizado ácido para a determinação da lisina e do hidrolizado alcalino para a determinação do triptofano não foram satisfatórios. Principalmente a determinação do triptofano por este método é inexequível devido à difícil caracterização do mesmo, seja pela niidrina ou reagentes específicos como pela própria luz ultravioleta.

Procuramos pois, outros métodos para a determinação dos dois aminoácidos. Muito usados foram, ainda recentemente, os métodos microbiológicos baseados no desenvolvimento de várias espécies de microorganismo. Miller *et al.* (1950) usaram o *Streptococcus faecalis* para a determinação do triptofano. Tais métodos, entretanto, são complicados e muito demorados.

Vários métodos colorimétricos têm sido estudados. Muitos possuem uma série de defeitos, seja devido ao empirismo, seja devido ao equipamento de reagentes especiais necessários para a sua execução.

Finalmente, encontramos no *Chemical Abstracts* de 1959 (vol. 53) breve referência sobre método colorimétrico rápido para a determinação do triptofano no milho. O método idealizado por Vigorov (1958) baseia-se na reação entre o paradimentilaminobenzaldeído e o triptofano em meio clorídrico. Forma-se um composto de coloração azul.

Como não nos fôsse possível conseguir a publicação original do método baseamo-nos no resumo do *Chemical Abstracts* na elaboração do nosso método. Este, depois de testado, forneceu resultados concordes e satisfatórios.

Para estudar mais a fundo a qualidade da proteína do grão de milho decidiu-se fazer as determinações separadamente no endosperma e no germe. Como algumas amostras se apresentassem coloridas (milho roxo e vermelho), outras com o germe alterado devido ao tempo de armazenamento na coleção do Departamento de Fitotecnia da Universidade Rural do Brasil, não foi possível fazer a determinação do triptofano. Isto porque as determinações feitas em duplicatas não concordavam satisfatoriamente e a coloração formada era diferente da normal.

Para cálculo de percentagem de proteína bruta empregou-se o fator 6,25 como recomendam Massieu *et al.* (1949) e o próprio Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América.

MATERIAL E MÉTODOS

Generalidades

A fim de servir como melhor orientação para nós mesmos e para outros que venham a fazer trabalhos de determinação do triptofano no milho, preferimos descrever aqui com detalhes os métodos utilizados.

Para a execução das determinações aqui descritas, levadas a efeito em duplicata, são necessárias, no mínimo, 20 grãos de milho. Esta quantidade poderá ser um pouco menor em se tratando de grãos bastante grandes. Consideramos a quantidade acima não apenas necessária para as determinações como também indispensável para uma amostragem adequada.

Todos os resultados finais são expressos sobre o material isento de umidade.

Tratamento da amostra

À amostra recebida no laboratório é imediatamente atribuído um número de registro. No livro de registro anotam-se tôdas as especificações que acompanham a amostra bem como a data em que se deu entrada no laboratório. Além das especificações, fazem-se anotações sobre características morfológicas dos grãos, incluindo as seguintes observações: a) tamanho; b) colaboração do grão e do endosperma; c) forma; d) duro ou dentado; e) conservação.

Dentro de no máximo duas semanas, procede-se à amostragem de 20 a 40 grãos, dependendo do tamanho dos mesmos. Procura-se sempre guardar amostra representativa para comparações e estudos posteriores, caso isto seja necessário.

Os grãos escolhidos para a análise são colocados em becher de 50ml ao qual se adiciona água destilada para cobrir completamente o milho. Deixa-se na água durante no mínimo 12 horas e no máximo 24 horas. Este tempo foi arbitrariamente fixado para reduzir, ao mínimo, quaisquer interferências ou de-

suniformidades que possam ter origem em tratamentos diferentes.

Depois disso, os grãos são colocados sobre papel de filtro para remover o excesso de umidade e o germe é separado mecânicamente do endosperma. Para tal utiliza-se um canivete de aço inoxidável e de forma adequada. Nesta separação retira-se inicialmente a película que cobre todo o grão no lado em que se extrai o germe. A película é juntada ao endosperma.

