

# BRAGANTIA

Boletim Científico do Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo

Vol. 24

Campinas, março de 1965

N.º 12

## ESTUDO QUANTITATIVO E QUALITATIVO DA PROTEÍNA DO GRÃO DE MILHO (*ZEA MAYS* L.) (1)

DIETRICH GERHARD QUAST, *engenheiro-agrônomo, Seção de Tecnologia Agrícola, Instituto Agrônomo*

### RESUMO

O presente trabalho constitui estudo quantitativo e qualitativo da proteína do grão de milhos nacionais e estrangeiros.

Os trabalhos de análise foram conduzidos separadamente para o germe e para o endosperma.

Descrivem-se os métodos de análise química utilizados, com especial destaque ao método de determinação do triptofano.

Foram as seguintes as principais observações feitas: *a)* Foi bastante elevado o teor médio em proteína bruta das amostras examinadas quando comparado com o teor médio dos híbridos comerciais norte-americanos; *b)* os milhos duros apresentaram superioridade significativa aos milhos dentados em relação ao teor de proteína bruta (11,09 e 10,09%); *c)* não houve diferença significativa entre milhos duros e dentados quanto à relação triptofano/proteína; *d)* a proteína dos grãos ricos em proteína apresentou, em média, 1,10% de triptofano, enquanto aquela dos grãos pobres em proteína apresentou 1,20% de triptofano; *e)* a proteína do germe apresentou mais triptofano que a maioria das proteínas animais e vegetais de elevado valor biológico; *f)* a seleção no sentido de aumentar a percentagem de germe no grão parece recomendável para aumentar não somente a quantidade como, principalmente, a qualidade da proteína do milho.

### I — INTRODUÇÃO

O milho é essencialmente um alimento energético pelo seu elevado teor em hidratos de carbono. Entretanto, devido ao grande volume consumido na alimentação animal, a proteína nele contida contribui substancialmente para o crescimento dos animais domésticos. Com o uso cada vez mais difundido dos milhos híbridos de alto rendimento, tem-se verificado uma queda na percentagem de proteína, 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

(1) Recebido para publicação a 5 de novembro de 1964.

proteína no grão de milho, seja por seleção adequada, seja pela adubação nitrogenada.

O principal problema nutricional do milho, porém, se relaciona mais com a qualidade que com a quantidade da proteína. A zeína, principal proteína do endosperma do milho, praticamente não contém dois dos dez amino-ácidos essenciais: a lisina e o triptofano.

A zeína ocorre em proporção variável no milho. Segundo Frey e colaboradores (6), constitui aproximadamente 40% da proteína total do grão. Miller, Hurst e Brimhall (15) afirmam que as demais proteínas do endosperma são de boa qualidade. Também a proteína do germe é de ótima qualidade. Isto compensa parcialmente as deficiências devidas à zeína. Conforme Hixon (9), a percentagem de zeína no endosperma é variável e pode ser avaliada pela equação  $0,692X - 1,87$ , onde X representa a percentagem de proteína bruta no endosperma. Miller e colaboradores (15) confirmam o que se deduz da fórmula 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. Os mesmos autores admitem que o milho seja alimento mais indicado para ruminantes, nos quais a deficiência dos dois amino-ácidos se faria sentir menos.

Também Frey (5) constatou que a seleção no sentido de aumentar o teor de proteína bruta resultava em aumento da percentagem de zeína ou queda na percentagem de triptofano sobre a proteína total. Afirma que a proteína de milhos ricos em proteína parece ser de qualidade inferior àquela de milhos pobres em proteína.

Klimenko e Sayanova (11), estudando a quantidade e a qualidade da proteína em híbridos de milho e de 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 êsses autores existem apenas 4% de proteína de boa qualidade no grão de milho.

Miller, Hurst e Brimhall (15) discordam da maioria dos autores, dizendo que os teores de lisina e triptofano variam diretamente com o teor de proteína, dentro dos limites relativamente amplos de 8,48 e 14,12% de proteína bruta.

