FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS – FZEA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

HENRIQUE BUENO DA SILVA

Uso de enzimas exógenas para bovinos Nelore em confinamento

Pirassununga
2017

HENRIQUE BUENO DA SILVA

Uso de enzimas exógenas para bovinos Nelore em confinamento

“versão corrigida”

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Saulo da Luz e Silva

Pirassununga
2017

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B586u

Bueno da Silva, Henrique
Uso de enzimas exógenas para bovinos Nelore em confinamento / Henrique Bueno da Silva ; orientador Saulo da Luz e Silva. -- Pirassununga, 2017.
119 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. BOVINOS DE CORTE. 2. NUTRIÇÃO ANIMAL.. 3. RÚMEN. I. da Luz e Silva, Saulo, orient. II. Título.

Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - o autor

Silva, H. B. **Uso de enzimas exógenas para bovinos Nelore em confinamento**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr._____ Instituição:_____

Julgamento:_____ Assinatura: _____

Prof. Dr._____ Instituição:_____

Julgamento:_____ Assinatura: _____

Prof. Dr._____ Instituição:_____

Julgamento:_____ Assinatura: _____

Aos meus pais, Marina Célia e Sergio por acreditarem nos meus sonhos, e todo o incentivo, amor e compreensão, por fazerem parte de todas minhas conquistas.

A minha irmã Mariana, que foi e é uma inspiração na minha vida, e a minha namorada Madeline, que sempre esteve do meu lado nas minhas aventuras e jornada.

Dedico

Agradecimentos

Aos meus pais, pelas oportunidades que me proporcionaram sempre com muito esforço e dedicação, por me apoiarem e incentivarem nos momentos que mais precisei. É difícil mensurar o tão grato sou a ele. A minha irmã por fazer parte da minha vida.

A todos os professores e funcionários da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos que me auxiliaram nessa jornada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio com uma bolsa de mestrado, a qual tornou possível a realização dessa etapa.

Ao Prof. Dr. Saulo da Luz e Silva, pela a orientação, ensinamentos, incentivos, correções, por ter viabilizado esse momento.

Aos meus companheiros de pesquisa Daniel Antonelo, Juan Fernando Morales, Anderson Cabral, Fabiane Costa, Katiéli Welter, Tiago Ronimar, Danielle Matarim, Guilherme Sene, Juliana Balage, Juliana Silva, Keni Nubiato, Robeta Carvalho pela a amizade, incentivo, colaboração e momentos de descontração.

A minha namorada, Madeline Rezende Mazon, que nunca mediu esforços para me auxiliar, abrindo mão das próprias vontades para estar do meu lado, por acalmar meus dias mais turbulentos, por dividir a vida comigo.

Ao meu irmão por opção Sandro Antônio Grossi Junior, que sempre participou da minha caminhada, me escutando e fazendo rir do passado, pelas conversas de assuntos aleatórios que saiam da minha rotina e tornavam os momentos mais divertidos.

A todos os estagiários que participaram da rotina dura da experimentação a campo, e dedicaram um tempo de seus dias pra aprender e ensinar junto ao grupo LAAQC.

Aos funcionários da USP, Ricardinho, João, Dionne, Elso, Mario, Beloni, Seu Dito, Seu Dorival, Rose, Rosilda. Aos funcionários da pós-graduação, pelo suporte, ajuda e paciência.

A todas as pessoas que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste sonho, meus sinceros agradecimentos.

A todos aqui mencionados, MUITO OBRIGADO.

Silva, H. B. **Uso de enzimas exógenas para bovinos Nelore em confinamento.** Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo

RESUMO

A utilização de aditivos em dietas com altas proporções de concentrado para bovinos em confinamento tem sido uma prática bastante usual, visando o aumento da eficiência do sistema produtivo. Porém, em virtude de algumas restrições ao uso de substâncias antibióticas, devido a possibilidade do surgimento de microrganismos resistentes, o uso de produtos alternativos tem sido alvo de diversas pesquisas. Nesse contexto, este trabalho foi desenvolvido para avaliar os efeitos da inclusão de enzimas exógenas, em dietas de elevada proporção de concentrado para bovinos Nelores confinados. Foram realizados 3 experimentos, no primeiros foram utilizados 96 bovinos nelore alimentados com 3 níveis de inclusão de enzimas fibrolíticas exógenas (EFE) e duas granulometrias de milho (fino e grosso). Não foi observada interação entre os dois fatores testados, a granulometria do milho não influenciou o desempenho, características de carcaça, qualidade de carne, fermentação ruminal e morfologia ruminal. A inclusão de EFE não alterou o desempenho, qualidade de carne, morfologia e fermentação ruminal. Porém foi observado efeito quadrático, para GRPI em % e kg e efeito para a espessura de gordura subcutânea entre a 12ª e 13ª costela (EGS) em relação aos níveis de EFE. Para a realização dos 2º e 3º experimentos foram adotados os mesmos tratamentos, sendo composta de 90% de concentrado e 10% de volumoso (bagaço de cana), contendo 2 níveis de enzimas amilolíticas exógenas (EAE; com e sem), e dois níveis de amido (alto e baixo). No segundo experimento foram utilizados 48 bovinos nelores confinados distribuídos em um delineamento totalmente casualizados em esquema fatorial 2 x 2 (nível de amido X nível de enzima). Foi observado interação entre os fatores para espessura de gordura subcutânea na garupa (EGG), sendo que os animais alimentados com dietas alto amido e com enzima apresentaram resultados superiores quando comparados com os demais. Ao observar o efeito da utilização das enzimas, os animais alimentados com dietas sem enzima