Evidentemente a separação, sendo manual, não é perfeita. Admitimos entretanto, que o erro cometido sobre o endosperma não seja superior a 2%. Ademais, teve-se especial cuidado em deixar o endosperma livre de germe. O inverso nem sempre foi possível, daí a possibilidade de maiores variações nos resultados analíticos obtidos no germe que aqueles obtidos para o endosperma. No cálculo dos resultados sobre o grão inteiro os erros provenientes da separação desaparecem por completo.

O germe e o endosperma separados são secos em estufa a 80.°C durante 3 a 4 horas e em seguida esfriados em dessecador sobre CaCl₂ anidro durante a noite, período em que se estabelece a constância de peso. As frações são pesadas separadamente. Pela soma obtém-se a massa total de amostra seca empregada. Calcula-se, assim, as percentagens de germe e de endosperma em cada amostra.

O endosperma ainda seco é moído em moinho de facas "Wiley", tendo-se o cuidado de usar toda a amostra para assegurar que a mesma seja representativa. Há necessidade de adaptar ao moinho, peneira com abertura não superior a 0,5mm, (50mesh) pois as determinações são feitas com amostras relativamente pequenas. O endosperma moído é guardado em envelopes de papel sobre os quais se escreve o número da amostra seguida da letra "E" que significa endosperma. A letra "G" significa germe. Verificou-se que, exposto ao ar em envelope aberto, o endosperma rapidamente adquire umidade de 8 a 11% variando com umidade do ar. Para maior precisão procede-se sempre a uma determinação de umidade usando 0,500 a 1,000 gramas de amostra.

Determinação da umidade do endosperma

Pesa-se 0,500g ou 1,000g de amostra em um pequeno pesa-filtros e seca-se em estufa a 105.°C durante 3 a 4 horas. Esfria-se em dessecador de CaCl₂ anidro, usando sempre o mesmo dessecador. Pesa-se e calcula-se a percentagem de umidade no endosperma.

Determinação da proteína no endosperma

O método é semelhante ao usado pelo Instituto de Química Agrícola (1954). Apenas a determinação

é feita em semimicro usando-se balões de Kjeldahl de 35ml. Procede-se como descrito abaixo:

Pesar 0,2000 + 0,0005g de endosperma em uma pequena barquinha e transferi-lo para o balão de Kjeldahl seco tendo o cuidado para que não fique amostra presa na parte superior do balão. Adicionar aproximadamente 1,0g de mistura dos sulfatos anidros de sódio e cobre na proporção 10:1, procurando arrastar qualquer fragmento de amostra que tenha aderido à parede. Juntar 1,5ml de ácido sulfúrico concentrado e digerir em aquecedor elétrico até obtenção de uma solução límpida (geralmente 30-50 minutos). Esfriar e adicionar alguns ml de água destilada e uma porção (1g) de uma mistura 1:2 de parafina e pedra-pomes granulados. Completar o volume de aproximadamente 30ml e adicionar 3,0ml de hidróxido de sódio concentrado (18N). Conectar imediatamente com o condensador e destilar para ácido bórico a 4% contendo indicador misto para pH = 5,0. Continuar a destilação até que o balão comece a saltar devido à elevada concentração em sais solúveis e sólidos em suspensão. Titular o destilado com ácido sulfúrico de concentração conhecida (0,1N) contido em microbureta graduada a 0,01ml até a viragem do indicador.

Cálculos:

$$\text{Proteína bruta (\%)} = \text{N.V.} \cdot 6,25 \times 0,014 \times \times 500 = 43,75 \text{ N.V.}$$

Calcula-se a percentagem de proteína sobre a matéria seca multiplicando a percentagem na amostra úmida pelo fator:

$$\frac{100}{100 - \text{Umidade (\%)}}$$

Determinação de triptofano no endosperma

Material. Gral de 20 a 50 ml de boa qualidade tubos de centrifuga de 15ml graduados para 10ml, estantes para tubo de centrifuga, centrifugador para velocidade média, balança analítica (0,0001g), frascos lavadores de polietileno para ácido clorídrico concentrado, pipeta volumétrica de 1.0ml, funil de 10cm de diâmetro, colorímetro fotoelétrico Klett-Summerson com filtro vermelho, tubos colorimétricos calibrados, para-dimetilaminobenzaldeído p.a., ácido clorídrico concentrado p.a., sulfato de cobre, areia (SiO₂) lavada em HCl de 0,5mm.