Hansen e colaboradores (7) verificaram que o endosperma do milho doce contém 1% de zeína a menos que o do milho dentado. Se-

gundo o mesmo autor, o endosperma quebradiço («brittle») é excepcionalmente pobre em zeína. Segundo Woodworth e Jugenheimer (22), 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 sejam preferidos pela maioria dos consumidores.

Avila (1), estudando milhos comerciais argentinos, verificou que não havia diferença significativa entre 9 tipos examinados, quanto à percentagem de triptofano. Pelos valores apresentados, verificou-se que havia leve superioridade dos milhos do tipo dentado sobre os milhos do tipo duro («flint»). Infelizmente, o autor não correlacionou os valores achados com os teores de proteína bruta, para investigar a qualidade da mesma. Neste particular, provavelmente haveria superioridade dos milhos dentados, já que possuem menor quantidade de proteína.

Marais e Sumts (13), constataram que o valor biológico do milho integral branco era  $76 \pm 1,91$  e  $67 \pm 0,98$  para o milho amarelo, para nível protéico de 8%. A proteína do milho branco foi significativamente superior àquela do milho amarelo. A complementação da proteína pela adição dos dois amino-ácidos lisina e triptofano tornou-a de elevado valor biológico.

Stehsel e Wildman (19) 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. Os autores provaram que a ação de tais enzimas é especialmente acentuada em milhos pobres em triptofano, onde até 40% deste é transformado em auxinas.

Na parte de genética, Frey e colaboradores (6) constataram que as percentagens de proteína, zeína e triptofano são determinadas, respectivamente, por 22, 6 e 15 gens. As baixas percentagens de proteína e zeína são fatores dominantes.

Segundo Sprague (18), o melhoramento do milho, no sentido de modificar-lhe a composição química tem sido conduzido de três maneiras distintas: a) aumento de alimento energético pela elevação da percentagem de óleo; b) seleção no sentido de aumentar o teor de niacina; c) incremento da quantidade e da qualidade da proteína do grão.

A qualidade da proteína pode ser aumentada pela seleção e 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 o problema mais sério, de vez que já se conhecem variedades com mais de 20% de proteína no grão.

Hixon (9) afirma que a qualidade (valor biológico) da proteína do germe é igual à das melhores proteínas 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: *a*) pelo aumento da quantidade de germe; *b*) pelo aumento do teor 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 se pode determinar a quantidade de germe 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, observa-se uma queda de produção. Assim, este método poderá ser empregado com vantagens até teores de 15 a 20% de germe.

Sprague (17) verificou que a seleção pelo aumento da quantidade do triptofano é mais eficiente que aquela baseada na redução da quantidade de zeína. Da mesma maneira, é eficiente a seleção pela quantidade de lisina.

Segundo Hansen e colaboradores (7), a determinação analítica da zeína, baseada na solubilidade desta em diversos solventes orgânicos, é extremamente empírica, fornecendo os mais diversos resultados. Os autores não recomendam tais métodos para avaliação da qualidade da proteína de milho.

Enfim, de tôdas as características, o teor de triptofano é o que está mais ligado aos teores de lisina e niacina e, assim, ao próprio valor nutritivo do milho. Entretanto, como observam Frey e colaboradores (6), a dificuldade de desenvolver métodos analíticos adequados para a sua avaliação tem prejudicado seriamente os trabalhos de melhoramento neste sentido.

## 2 — MATERIAL E MÉTODO

Devido aos recentes progressos da cromatografia em papel, principalmente no estudo das proteínas e dos amino-ácidos, estudamos a

possibilidade de aplicar esta técnica à determinação quantitativa da lisina e do triptofano no milho. A técnica utilizada foi essencialmente aquela empregada por Linskens (12) e Cramer (3). Vários cromatogramas com padrões dos amino-ácidos foram feitos. Cedo se verificou que seria impossível determinar quantidades tão pequenas desses amino-ácidos em presença de grandes quantidades dos demais amino-ácidos que ocorrem no milho.