apresentaram maior espessura de gordura subcutânea 1,83 vs 1,50 mm e maior área de olho de lombo 61,85 vs 60,07 cm² em relação aos animais alimentados com dietas com enzimas. Já o efeito da suplementação com diferentes teores de amido, os animais alimentados com dietas de alto amido apresentaram maior ingestão de matéria seca (IMS), menor eficiência alimentar (EA) e rendimento de carcaça (RC). O terceiro experimento foi realizado utilizando 8 bovinos Nelore canulados no rúmen distribuídos em dois quadrados latinos contemporâneos em esquema fatorial 2 x 2 (nível de amido X nível de enzima). Foi observado efeito de interação entre os tratamentos (EAE e nível de amido) para IMS e nitrogênio amoniacal (N-NH3). Os animais alimentados com enzima apresentaram menores concentrações de propionato e maior relação acetato/propionato (A/P) em comparação com aos animais alimentados sem enzima. As dietas com alto amido diminuíram a relação A/P em relação ao que animais alimentado com baixo amido. A adição de enzimas exógenas não causou grande impacto no desempenho, qualidade de carne, porém afetaram a deposição de gordura de acabamento nas carcaças, juntamente com os padrões fermentativos ruminais.

Palavras-chaves: Ácidos graxos de cadeia curta; Complexos enzimáticos; Eficiência alimentar; Ganho de peso; Morfologia papilar.

Silva, H. B. Exogenous enzymes in diets for feedlot Nellore cattle. Faculty of Animal Science and Food Engineering of the University of São Paulo

ABSTRACT

The use of additives in diets with high proportions of concentrate for cattle in confinement has been a very usual practice, aiming at increasing the efficiency of the productive system. However, due to some restrictions on the use of antibiotic substances, due to the possibility of resistant microorganisms, the use of alternative products has been the subject of several studies. In this context, this study was developed to evaluate the effects of the inclusion of exogenous enzymes in high concentrate diets for feedlot Nellore cattle. Three experiments were carried out. In the first one, 96 Nelore cattle were fed with 3 levels of inclusion of exogenous fibrolytic enzymes (EFE) and two corn granulometry (fine and crush). There was no interaction between the two factors tested, corn grain size did not influence performance, carcass characteristics, meat quality, ruminal fermentation and ruminal morphology. The inclusion of EFE did not alter the performance, meat quality, ruminal morphology and fermentation. However, a quadratic effect was observed for pelvic kidney and inguinal fat (PIKF) in% and kg and effect on the thickness of the subcutaneous fat between the 12th and 13th rib (EGS) in relation to EFE levels. For the 2nd and 3rd experiments, the same treatments were used, being composed of 90% of concentrate and 10% of sugarcane bagasse, containing 2 levels of exogenous amylolytic enzymes (EAE, with and without), and two levels of starch (high and low). In the second experiment were used 48 confined Nellore cattle distributed in a completely randomized design in a 2 x 2 factorial scheme (starch level X enzyme level). Interaction between the factors for subcutaneous fat thickness in the croup (EGG) was observed, and the animals fed with high starch and enzyme diets presented superior results when compared with the others. When observing the effect of the use of the enzymes, the animals fed with diets without enzyme had a greater thickness of subcutaneous fat 1.83 vs 1.50 mm and greater area of loin eye 61.85 vs 60.07 cm² in relation to fed animals With enzyme diets. On the other hand, the effect of supplementation with different starch contents, the animals fed with high starch diets presented higher dry