Soluções. Solução 2,5% de para-dimetilaminobenzaldeído em ácido clorídrico concentrado. Tomamos como regra preparar a solução nova de 3 em 3 dias.

Solução 0,25% de CuSO₄ 5H₂O em água destilada.

Procedimento. Pesar, em duplicata, amostras de 0,500 ± 0,001g e transferir para o gral.

Adicionar quantidade igual (em volume) de areia lavada com HCl e 1,0ml da solução 2,5% de para-dimetilaminobenzaldeído e alguns milímetros de HCl concentrado. Moer finamente a amostra (durante 2 minutos) e transferi-la para tubo de centrifuga com auxílio do funil e quantidade mínima de HCl concentrado. Completar 10,0ml com ácido clorídrico. Agitar uma vez e deixar em repouso durante meia hora. Adicionar então, uma gota de solução 0,25% de sulfato de cobre e agitar novamente. Aquecer os tubos em água quente e manter à temperatura de 70.°C (o HCl concentrado ferve a esta temperatura) durante 5 minutos. Esfriar, deixar em repouso durante uma hora agitando de vez em quando durante meio minuto. Centrifugar durante 20 minutos e efetuar leituras em colorímetro fotoelétrico no líquido sobrenadante. O tempo decorrido desde o início da determinação até a leitura no colorímetro é de aproximadamente duas horas.

A percentagem de triptofano na amostra é obtida levando-se as leituras colorimétricas à curva de calibração. Para obter os resultados sobre a amostra isenta de umidade multiplica-se pelo fator usado na determinação da proteína bruta.

Tem-se observado também, que a amostra utilizada para a determinação da umidade pode ser aproveitada para a determinação do triptofano. O aquecimento de endosperma à 105.°C não altera os resultados.

Estabelecimento da curva padrão.

Como padrão de triptofano utilizou-se a solução 0,010M do aminoácido em álcool isopropílico a 10%

("Shandon" para cromatografia). A solução 0,010M é 0,204% no aminoácido. Por diluição, prepara-se solução 0,0204% da qual se tomam alíquotas que são transferidas para tubos de centrifuga graduado em 10,0ml. Adiciona-se 1,0ml de para-dimetilaminobenzaldeído e completa-se o volume com HCl concentrado. Junta-se uma gota da solução de sulfato de cobre e procede-se como descrito no procedimento. Apenas não há necessidade de centrifugar pois o líquido é limpido.

Para as concentrações finais de triptofano correspondentes às diferentes alíquotas tomadas, obtiveram-se as leituras no colorímetro fotoelétrico dadas no Quadro 1.

QUADRO 1. Leituras no colorímetro fotoelétrico

N.º do tubo	ml sol. 0,204%	conc. final % triptofano	leituras Klett
1.....	0,25	0,00051	100
2.....	0,50	0,00102	165
3.....	1,00	0,00204	280
4.....	1,50	0,00306	375
5.....	2,00	0,00408	460
6.....	3,00	0,00612	570

Verificou-se que a coloração é bastante estável, não se alterando dentro de uma hora ou mesmo mais. Observou-se também, que não havia necessidade de manter rigorosamente a concentração de ácido clorídrico. As leituras ainda são as mesmas quando a concentração de HCl baixa para 25% (o HCl concentrado é 37%). Entretanto, em se tratando de amostras de endosperma, convém manter elevada a concentração de HCl para evitar precipitações.

O gráfico é uma reta na parte inicial e uma curva regular para concentrações mais elevadas (Fig. 1).