Realmente, os resultados práticos obtidos pela análise cromatográfica do hidrolisado ácido, para a determinação da lisina, e do hidrolisado alcalino, para a determinação do triptofano, não foram satisfatórios. Principalmente a determinação do triptofano por esse método é inexecutável, devido à sua difícil caracterização, seja pela ninidrina ou reagentes específicos, seja pela própria luz ultravioleta.

Procuramos, pois, outros métodos para a determinação dos dois amino-ácidos. Muito usados foram, ainda recentemente, os métodos microbiológicos, baseados no desenvolvimento de várias espécies de microrganismos. Miller, Aurand e Flack (16) 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 e 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 (21) baseia-se na reação entre o para-dimetilaminobenzaldeído e o triptofano em meio clorídrico. Forma-se um composto de coloração azul.

Como não fôsse possível conseguir a publicação original do método, baseamo-nos no resumo do «Chemical Abstracts» para a elaboração do nosso método. Êste, depois de testado, forneceu resultados concordantes e satisfatórios.

Para estudar mais a fundo a qualidade da proteína do grão de milho, decidimos 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.

Para o cálculo da percentagem de proteína bruta, empregamos o fator 6,25, como recomendam Massieu e colaboradores (14) e o próprio Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América.

Para a execução das determinações aqui descritas, levadas a efeito em duplicata, são necessários 20 grãos de milho. Esta quantidade poderá ser um pouco menor, em se tratando de grãos bastante grandes. Considera-se essa quantidade não apenas necessária para as determinações como também indispensável para uma amostragem adequada.

Todos os resultados finais são expressos sôbre a amostra isenta de umidade.

### 2.1 — TRATAMENTO DA AMOSTRA

A amostra recebida no laboratório é atribuído um número de registro. No livro de registro anotam-se tôdas as especificações da amostra, bem como a data de recebimento. Além das especificações, fazem-se anotações sôbre as características morfológicas dos grãos, incluindo as seguintes observações: tamanho, coloração do grão e do endosperma, forma, tipo de grão (dentado ou duro) e conservação.

Dentro de, no máximo, duas semanas, efetua-se amostragem de 20 a 40 grãos e guarda-se porção igual para possíveis repetições. Os grãos escolhidos para análise são colocados em becher de 50 ml, ao qual se adiciona água destilada para cobrir completamente o milho, que é deixado na água durante, no mínimo, 12 horas, e, no máximo, 24 horas.

Depois disso, os grãos são colocados sôbre 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. 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. Admite-se, entretanto, que o êrro cometido sôbre o endosperma não seja superior a 2%. Ademais, teve-se especial cuidado para 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 naqueles obtidos para o endosperma. No cálculo dos resultados sôbre o grão inteiro os erros provenientes da separação desapareceram 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 sôbre CaCl<sub>2</sub> anidro, durante a noite, período em que se estabelece a constância de pêso. As frações são pesadas separadamente. Pela soma, obtém-se a massa total de amostra sêca empregada. Calculam-se as percentagens de germe e endosperma na amostra.

O endosperma ainda sêco é moído em moinho de facas «Wiley», tendo-se o cuidado de usar tôda a amostra para assegurar que a mesma seja representativa. Há necessidade de adaptar ao moinho peneira de abertura não superior a 0,5 mm, pois as determinações são feitas com amostras relativamente pequenas. O endosperma moído é guardado em envelopes de papel devidamente marcados. Verificou-se que, exposto ao ar em envelope aberto, o endosperma rãpidamente adquire umidade de 8 a 11%, dependendo da umidade relativa do ar. Deve-se efetuar sempre uma determinação de umidade da amostra para qualquer análise feita.

## 2.2 — DETERMINAÇÃO DA UMIDADE DO ENDOSPERMA

Pesa-se 0,5 ou 1,0 g 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 CaCl<sub>2</sub> anidro. Pesa-se e calcula-se a percentagem de umidade na amostra.