matter intake (IMS), lower feed efficiency (AE) and carcass yield (CR). The third experiment was carried out using 8 rumen cannulated Nellore cattle distributed in two contemporary Latin squares in a 2 x 2 factorial scheme (starch level X enzyme level). It was observed interaction effect between the treatments (EAE and starch level) for IMS and ammoniacal nitrogen (N-NH3). The animals fed with enzyme had lower concentrations of propionate and higher acetate / propionate ratio (A / P) compared to animals fed without enzyme. High starch diets decreased the A / P ratio in relation to animals fed low starch. The addition of exogenous enzymes did not have a great impact on the performance, meat quality, however they affected the deposition of finishing fat in the carcasses, along with ruminal fermentative standards.
Keywords: Enzymatic complexes; Feed efficiency; Papillary morphology; Short chain fatty acids; Weight gain.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Percentagem do constituinte total indicado nas estruturas físicas específicas do grão de milho. 22
Tabela 2: Composição percentual da dieta utilizada (na matéria seca). 50
Tabela 3: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de desempenho em confinamento, de acordo o nível de inclusão de enzima fibrolíticas exógenas e a moagem do milho. 56
Tabela 4: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades da área de olho de lombo avaliada por ultrassonografia em função do tempo e de acordo com a inclusão de enzima e granulometria do milho. 62
Tabela 5: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades da espessura de gordura subcutânea avaliada por ultrassonografia em função do tempo e de acordo com a inclusão de enzima e granulometria do milho. 63
Tabela 6: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades da espessura de gordura subcutânea na garupa avaliada por ultrassonografia em função do tempo e de acordo com a inclusão de enzima e granulometria do milho. 64
Tabela 7: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de carcaça, de acordo o nível de inclusão de enzima fibrolíticas exógenas (EFE) e a granulometria do milho. 66
Tabela 8: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de qualidade de carne, de acordo o nível de inclusão de enzima fibrolíticas exógenas (EFE) e a granulometria do milho. 69
Tabela 9: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de fermentação ruminal de bovinos em confinamento, de acordo o nível de inclusão de enzima fibrolíticas exógenas (EFE) e a granulometria do milho 71
Tabela 10: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de morfologia ruminal, de acordo o nível de inclusão de enzima fibrolíticas exógenas (EFE) e a granulometria do milho 75
Tabela 11: Composição percentual da dieta utilizada (na matéria seca). 91

Tabela 12: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de desempenho em confinamento, de acordo com a inclusão de enzima e o nível de amido 97
Tabela 13: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características avaliadas por ultrassonografia em função do tempo de confinamento, nível de enzima e de amido. 101
Tabela 14: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades da espessura de gordura subcutânea na garupa avaliada por ultrassonografia em função do tempo de confinamento, nível de enzima e de amido 102
Tabela 15: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de carcaça, de acordo com a inclusão de enzima e o nível de amido 104
Tabela 16: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de qualidade de carne, de acordo com a inclusão de enzima e o nível de amido 106
Tabela 17: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características ruminais avaliadas, de acordo com a inclusão de enzima, nível de amido e tempos após a alimentação 109

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Anatomia do grão de milho e suas partes. 21
Figura 2: Tipos de milho e as relativas proporções 23
Figura 3: Estrutura molecular da amilose 24
Figura 4: Estrutura molecular da estrutura amilopectina 24
Figura 5: Classificação das enzimas amilolíticas 32
Figura 6: médias da ingestão de matéria seca em função da combinação dos fatores testados 108
Figura 7: médias do pH em função do tempo e combinação de fatores estudados. 110
Figura 8: médias da concentração de nitrogênio amoniacal em função da combinas dos fatores testados 111
Figura 9: Concentração de nitrogênio amoniacal em função dos tempos de coletas e combinação dos fatores testados. 112
Figura 10: Concentração de acetato em função do tempo e combinação de fatores estudados. 112
Figura 11: Concentração de propionato em função dos tempos de coletas e combinação dos fatores testados 113