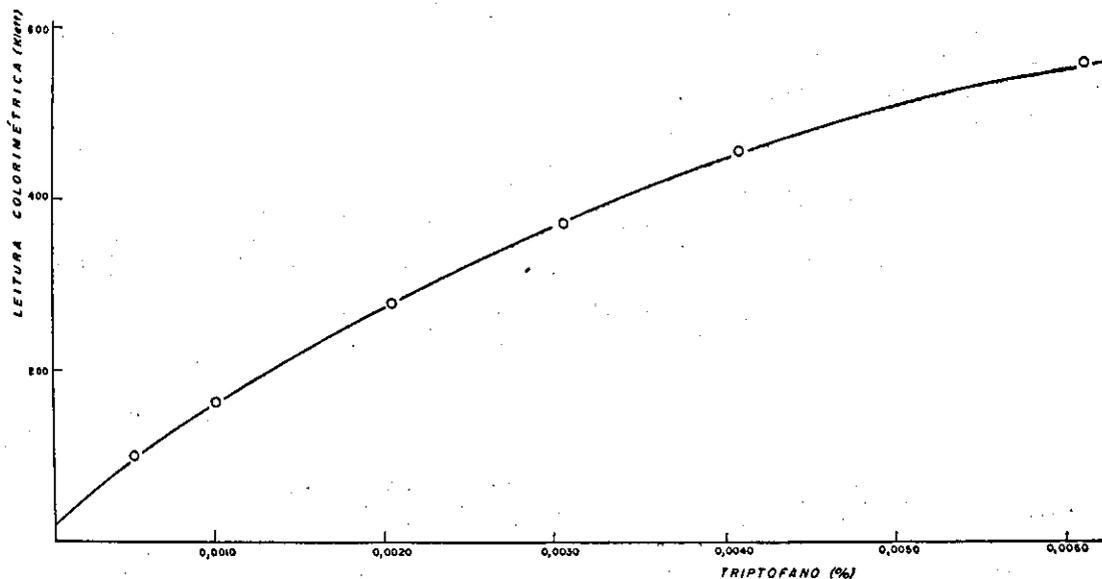


FIG. 1. Curva de calibração para a determinação do triptofano em milho.

Análise do germe

O germe depois de seco é moído de maneira idêntica ao endosperma. Como se trata de quantidade pequena deve-se ter os devidos cuidados. As amostras são guardadas em pequenos tubos e colocadas em dessecador sobre CaCl_2 anidro. Desta forma o teor de umidade se torna menor que 1%.

Para a determinação da proteína utiliza-se amostra de 0,100 + 0,001g. A mesma quantidade é recomendada para a determinação do triptofano porque o mesmo ocorre em proporção muito maior no germe que no endosperma. Considera-se nula a umidade do germe.

RESULTADOS

A percentagem de endosperma e germe do milho são apresentados no Quadro 2.