## 2.3 — DETERMINAÇÃO DA PROTEÍNA BRUTA NO ENDOSPERMA

O método é semelhante ao usado pelo Instituto de Química Agrícola (10). Apenas a determinação é feita em semimicro com balões de Kjeldahl de 35 ml. Procedese como descrito abaixo:

Pesar  $0,2000 \pm 0,0005$  g de endosperma em uma pequena barquinha e transferi-lo para balão de Kjeldahl sêco, tendo o cuidado de não deixar a amostra prêsa na parte superior do balão. Adicionar aproximadamente 1,0 g de mistura dos sulfatos anidros de sódio e cobre na proporção de 10:1, procurando arrastar qualquer fragmento de amostra que tenha ficado prêso na parede superior do balão. Juntar 1,5 ml de ácido sulfúrico concentrado e digerir em aquecedor elétrico até obtenção de uma solução límpida (geralmente 30 a 50 minutos). Esfriar e

adicionar alguns mililitros de água destilada e uma porção (1 g) de uma mistura 1:2 de parafina e pedra-pomes granulada. Completar o volume de, aproximadamente, 25 ml e adicionar 3,0 ml de solução 18 N de hidróxido de sódio. Conectar imediatamente com o condensador e destilar para ácido bórico a 4% que contenha 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 (0,1 N) contido em microbureta graduada a 0,01 ml até a viragem do indicador.

Cálculos:

$$\begin{aligned} \text{Proteína bruta (\%)} &= N \times V \times 6,25 \times 0,014 \times 500 \\ &= 43,75 \times N \times V \end{aligned}$$

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

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

#### 2.4 — DETERMINAÇÃO DO TRIPTOFANO NO ENDOSPERMA

**Material** — Gral de 20 a 50 ml de boa qualidade; tubos de centrifuga de 15 ml graduados para 10 ml; estantes para tubos de centrifuga; centrifuga de velocidade média; balança analítica (0,0001 g); frascos lavadores de polietileno para ácido clorídrico concentrado; pipeta volumétrica de 1,0 ml; funil de 10 cm 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 lavada (SiO<sub>2</sub>) de 0,5 mm de diâmetro.

**Soluções** — a) solução 2,5% de para-dimetilaminobenzaldeído em ácido clorídrico concentrado; preparar nova solução de 3 em 3 dias; b) solução 0,25% de CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O em água destilada.

**Procedimento** — Pesar, em duplicata, amostras de 0,500 ± 0,001 g e transferir para o gral. Adicionar quantidade igual (em volume) de areia lavada com ácido clorídrico e 1,0 ml da solução 2,5 % de para-dimetilaminobenzaldeído e alguns mililitros de ácido clorídrico 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 10,0 ml com o mesmo ácido. 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 ácido clorídrico 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 mesmo fator usado na determinação da proteína bruta.

Observou-se que a amostra utilizada para a determinação da umidade pode ser aproveitada para a determinação do triptofano. O aquecimento do endosperma a 105°C não altera os resultados.

**Estabelecimento da curva padrão** — Como padrão de triptofano, utiliza-se a solução 0,010M do amino-ácido em álcool isopropílico a 10% («Shandon» para cromatografia) ou outro padrão de qualidade conhecida. A solução 0,010M é 0,204% no amino-ácido. Por diluição, prepara-se solução 0,0204%, da qual se tomam alíquotas que são transferidas para tubos de centrifuga graduados a 10,0 ml. Adiciona-se 1,0 ml de para-dimetilaminobenzaldeído e completa-se o volume com ácido clorídrico concentrado. Junta-se uma gota de sulfato de cobre e procede-se como descrito acima. Apenas não há necessidade de centrifugação, pois o líquido é límpido.

Para as concentrações finais de triptofano correspondentes às diferentes alíquotas tomadas, obtiveram-se as leituras no colorímetro fotoelétrico Klett-Summerson, conforme o quadro 1.

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

O gráfico obtido é uma reta na parte inicial e uma curva regular para concentrações mais elevadas.