SUMÁRIO

I- USO DE ENZIMAS EXÓGENAS PARA BOVINOS NELORE EM CONFINAMENTO..... 18

1. INTRODUÇÃO..... 19

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 20

2.1. Milho..... 20

2.1.1. Amido..... 23

2.1.2. Tamanho da partícula do grão de milho..... 25

2.2. Metabolismo ruminal 27

2.3. Aditivos..... 30

2.4. Enzimas exógenas 30

2.4.1. Enzimas amilolíticas..... 32

2.4.2. Enzimas fibrolíticas 34

2.4.3. Mecanismos de ação das enzimas exógenas..... 35

3. OBJETIVO GERAL..... 37

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 38

II- PROCESSAMENTO DO MILHO E NÍVEIS DE ENZIMAS FIBROLÍTICAS EXÓGENAS NA DIETA DE BOVINOS NELORE CONFINADOS 45

RESUMO..... 46

ABSTRACT 47

4. INTRODUÇÃO..... 48

5. MATERIAL E MÉTODOS 49

5.1. Local, animais e tratamentos..... 49

5.2. Desempenho 51

5.3. Característica avaliadas por ultrassonografia..... 51

5.4. Abate e características de carcaça..... 52

5.5. Coletas das amostras de liquido e tecido ruminal 52

5.6. Morfologia das papilas ruminais 52
5.7. Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e nitrogênio amoniacal 53
5.8. Qualidade de carne 54
5.9. Análise Estatística 54
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO 55
6.1. Desempenho 55
6.2. Características avaliadas por ultrassonografia 59
6.3. Características de carcaça 65
6.4. Qualidade de Carne 68
6.5. Fermentação ruminal 70
6.6. Morfologia Ruminal 74
7. CONCLUSÕES 77
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 78
III- NÍVEIS DE AMIDO E ENZIMAS AMILOLÍTICAS EXÓGENAS EM DIETAS DE BOVINOS NELORE 84
RESUMO 85
ABSTRACT 87
1. INTRODUÇÃO 89
8. MATERIAL E MÉTODOS 90
EXPERIMENTO 1 – Desempenho em confinamento e qualidade da carne 90
8.1. Local, animais e tratamentos 90
8.2. Desempenho 91
8.3. Característica avaliadas por ultrassonografia 92
8.4. Qualidade de carne 92
EXPERIMENTO 2 – Metabolismo ruminal 93
8.5. Animais, instalações e delineamento experimental 93
8.6. Coleta das amostras e características ruminais 94

8.7. pH, ácidos graxos de cadeia curta e nitrogênio amoniacal 94

8.8. Analise estatística..... 95

9. RESULTADOS E DISCUSSÃO 95

EXPERIMENTO 1 - Desempenho em confinamento e qualidade da carne 95

9.1. Desempenho 95

9.2. Características avaliadas por ultrassonografia 99

9.3. Características de carcaça 103

9.4. Qualidade de carne 106

EXPERIMENTO 2 - Metabolismo ruminal 108

10. CONCLUSÃO..... 115

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS 116

Capitulo 1:

USO DE ENZIMAS EXÓGENAS PARA BOVINOS NELORE EM CONFINAMENTO.

1. INTRODUÇÃO

De acordo com dados da FAO (2011), até 2050 haverá um aumento no consumo de proteína animal de aproximadamente 66%, devido ao crescimento populacional e o aumento da receita.

Frente a esse cenário, o Brasil possui vantagens em virtude do grande espaço territorial e diversidade de climas, reunindo assim condições necessárias para elevar a produção, suprindo parte dessa demanda.

O mercado consumidor de carne bovina está se tornando mais exigente, buscando produtos padronizados. Além disso, a procura por cortes cárneos que apresentem algumas características como macies e presença de gordura entremeada, faz com que o pecuarista tenha que lançar mão de algumas estratégias para se adequar ao mercado.

Diante disso a redução da idade de abate é desejada, já que pode melhorar as características sensoriais do produto, além de encurtar o ciclo produtivo, sendo uma estratégia adotada o confinamento na fase de terminação com dietas de alta inclusão de grãos, além de promover benefícios sensoriais da carne pela a redução da idade de abate e melhora na conformação das carcaças, ainda melhora a eficiência no uso da terra.

A fim de favorecer a viabilidade econômica dos confinamentos são empregadas substancias melhoradoras de desempenho, alguns exemplos são os ionóforos, enzimas exógenas, óleos essenciais, promotores de crescimento além de outros moduladores ruminais.

A utilização de ionóforos na cadeia produtiva de carne bovina está sofrendo diversas barreiras, principalmente pela a União Europeia, que por via do regulamento nº 1831/2003 determinou a proibição de antibióticos e coccidiostáticos como aditivos alimentares de bovinos. A justificativa principal é que tais produtos podem selecionar microrganismos resistentes a antibióticos, dificultando assim o tratamento em alguns casos de infecções. Frente a isso, diversos aditivos alimentares estão sendo desenvolvidos e estudados para a substituição dos ionóforos e a manutenção dos índices produtivos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nas ultimas décadas ocorreu um aumento significativo no consumo de produtos de origem animal, entre os quais a carne. De acordo com dados do *Word Health Organization* (2015), atualmente o consumo anual médio *per capta* de carnes em geral é de 41,3 kg, onde a carne bovina representa cerca de 25,6% do total. Ainda de acordo com a mesma fonte, até 2030 o consumo anual médio *per capita* mundial de carnes em geral deve aumentar cerca de 4 kg.