QUADRO 2. Percentagem de endosperma e germe em milho

N.º da amostra	Especificações	De-Dentado Du-duro	Endosperma %	Germe %
1	Híbrido simples — 1962.....	De	88,4	11,6
2	Híbrido simples — 1962.....	Du	87,4	12,6
3	Híbrido simples — Minas 2-1963..	Du	87,7	12,3
4	Agroceres 17 — 1963.....	De	87,9	12,1
5	Vita — 1963.....	De	87,3	12,7
6	Minas 8 — Granjas — 1963.....	De	86,8	13,2
7	Piramez — 1963.....	De	86,8	13,2
8	SLHD 2 — 1963.....	Du	86,8	13,2
9	Pérola — 1962.....	De	87,9	12,1
10	Agroceres 13 — 1963.....	De	87,3	12,7
11	Agroceres 23 — 1963.....	Du	87,4	12,6
12	Minas 10 — 1963.....	Du	86,2	13,8
13	H 6999-B — 1963.....	De	89,5	10,5
14	H 8121 IAC — 1963.....	De	89,3	11,7
15	Francisco Flint — 1963.....	Du	87,7	12,3
16	Cateto São Simão — 1963.....	Du	87,0	13,0
17	IPEACS (104.709). (133.404) 1963	De	86,1	13,9
18	América Central-Tiracaba — 1963...	De	86,8	13,2
19	Azteca — 1963.....	De	87,9	12,1
20	Composto em cascata — 1963.....	De	87,4	12,6
21	Composto Vera Cruz — 1963.....	De	89,4	10,6
22	Linagem 723-4 IAC — 1963.....	Du	86,9	13,1
23	Linagem 701-1-1 IAC — 1963.....	Du	89,3	10,7
24	Linagem 278-1-2 IAC — 1963.....	Du	86,5	13,5
25	Linagem 365-4-1 IAC — 1963.....	Du	87,5	12,5
26	Linagem 48-5-3 IAC — 1963.....	Du	88,4	11,6
27	Linagem 837-1 IAC — 1963.....	De	85,9	14,1
28	Linagem 483 IAC — 1963.....	Du	89,7	10,3
29	Linagem 398 IAC — 1963.....	Du	90,2	9,8
30	Linagem 103-3-2-5-4 IAC — 1963...	Du	87,5	12,5
31	Linagem PD(MS) 6-1-1-4-4-3 IAC 1963.....	Du	90,4	9,6
32	Milho dentado — coleção antiga.....	De	89,4	10,6
33	Country White Dent — coleção antiga.....	De	89,0	11,0
34	Golden Dent — coleção antiga.....	De	87,2	12,8
35	Milho Quarentino — coleção antiga.....	De	89,9	10,1
36	Zea mays indentada — coleção antiga.....	De	—	—
37	Teosinto — coleção antiga.....	Du	—	—
38	Milho pipoca — coleção antiga.....	Du	—	—
39	Milho de Bugre — coleção antiga.....	Du	—	—
40	Milho Putuy (Hungria) — coleção antiga.....	Du	—	—
41	Milho Indiano — coleção antiga.....	Du	—	—
42	Milho amarelinho — coleção antiga.....	Du	—	—
43	Milho r-xo — coleção antiga.....	De	—	—
44	Híbrido (104.709). (133.404) km 47	Du	86,8	13,2
45	Cateto — km 47.....	Du	87,1	12,9
46	S 47 — km 47.....	Du	85,6	14,4
47	Cuba duro — km 47.....	Du	85,9	14,1
48	Cuba Yellow Dent — km 47.....	Du	85,9	14,1
49	Dêce Cubano — km 47.....	De	77,3	22,7

O Quadro 3, mostra a percentagem de proteína bruta e o conteúdo de triptofano em milho.