QUADRO 1. — Leituras obtidas no colorímetro fotoelétrico Klett-Summerson, para as concentrações finais de triptofano

Número do tubo	Aliquota da solução	Concentração final de triptofano	Leituras no colorímetro
	0,0204%		
	<i>ml</i>	<i>%</i>	
1 .....	0,25	0,00051	100 165 280 375 460 570
2 .....	0,50	0,00102	
3 .....	1,00	0,00204	
4 .....	1,50	0,00306	
5 .....	2,00	0,00408	
6 .....	3,00	0,00612	

## 2.5 — ANÁLISE DO GERME

O germe, depois de seco, é moído de maneira idêntica ao endosperma. Como se trata de quantidade pequena, devem ser tomados os devidos cuidados nesta operação. As amostras são guardadas em pequenos tubos de vidro abertos, colocados em dessecador de cloreto de cálcio anidro. Desta forma, o teor de umidade se torna menor que 2% após algumas semanas.

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

## 3 — DISCUSSÃO DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES

Como se vê no quadro 2, os milhos estudados formam um grupo bastante heterogêneo de muitos pontos de vista. Devido a isto, as médias gerais dos resultados analíticos devem ser encaradas com restrições, para evitar generalizações falsas.

A percentagem média de proteína bruta encontrada nas amostras foi de 10,6% sôbre a matéria seca, o que corresponde a 9,60% sôbre o grão de milho com o teor de umidade normal. É um teor bastante elevado, quando comparado com a média dos milhos comerciais norte-americanos, a qual é de 8,5 a 9,0%.

QUADRO 2. — Composição dos grãos de milho em relação às frações endosperma e germe

Amostras	Tipo do grão	Endosperma	Germe
		%	%
1 — Híbrido simples — 1962	Dentado	88,4	11,6
2 — Híbrido simples — 1962	Duro	87,4	12,6
3 — Híbrido duplo — Minas 2-1963	Duro	87,7	12,3
4 — Agrocerec 17 — 1963	Dentado	87,9	12,1
5 — Vita — 1963	Dentado	87,3	12,7
6 — Minas 8 — Granjas 1963	Dentado	86,8	13,2
7 — Piramex — 1962	Dentado	86,8	13,2
8 — S. L. H. D. 2 — 1963	Duro	85,8	14,2
9 — Pérola — 1962	Dentado	87,9	12,1
10 — Agrocerec 13 — 1963	Dentado	87,3	12,7
11 — Agrocerec 23 — 1963	Duro	87,4	12,6
12 — Minas — 10 — 1963	Duro	86,2	13,8
13 — H 6999 — B — 1963	Dentado	89,5	10,5
14 — H 8121 IAC — 1963	Dentado	88,3	11,7
15 — Francisco Flint — 1963	Duro	87,7	12,3
16 — Catêto São Simão — 1963	Duro	87,0	13,0
17 — IPEACS (104.709) (133.404) 1963	Dentado	88,1	11,9
18 — América Central — Piracicaba — 1963	Dentado	86,8	13,2
19 — Asteca — 1963	Dentado	87,9	12,1
20 — Composto em cadeia — 1963	Dentado	87,4	12,6
21 — Composto Vera Cruz — 1963	Dentado	89,4	10,6
22 — Linhagem 723-4 IAC — 1963	Duro	86,9	13,1
23 — Linhagem 701-1-1 IAC — 1963	Duro	89,3	10,7
24 — Linhagem 278-1-2 IAC — 1963	Duro	86,5	13,5
25 — Linhagem 365-4-1 IAC — 1963	Duro	87,5	12,5
26 — Linhagem 48-5-3 IAC — 1963	Duro	88,4	11,6
27 — Linhagem 837-1 IAC — 1963	Dentado	85,9	14,1
28 — Linhagem 483 IAC — 1963	Duro	89,7	10,3
29 — Linhagem 398 IAC — 1963	Duro	90,2	9,8
30 — Linhagem 103-3-2-5-4 IAC — 1963	Duro	87,5	12,5
31 — Linhagem PD (MS) 6-1-1-4-4-3 IAC 1963	Duro	90,4	9,6
32 — Milho Dentado — coleção antiga	Dentado	89,4	10,6
33 — County White Dent » »	Dentado	89,0	11,0
34 — Golden Dent » »	Dentado	87,2	12,8
35 — Milho Quarentino... » »	Dentado	89,9	10,1
36 — <i>Zea mays indentata</i> ...	Dentado	---	---
37 — Teosinto » »	Duro	---	---
38 — Milho-pipoca » »	Duro	---	---
39 — Milho-bugre » »	Duro	---	---
40 — Milho-Putuy (Hungria) » »	Duro	---	---
41 — Milho-indiano » »	Duro	---	---
42 — Milho-amarelinho » »	Duro	---	---
43 — Milho-roxo » »	Dentado	---	---
44 — Híbrido (104.709) (133.404) Km 47	Duro	86,8	13,2
45 — Catêto — Km 47	Duro	87,1	12,9
46 — S 47 — Km 47	Duro	85,6	14,4
47 — Cuba-duro — Km 47	Duro	85,9	14,1
48 — Cuba Yellow Dent — Km 47	Duro	85,9	14,1
49 — Doce-cubano — Km 47	Dentado	77,3	22,7