A utilização de confinamentos para a terminação de bovinos é uma estratégia utilizada para encurtar o ciclo produtivo, melhorar a utilização dos espaços físicos, distribuir a renda ao longo do ano, além de produzir carcaças mais pesadas, padronizadas e com melhor qualidade.

As dietas fornecidas para animais confinados em geral possuem alta inclusão de concentrado, geralmente fabricados com grande concentração de grãos, visando assim aumentar a densidade energética da alimentação e diminuição da estadia do animal na terminação. Consequentemente, quanto melhor for aproveitada a alimentação, menor será o consumo do alimento, aumentando da lucratividade do sistema.

Os principais ingredientes energéticos utilizados na alimentação em confinamentos são os grãos de cereais, como o milho e sorgo, que possuem em sua composição valores entre 60-80% de amido, tornando-o assim a principal matriz energética.

2.1. Milho

O milho é um dos principais grãos de cereais utilizados nas dietas com alto teor de concentrado para ruminantes. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, com uma produção de 209,5 milhões de toneladas na safra de 2014/2015, com um aumento de 8,2% quando comparado a safra anterior (Conab, 2015).

O principal destino da produção, cerca de 70% da produção mundial, é a indústria de alimentação animal, sendo que em países desenvolvidos os valores podem chegar a 85% (PAES, 2006; MAPA, 2012).

A formação do grão de milho é dada por 4 estruturas físicas principais: revestimento da porção externa (pericarpo), embrião (gérmen), endosperma e ponta (PAES, 2006), que possuem composição química diferentes (Tabela 1).

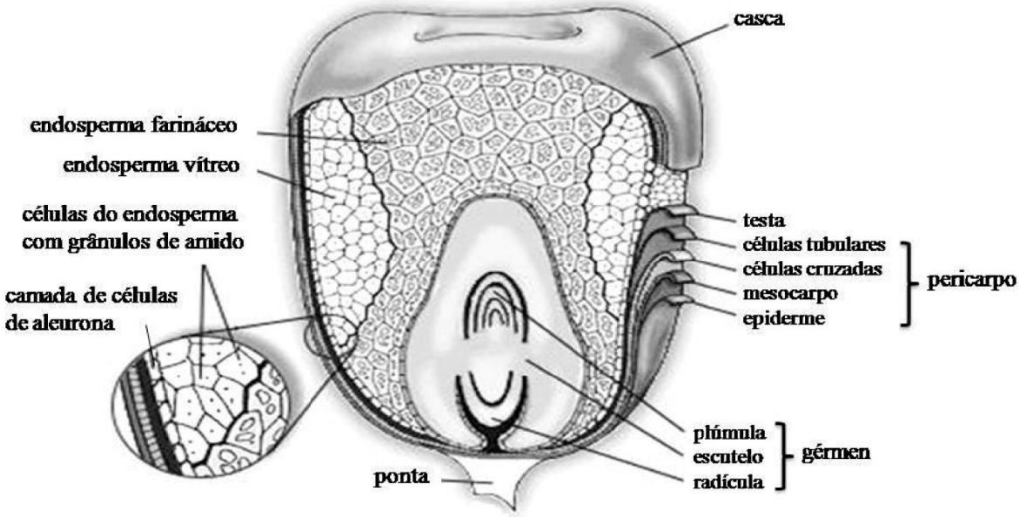

Figura 1: Anatomia do grão de milho e suas partes.

Fonte: Adaptado de Britannica (2006)

A primeira estrutura que cobre o grão é o pericarpo, trata-se de uma estrutura multicamada responsável pela proteção das camadas internas, representadas pelo gérmen e o endosperma. Ao longo do tempo, durante o espessamento secundário do pericarpo ocorre a deposição de altas concentrações de lignina, juntamente com ésteres fazem a proteção contra invasões microbianas e absorção de água (McALLISTER, 2006).

O endosperma representa o maior tecido do grão (Tabela 1), estão presentes as proteínas de reserva (8%) que formam os corpos proteicos que compõem a matriz, além disso, no endosperma encontra-se a maior concentração de amido.

Tabela 1: Percentagem do constituinte total indicado nas estruturas físicas específicas do grão de milho.