QUADRO 3. Conteúdo de proteína bruta e triptofano em milho

N.º da amostra	Endosperma			Germe			Grão inteiro		
	Proteína %	Triptofano %	Trip. Prot. x100	Proteína %	Triptofano %	Trip. Prot. x100	Proteína %	Triptofano %	Trip. Prot. x100
1	8,33	0,087	1,04	18,4	0,368	2,00	9,54	0,119	1,25
2	8,05	0,078	0,97	18,4	0,355	1,93	9,36	0,113	1,20
3	9,86	0,033	0,84	18,7	0,352	1,88	10,9	0,116	1,06
4	8,07	0,080	0,99	18,6	0,358	1,92	9,35	0,113	1,21
5	9,12	0,080	0,88	19,3	0,346	1,79	10,4	0,114	1,10
6	9,11	0,036	0,94	17,2	0,323	1,88	10,2	0,115	1,13
7	10,2	0,079	0,77	17,8	0,330	1,87	11,2	0,115	1,03
8	10,1	0,039	0,63	14,1	0,367	2,61	10,7	0,111	1,04
9	8,68	0,033	0,73	15,3	0,376	2,64	9,49	0,101	1,07
10	8,03	0,037	1,08	15,2	0,303	1,99	8,95	0,115	1,29
11	7,40	0,076	1,03	16,3	0,352	2,15	8,52	0,111	1,30
12	8,40	0,068	0,79	16,2	0,343	2,12	9,47	0,105	1,11
13	8,45	0,103	1,22	16,3	0,322	1,98	9,27	0,127	1,37
14	9,80	0,045	0,87	15,9	0,289	1,82	10,5	0,109	1,04
15	10,1	0,038	0,97	17,5	0,343	1,96	11,0	0,128	1,17
16	9,78	0,080	0,82	19,1	0,415	2,17	11,0	0,124	1,13
17	8,66	0,080	0,92	17,6	0,349	1,98	9,70	0,112	1,26
18	9,08	0,079	0,87	17,3	0,337	1,95	10,1	0,117	1,18
19	9,02	0,089	0,99	17,2	0,340	1,87	10,0	0,119	1,19
20	9,73	0,079	0,81	17,1	0,328	1,91	10,7	0,111	1,04
21	10,1	0,079	0,78	17,9	0,361	2,02	10,9	0,109	1,00
22	12,2	0,111	0,91	20,2	0,405	2,00	13,1	0,150	1,15
23	10,5	0,082	0,78	17,8	0,310	1,74	11,4	0,107	0,94
24	12,0	0,094	0,78	18,9	0,353	1,87	13,0	0,129	0,99
25	11,7	0,100	0,85	15,7	0,340	2,16	12,3	0,130	1,06
26	11,6	0,091	0,78	17,5	0,359	2,05	12,3	0,123	1,00
27	12,0	0,037	0,72	18,4	0,364	1,97	12,9	0,127	0,99
28	9,58	0,037	0,91	18,7	0,392	2,10	10,5	0,123	1,17
29	13,0	0,100	0,77	22,4	0,435	1,94	13,9	0,133	0,96
30	9,98	0,037	0,97	16,0	0,349	2,18	10,8	0,129	1,20
31	10,0	0,103	1,03	19,4	0,457	2,35	10,9	0,137	1,25
32	10,0	—	—	20,3	—	—	11,1	—	—
33	8,34	—	—	15,9	—	—	9,18	—	—
34	7,01	—	—	14,4	—	—	7,97	—	—
35	9,77	—	—	21,1	—	—	10,9	—	—
36	—	—	—	—	—	—	9,90	—	—
37	—	—	—	—	—	—	11,1	—	—
38	—	—	—	—	—	—	12,9	—	—
39	—	—	—	—	—	—	11,7	—	—
40	—	—	—	—	—	—	11,3	—	—
41	—	—	—	—	—	—	9,04	—	—
42	—	—	—	—	—	—	9,73	—	—
43	—	—	—	—	—	—	8,48	—	—
44	8,06	0,103	1,28	17,0	0,368	2,16	9,27	0,135	1,45
45	10,4	0,121	1,16	17,1	0,358	2,10	11,30	0,151	1,33
46	9,79	0,096	0,99	17,0	0,340	2,00	10,9	0,131	1,20
47	11,5	0,111	0,97	16,8	0,345	2,05	12,3	0,144	1,17
48	9,63	0,098	1,01	18,8	0,312	1,66	11,0	0,128	1,16
49	11,0	0,138	1,26	15,1	0,302	2,00	12,0	0,174	1,45

Os resultados analíticos obtidos, submetidos à análise estatística, forneceram os resultados dados no Quadro 4.

QUADRO 4. Análise estatística

Determinações	G.L.	Q.M.	Classificações
Proteína no grão			
Amostras.....	48	3,5145***	1.º lugar amostra 29— 13,9%
Erro.....	49	0,0207	2.º lugar amostra 22— 13,1%
D.M.S. 0,30.....			amostra 24— 13,0%
C.V.% — 1,4.....			amostra 27— 12,9%
			amostra 28— 12,9%
Triptofano no grão			
Amostras.....	36	433***	1.º lugar amostra 49— 0,174%
Erro.....	37	15	2.º lugar amostra 45— 0,151%
D.M.S. 0,008.....			amostra 22— 0,150%
C.V.% — 3,2.....			amostra 47— 0,144%

QUADRO 4. Análise estatística (conclusão)

Relação triptofano/proteína × 100 no endosperma			
Amostra.....	36	3,89***	1.º lugar
Erro.....	37	7,90	amostra 44- 1,28
D.M.S. 0,06.....			amostra 49- 1,26
C.V.% 3,0.....			amostra 13- 1,22
			2.º lugar
			amostra 45- 1,16
Relação triptofano/proteína × 100 no germe			
Amostra.....	36	7,19***	1.º lugar
Erro.....	37	0,54	amostra 8- 2,61
D.M.S. 0,15.....			amostra 9- 2,46
C.V.% — 3,6.....			2.º lugar
			amostra 31- 2,35
Relação triptofano/proteína × 100 no grão			
Amostra.....	36	2,65***	1.º lugar
Erro.....	37	0,09	amostra 49- 1,45
D.M.S. 0,06.....			amostra 44- 1,45
C.V. — 2,7.....			