QUADRO 3. — Teores de proteína e triptofano e relação triptofano/proteína x 100 no endosperma, germe e grão inteiro de milho

Amostras	Endosperma				Germes			Grão inteiro		
	Proteína	Triptofano	Tript./Prot. x 100	Proteína	Triptofano	Tript./Prot. x 100	Proteína	Triptofano	Tript./Prot. x 100	
	%	%		%	%		%	%		
1	8,38	0,087	1,04	18,4	0,368	2,00	9,34	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	0,083	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	0,086	0,94	17,2	0,323	1,88	10,2	0,115	1,13	
7	10,2	0,079	0,77	17,6	0,330	1,87	11,2	0,115	1,03	
8	10,1	0,069	0,68	14,1	0,367	2,61	10,7	0,111	1,04	
9	8,68	0,063	0,73	15,3	0,376	2,46	9,49	0,101	1,07	
10	8,03	0,087	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	2,16	8,32	0,111	1,30	
12	8,40	0,066	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	0,085	0,87	15,9	0,289	1,82	10,5	0,109	1,04	
15	10,1	0,098	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	1,16	
19	9,02	0,089	0,99	17,2	0,340	1,97	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	

QUADRO 3. -- (continuação)

Amostras	Endosperma			Germes			Grão inteiro		
	Proteína	Tripto- fano	Tript. / Prot. x 100	Proteína	Tripto- fano	Tript. / Prot. x 100	Proteína	Tripto- fano	Tript. / Prot. x 100
	%	%		%	%		%	%	
26	11,0	0,091	0,78	17,5	0,359	2,05	12,3	0,123	1,00
27	12,0	0,087	0,72	18,4	0,364	1,97	12,9	0,127	0,99
28	9,58	0,087	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	0,097	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	11,3	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	9,68	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

QUADRO 4. — Análise estatística dos resultados analíticos dos grãos de milho estudados

Determinações	G. L.	Q. M.	Classificação
<b>PROTEÍNA NO GRÃO</b>			
Amostras .....	48	3,5145**	
Erro .....	49	0,0207	amostra 29 — 1,º Lugar — 13,9%
D.M.S. — 0,30 .....	---	---	---
C.V. % — 1,4 .....	---	---	---
<b>TRIPTOFANO NO GRÃO</b>			
Amostras .....	36	433**	
Erro .....	37	15	amostra 49 — 1,º Lugar — 0,174%
D.M.S. — 0,008 .....	---	---	---
C.V. % — 3,2 .....	---	---	---
<b>RELAÇÃO TRIPTOFANO/PROTEÍNA x 100 NO ENDOSPERMA</b>			
Amostras .....	36	389**	
Erro .....	37	7,90	amostra 44 — 1,º Lugar — 1,28
D.M.S. — 0,06 .....	---	---	amostra 49 — 1,26
C.V. % — 3,0 .....	---	---	amostra 13 — 1,22
<b>RELAÇÃO TRIPTOFANO/PROTEÍNA x 100 NO GERME</b>			
Amostras .....	36	7,19**	
Erro .....	37	0,54	amostra 8 — 1,º Lugar — 2,61
D.M.S. — 0,15 .....	---	---	amostra 9 — 2,46
C.V. % — 3,6 .....	---	---	---
<b>RELAÇÃO TRIPTOFANO/PROTEÍNA x 100 NO GRÃO</b>			
Amostras .....	36	2,65**	
Erro .....	37	0,09	amostra 49 — 1,º Lugar — 1,45
D.M.S. — 0,06 .....	---	---	amostra 44 — 1,45
C.V. % — 2,7 .....	---	---	---