Fração	% do grão	Amido	Lipídeos	Proteínas	Minerais	Açúcares	Fibras ou conteúdo celular
		% da parte (base seca)					
Endosperma	82	98	15,4	74	17,9	28,9	
Gérmen	11	1,3	82,6	26	78,4	69,3	12
Pericarpo	5	0,6	1,3	2,6	2,9	1,2	54
ponta	2	0,1	0,8	0,9	1,0	0,8	7,0

Fonte: Adaptado de Watson e Ramstad (1987)

Existem duas possíveis classificações para o endosperma, que levam em conta a organização dos grânulos de amido e a matriz proteica. Quando os grânulos de amidos são arredondados e estão dispersos, não sendo envolvidos por matriz proteica, são denominados como farináceo. A classificação vítrea, dada quando ocorre maior concentração de matriz proteica, revestindo os grânulos de amido. A matriz proteica reduz a degradação do amido, visto que é impermeável a água e enzimas hidrolíticas (KOTARSKI; WANISKA; THURN, 1992**;** PAES, 2006)**.**

A grande maioria do milho comercializado e produzido nacionalmente é do tipo duro (*Zea mays* ssp. Indentura: **Erro! Fonte de referência não encontrada.**), enquanto, em países de clima temperado , a predominância é do tipo dentado (*Zea mays* ssp. Indentada: Figura 2B). A principal diferença é que o grão dentado apresenta endosperma vítreo nas laterais e no centro dos grãos que se estende até a coroa, além de possuir parte do endosperma farináceo, já o grão duro possui pouco endosperma farináceo, sendo a grande maioria de endosperma vítreo (NUSSIO; CAMPOS; DIAS, 2001; PAES, 2006).

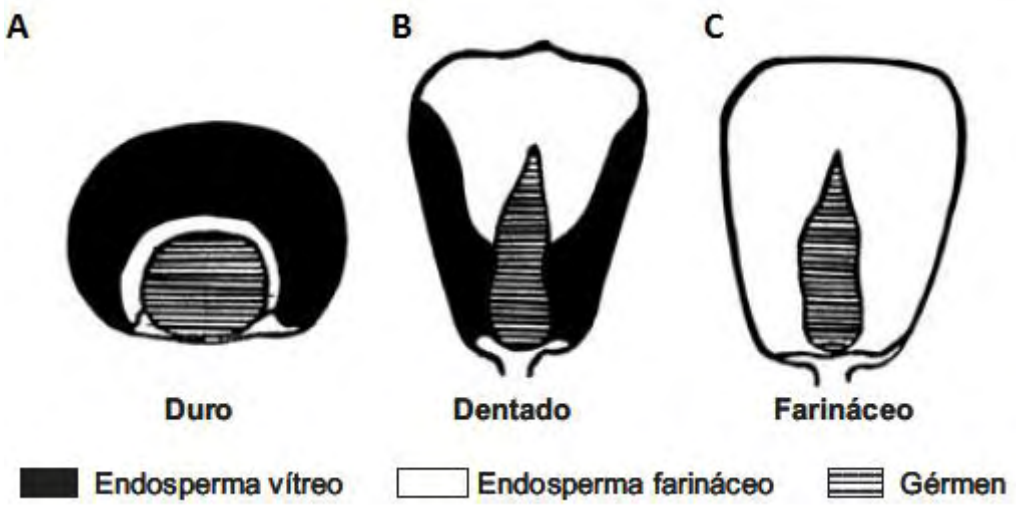

Figura 2: Tipos de milho e as relativas proporções

Fonte: adaptado de Paes (2006)

A utilização de grãos de milho processados na alimentação de ruminantes vem sendo estudada com frequência (NOCEK; TAMMINGA, 1991a; HUNTINGTON, 1997; OWENS et al., 1998). Com o objetivo de aumentar a disponibilidade do amido e consequentemente a energia para o animal.

2.1.1. Amido

O amido é um polissacarídeo heterogêneo composto por dois principais tipos de moléculas ou polímeros, a amilose e a amilopectina (VAN SOEST, 1982; KOTARSKI; WANISKA; THURN, 1992) que juntos representam aproximadamente 98-99% do seu peso seco (TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

A utilização eficiente deste nutriente é fundamental para se maximizar a produção animal (THEURER, 1986; POORE et al., 1993). Também é considerado o carboidrato de reserva com maior importância para as plantas superiores, sendo encontrado nos cloroplastos das folhas e nos amiloplastos dos órgãos de armazenamento como sementes e tubérculos. O amido também representa cerca de 70 a 80% da matéria seca (MS) da maioria dos grãos cereais (ROONEY; PFLUGFELDER, 1986).

A amilose (Figura 3: Estrutura molecular da amilose) é um polímero linear de unidades de D-glucose unidos por ligações do tipo α-1,4. As

proporções de amilose nos grânulos de amido podem variar entre 14% a 34% (VAN SOEST, 1982; KOTARSKI; WANISKA; THURN, 1992).