Entre os milhos duros e dentados (moles) fizeram-se as seguintes observações no grão inteiro:

Proteína

Milho dentado	(média de 21 amostras)	10,09%
Milho duro	(média de 28 amostras)	11,09%

Triptofano

Milho dentado	(média de 16 amostras)	0,119%
Milho duro	(média de 21 amostras)	0,127%

Relação triptofano/proteína × 100

Milho dentado	(média de 16 amostras)	1,17
Milho duro	(média de 21 amostras)	1,14

Estudos semelhantes foram feitos em relação ao endosperma e o germe separadamente. Os resultados muito se assemelham aos obtidos para o grão inteiro.

Não se encontraram correlações significativas entre coloração, forma e tamanho do grão e os teores de proteína bruta, triptofano e qualidade da proteína. Esta é a razão pela qual omitimos a citação daquelas características morfológicas das amostras.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os milhos aqui estudados formam um grupo bastante heterogêneo sob muitos pontos de vista. Devido a essa grande variação, as médias gerais dos resultados analíticos devem ser encaradas com espírito crítico para não tirar conclusões falsas.

Por outro lado, as 49 amostras analisadas constituem um conjunto bastante representativo dos milhos comerciais no Brasil ou variedades, linhagens e híbridos que lhes deram origem.

A percentagem média de proteína bruta no grão achada foi de 10,65% sobre a matéria seca o que corresponde a 9,60% no milho com a umidade que comumente apresenta no comércio. Isto é um teor

bastante elevado quando comparado com a média dos milhos norte-americanos que é de 8,5-9,0%

Os resultados aqui obtidos confirmam a observação feita por Woodworth & Jugenheimer: o milho duro é mais rico em proteína que o milho dentado. Nos grãos estudados a diferença é significativa perfazendo 10% sobre a proteína.

A relação triptofano/proteína é uma das melhores medidas da qualidade da proteína do milho. Basta comparar esta relação em diferentes alimentos para verificar que constitui fator limitante no milho.

Segundo Harvey (1956) a relação triptofano/proteína × 100 é a seguinte:

Leite integral	1,4
Ovos	1,9
Carne	1,9
Arroz	1,5
Trigo	1,3
Soja	1,6
Milho	1,1

Verificou-se que, quanto a esta relação não havia diferença significativa entre os milhos duros e os milhos dentados. A média geral obtida foi de 1,15.

A média da relação triptofano/proteína × 100 nos grãos com menos de 10,5% de proteína bruta foi de 1,20 enquanto foi de apenas de 1,10 para os grãos com mais de 10,5% de proteína. Como a variação desta relação é relativamente grande dentro de cada um dos dois grupos, esta diferença deve ser considerada pouco significativa.

Isto confirma de certo modo as observações feitas por Miller *et al.* (1952) sem contrariar os resultados de Frey (1951).

Harvey (1956) cita o valor 1,2 para a relação triptofano/proteína × 100 em milhos pobres em proteína e 1,0 para os milhos ricos em proteína.

Observou-se que, de um modo geral, as linhagens apresentaram elevado teor de proteína bruta com baixo teor de triptofano.

O milho doce cubano constitui verdadeira exceção não apenas pelo elevado teor de proteína bruta como pela boa qualidade da mesma quanto ao triptofano. Atribui-se isso ao germe que constitui 22% do grão.

Daí também concluirmos que a seleção no sentido de aumentar a percentagem de germe pode ser muito eficiente para incrementar quantidade e qualidade da proteína do milho.

Quanto às diferenças entre o endosperma e germe constatamos que:

1. O germe é duas vezes mais rico em proteína que o endosperma;

2. O germe é quase quatro vezes mais rico em triptofano que o endosperma;

3. A relação triptofano/proteína no germe é duas vezes maior que o endosperma.

Assim o germe contém mais triptofano que a maioria das proteínas de boa qualidade e serve para compensar parcialmente a deficiência do endosperma.