No quadro 3, mostram-se os resultados gerais obtidos e, no quadro 4, a análise estatística dos mesmos. Entre os milhos duros e dentados (moles) fizeram-se as seguintes observações no grão inteiro:

<b>PROTEÍNA</b>	
Milho dentado (média de 21 amostras) .....	10,09%
Milho duro (média de 20 amostras) .....	11,09%
<b>TRIPTOFANO</b>	
Milho dentado (média de 16 amostras) .....	0,119%
Milho duro (média de 21 amostras) .....	0,127%
<b>RELAÇÃO TRIPTOFANO/PROTEÍNA x 100</b>	
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 ao germe separadamente. Os resultados muito se assemelham aos obtidos para o grão inteiro.

Confirmou-se aqui a observação de Woodworth e Jugenheimer (22), de que o milho duro é mais rico em proteína que o milho dentado. Nos grãos estudados, a diferença foi significativa, perfazendo 10% sobre o teor de proteína.

A relação triptofano/proteína  $\times 100$  é uma das melhores medidas de qualidade da proteína do grão de milho. Verificou-se que, quanto a esta relação, não havia diferença significativa entre os milhos duros e dentados. A média geral obtida foi de 1,15.

A média da relação triptofano/proteína  $\times 100$ , nos grãos com menos de 10,5% de proteína bruta, foi de 1,20, e de apenas 1,10, nos grãos com mais de 10,5% de proteína. Como a variação desta relação é grande dentro de um mesmo grupo, esta diferença não foi significativa.

Isto confirma, de certo modo, as observações feitas por Miller e colaboradores (15), sem contrariar os resultados de Frey (5). Harvey (8) cita o valor 1,2 para a relação triptofano/proteína  $\times 100$  para milhos pobres em proteína e 1,0 para milhos ricos em proteínas.

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

O milho doce cubano constituiu verdadeira exceção. Apresentou elevado teor de proteína bruta e boa qualidade da mesma quanto ao triptofano. Atribui-se isso ao germe que constitui 22% do grão.

Parece que a seleção no sentido de aumentar a percentagem de germe pode ser muito promissora para incrementar a quantidade e melhorar a qualidade da proteína do milho.

Quanto às diferenças entre o endosperma e o germe, constatou-se: a) o germe mostrou-se duas vezes mais rico em proteína que o endosperma; b) o germe foi quase quatro vezes mais rico em triptofano que o endosperma; c) a relação triptofano/proteína  $\times 100$  foi duas vezes maior no germe que no endosperma; assim, o germe do milho, que contém mais triptofano que a maioria das proteínas de boa qualidade, serve para compensar parcialmente a deficiência do endosperma deste cereal.

Não se encontraram correlações significativas entre coloração, forma e tamanho do grão e os teores de proteína bruta e a qualidade desta.

Por isto, foi omitida a citação daquelas características morfológicas das amostras.

## A QUANTITATIVE AND QUALITATIVE STUDY ON CORN (*ZEA MAYS* L.) KERNEL PROTEIN

### SUMMARY

The paper studies the quantitative and qualitative content of protein in 49 samples of corn.

Independent chemical analyses 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 used, with good results, for the determination of tryptophan.