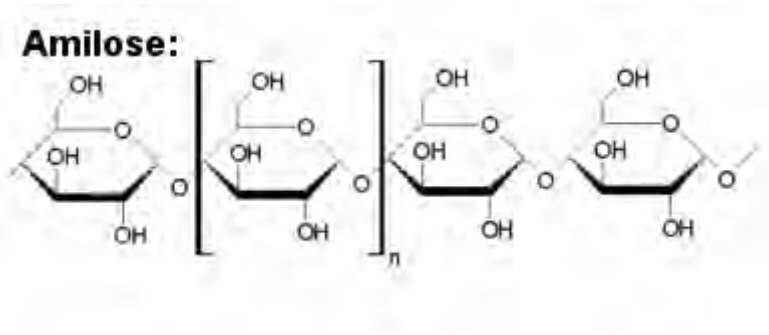

Figura 3: Estrutura molecular da amilose

Fonte: adaptado de Denardin e Silva (2009)

Já a amilopectina (Figura 4) é um polímero ramificado, consistindo de uma cadeia linear de resíduos de glucose (α -1,4), com pontos de ramificações α-1,6 a cada 20 a 25 unidades, portanto, bem maior que a amilose, correspondendo a cerca de 70 a 80% da maioria do amido contido nos grãos de milho e sorgo (KOTARSKI; WANISKA; THURN, 1992).

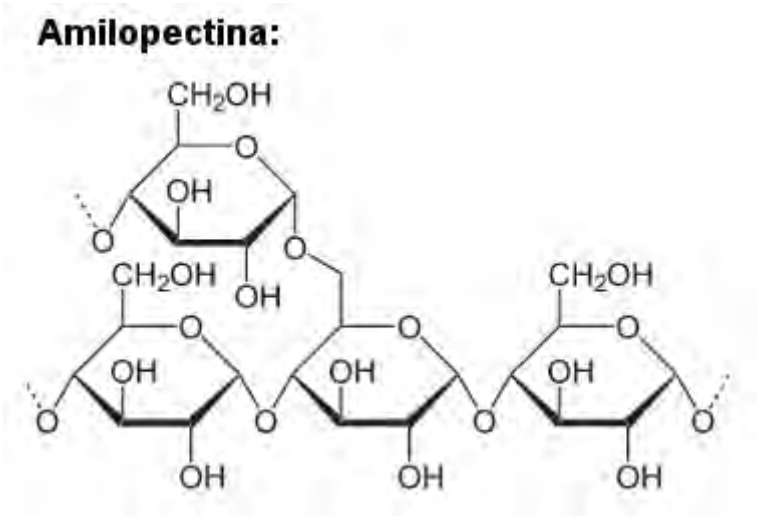

Figura 4: Estrutura molecular da estrutura amilopectina

Fonte: adaptado de Denardin e Silva (2009)

A formação do complexo amilose-amilopectina é dada por pontes de hidrogênio (NOCEK; TAMMINGA, 1991b), existindo em forma de grânulos

altamente organizados. Tais grânulos de amido são pseudocristais que possuem regiões organizadas (cristalinas) e regiões não organizadas (amorfas). As regiões cristalinas ou também denominadas de micelares tem composição majoritária de amilose, possuem resistência à permeabilidade da água e ao ataque enzimático.

2.1.2. Tamanho da partícula do grão de milho

A moagem é considerada o processamento menos custoso e prático, visa reduzir o tamanho das partículas através do impacto expondo assim o conteúdo do grão a microbiota ruminal, tal processo pode influenciar a digestibilidade do amido e das proteínas. Juntamente com o uso dos moinhos podem ser usadas peneiras, as quais iram selecionar o tamanho máximo das partículas resultando assim em um produto de granulometria mais uniforme. Os fatores que influenciam o processo são: o tamanho da peneira, o tamanho do moinho, a capacidade e velocidade de moagem, o tipo e o conteúdo do grão (GALYEAN; WAGNER; OWENS, 1979).

Galyean et al. (1979) avaliaram o efeito do tamanho da partícula do milho (3,18 mm; 4,76 mm; 7,94 mm e milho inteiro), sobre a extensão da digestão do amido e qual sitio de ação, em novilhos alimentados com dietas contendo 72% do grão de milho em suas diferentes granulometrias. Dentre as diferentes granulometrias do milho moído, não foi relatado diferenças quanto a digestão ruminal (62,2%), porém os tratamentos que continham milho moído apresentaram maior digestão ruminal (62,3; 63,6; 60,8 e 44,9%) comparados com o grão inteiro (44,9%). A digestão ruminal do amido também foi inferior no milho inteiro (70,8%) em relação aos tratamentos moídos (91,7%), a digestão do amido no trato total também foi inferior no milho inteiro (88,2%) comparado com o moído (93,9%). O grau de moagem pode afetar a digestão total do milho, assim como a extensão da digestão.