REFERÊNCIAS

- Avila, A. 1952. Estudio sobre contenido de caroteno y triptofano, em maices comerciais. Revista de Investigaciones Agrícolas, Buenos Aires, 6:416-423.
- Bressani, R. & Mertz, 1953. Studies on corn protein. Protein and amino acid content of different corn varieties. Cereal Chemistry 35:227-235.
- Brimhall, B. & Sprague, G. F. 1949. The effect of selection upon protein quality in the corn kernel. Agron. J. 41:399-403.
- Cramer, F. Papierchromatographie. 1953. 2. Auflage. Verlag Chemie Weinheim.
- F. A. O. 1959. Obtención de maíz híbrido y producción de semilla. Roma.
- Frey, K. J. 1951. The interrelations of proteins and amino acids in corn. Cereal Chemistry 28:123-132.
- Hansen, D. W. B. & Sprage, G. F. 1946. Relationship of zein to total protein content in corn. Cereal Chemistry 23:329-335.
- Harvey, D. 1959. Tables of the amino acids in foods and feed ingredients. Technical Communication n.º 19. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Bucks, England.
- Hixon, R. M. 1957. Protein quality. Growth and development of the corn plant. American Seed Trade Association.
- Instituto de Química Agrícola. 1954. Métodos de análise de alimentos usados na Seção de Química Alimentar. Rio de Janeiro. Boletim n.º 32.
- Klimenko, V. G. & Sayanova, V. V. 1959. The variability of N compounds in the grain and of maize hybrids and their parents. Filian Akad. Mank. SSSR 1:373-380.
- Linskens, H. F. 1955. Papierchromatographie in der Botanik. Springer Verlag, Berlin.
- Marais, J. S. C. & Sumts, D. B. 1940. The biological value of the protein of maize supplemented with lysine and tryptophan. Onderstepoort J. Vet. Sci. Animal Ind. 15:197-204.
- Massieu, G. H. *et alii*. 1949. Determination of some essential amino acids in several uncooked and cooked Mexican foodstuffs J. Nutrition 38:293.
- Meller, P. A. *et alii*. 1952. Relationship of lysine and niacin with the crude protein and certain protein components in corn grain. Agron. J. 44:343-345.
- Meller, R. C. *et alii*. 1950. Amino acids in high and low protein corn. Science 112:57-58.
- Sprague, G. F. 1947. Breeding for improved nutritional and industrial use. Growth and development of the corn plant. American Seed Trade Association.
- Sprague, G. F. 1955. Corn and improvement. Academic Press Inc. Publishers, New York.
- Stehsel, M. L. & Wildmen, S. G. 1950. Tryptophan, auxin, and niacin interrelations in corn kernel. Maize Genetics Cooperation News Letter 24, Cornell University, Ithaca, N.Y.
- The Merck Index of Chemicals and Drugs. 1960. 7th ed. Merck Co. Inc., New York.
- Vigorov, L. I. 1958. Rapid method for determination of protein in wheat and tryptophan in corn. Chem. Zentr. 129:1722.
- Woodworth, C. M. & Jugenheimer, R. W. Breeding and genetics of high protein corn. What's new in production, storage and utilization of hybrid seed corn. U.S.A.

STUDIES ON THE QUANTITATIVE AND QUALITATIVE CONTENT OF PROTEIN IN SAMPLES OF CORN (*Zea mays* L.)

Abstract

The paper studies the quantitative and qualitative content of protein in 49 samples of corn (*Zea mays* L.).

Independent chemical analysis were made on the protein of germ and endosperm.

The description of the method of the chemical analysis is presented, giving special emphasis to the method with good result, for the determination of tryptophan.

The following observations were made:

1. The average total protein content is fairly high in the studied samples (10,65%).
2. Flint corn samples showed significant higher total protein content than the dent corn samples (11,09% and 10,09%).
3. Between flint and dent corns the difference is not significant in the proportion of tryptophan over total protein.
4. The protein of the samples rich in protein, contains approximately 1,10% tryptophan; the protein of low protein samples contains, in the average, 1,20% tryptophan. The difference is poorly significant.
5. The protein of the germ has more tryptophan than the most high biological value animal or vegetal proteins.
6. Selection for a larger percentage of germ in the corn kernel is efficient to increase not only the quantity but also the quality of the protein in corn.