The following observations were made: *a*) the average total protein content is fairly high in the studied samples as compared to American corn hybrids; *b*) flint corn samples showed higher total protein content than the dent corn samples; *c*) between flint and dent corns the difference is not significant in the proportion of tryptophan over total protein; *d*) the protein of samples rich in protein contains approximately 1.10% tryptophan; the protein of low protein samples contains, in average, 1.20% tryptophan; *e*) the protein of the germ has more tryptophan than the most animal or vegetable proteins of high biological value; *f*) selection for a larger percentage of germ in the corn kernel is efficient to increase not only the quantity but also the quality of protein in corn.

### LITERATURA CITADA

1. AVILA, A. Estudio sobre contenido de caroteno y triptofano en maices comerciales. Revista de Investigaciones Agrícolas, Buenos Aires 6:416-423. 1952.
2. BRESSANI, R. & MERTZ, E. T. Studies on corn protein. Protein and amino acid content of different corn varieties. Cereal Chemistry 35:227-235. 1958.
3. CRAMER, F. Papierchromatographie. Weinheim, Verlag Chemie 1953. 2. Auflage.
4. F.A.O. Obtención de maíz híbrido y producción de semilla. Roma, 1959.
5. FREY, K. J. The interrelations of proteins and amino acids in corn. Cereal Chemistry 28:123-132. 1951.
6. ——— BRIMHALL, B. & SPRAGUE, G. F. The effect of selection upon protein quality in the corn kernel. Agron. J. 41:399-403. 1949.
7. HANSEN, D. W., BRIMHALL, B. & SPRAGUE, G. F. Relationship of zein to total protein content in corn. Cereal Chemistry 23: 329-335. 1946.
8. HARWEY, D. Tables of amino acids in foods and feedingstuffs. Commonwealth Agricultural Bureau Farnham Royal, Slough, Bucks. Technical Communication n.º 19. 1956.



9. HIRON, R. M. Protein quality. Growth and development of the corn plant. American Seed Trade Association, 1947.
10. Instituto de Química Agrícola. Métodos de análise de alimentos usados na Seção de Química Alimentar. Rio de Janeiro, 1954. (Boletim n.º 32)
11. KLIMENKO, V. G. & SAYANOVA, V. V. The variability of N compounds in the grain and protein of maize hybrids and their parents. Filial Akad. Nank. SSSR 1:373-380. 1959.
12. LINSKENS, H. F. Papierchromatographie in der Botanik. Berlin, Springer-Verlag, 1955.
13. MARAIS, J. S. C. & SUMTS, D. B. The biological value of the protein of maize supplemented with lysine and tryptophan. Onderstepoort J. Vct. Sci. Animal Ind. 15:197-204. 1940.
14. MASSIEU, G. H., GUZMAN, J., GRAVIOTTO, R. O. & CALVO, J. Determination of some essential amino acids in several uncooked and cooked Mexican foodstuffs. Jour. Nutrition 38:293. 1949.
15. MILLER, P. A., HURST, T. L. & BRIMHALL, B. Relationship of lysine and niacin with the crude protein and certain components in corn grain. Agron. J. 44:343-345. 1952.
16. MILLER, R. C., AURAND, L. W. & FLACK, W. R. Amino acids in high and low protein corn. Science 112:57-58. 1950.
17. SPRAGUE, G. F. Breeding for improved nutritional and industrial use. Growth and development of the corn plant. American Seed Trade Association, 1947.
18. ————— Corn and corn improvement. New York, Academic Press Inc. Publishers, 1955.
19. STEHSEL, M. L. & WILDMAN, S. G. Tryptophan, auxin, and niacin interrelations in corn kernel. Maize Genetics Coöperation News Letter 24. Ithaca, N. Y., Cornell University, 1950.
20. The Merck index of chemicals and drugs. New York, Merck Co., Inc., 1960. 7th Edition.
21. VIGOROV, L. I. Rapid method for determination of protein in wheat and tryptophan in corn. Chem. Zentr. 129:1722. 1958 (Resumo).
22. 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. (s.d.)