LEE et al. (1997) estudaram a digestibilidade *in vitro* da MS do milho, e reportaram valores de 90,31; 76,48 e 61,68% em relação aos processamentos de moagem fina (1 mm), quebra (4 mm) e floculação, respectivamente, sendo que no estudo *in situ* foi observado resultado muito semelhante ao comparado ao *in vitro.*

Segundo Teixeira et al. (1996) a taxa de degradação e degradabilidade efetiva da matéria seca, em ensaios de degradabilidade *in situ,* em uma taxa de passagem de 5%, foram superiores nos grãos de milho moídos quando comparados com os quebrados. Passini et al. (2003) relatam degradabilidade efetiva da MS de 40,2% maior em milho finamente moído (fubá) em relação ao milho quebrado, demonstrando o aumento da eficiência da utilização do alimento após a aplicação de um processamento simples e barato.

Turgeon et al.(1983) avaliaram milho inteiro, quebrado (2,07 mm), moído fino (0,734 mm), mistura 50:50 (milho inteiro e milho quebrado) e mistura de 50:50 (milho inteiro e milho moído fino), cada um associado a 3 níveis de feno de alfafa (5, 10 e 15% da MS da dieta). Não foi observado efeito de interação dos fatores sobre peso final (PF), ganho de peso diário (GPD), ingestão de matéria seca (IMS) e conversão alimentar. Foi observado aumento linear na IMS em função dos níveis de feno de alfafa, porém o PF e o GPD não foram influenciados pelo nível de inclusão de forragem. Por outro lado, os animais que receberam o milho mistura 50:50 (milho inteiro e milho quebrado) apresentaram maior PF, GPD e conversão alimentar comparados com os animais que recebiam milho inteiro, além de maior conversão alimentar comparados com o tratamento de milho quebrado. Não foi observado diferenças em PF, GPD, IMS e conversão alimentar entre os animais que recebiam a mistura 50:50 (milho inteiro e o milho moído fino).

Os animais alimentados com dietas contendo mistura 50:50 (milho inteiro e milho moído fino) apresentaram maior PF, GPD e IMS que os animais alimentados com grão inteiro, porém não apresentaram diferença na IMS/GPD. As características de carcaça não variaram em função dos tratamentos, o presente estudo não comparou os tratamentos de milho moído fino e milho quebrado entre si para as variáveis analisadas, o que poderia estudar o grau de moagem sobre o desempenho dos animais.

Secrist et al., (1995) avaliaram 3 tamanhos de partículas: grosseiramente moído (2,59 mm), moído (1,54 mm) e moído fino (0,75 mm) sobre o desempenho e as características da carcaça de bovinos terminados em confinamento, a dieta continha 86% MS de milho. As diferentes granulometrias do milho não afetaram a IMS, porém foi observado um efeito quadrático no GPD e conversão alimentar em função da granulometria, os

animais alimentados com moagem de 1,54 mm apresentaram melhor resultado. Também foi observado melhora no grau de marmoreio para o grupo alimentado com o milho moído a 1,54 mm, porém não foi observado variação da digestibilidade da MS da dieta, a variação ocorreu apenas na digestibilidade do amido, que foi maior no tratamento que apresentava menor tamanho de partícula.

Secrist et al. (1996) avaliaram 3 tamanhos de partículas dos grãos laminados a seco: 1,55 mm; 3,10mm e grão inteiro sobre os parâmetros ruminais do bovinos confinados, alimentados com dietas contendo 92% de concentrado. Foi observado efeito linear no pH ruminal após 12 horas da alimentação, do butirato e efeito inverso na concentração de propionato e AGCC totais em função da granulometria do milho, Os diferentes graus de moagens não afetaram a digestibilidade no trato total do amido, matéria original da dieta e pH fecal.

2.2. Metabolismo ruminal

Grande parte da população microbiana ruminal é constituída de bactérias, protozoários e fungos. O sinergismo dessa população ocorre em dietas fibrosas, que são fermentadas de forma anaeróbia, agindo na parede celular das plantas, permitindo a degradação de alimentos de baixa qualidade em proteínas de alta qualidade (VARGA; KOLVER; SUPPL, 1997).

Para que ocorra a fermentação ruminal adequada, algumas condições são necessárias, tais como: temperatura (38 a 41°C), umidade (85 a 90%), osmolaridade (260 a 340 mOsm) e pH entre 5,5 e 7,2 (MARINO; OTERO; BASTOS, 2009), sendo o último influenciado principalmente pelo o teor do material fibroso da dieta, que influência diretamente a composição e o crescimento bacteriano ruminal.

Em dietas com teores de fibras reduzidas ou inadequadas, resultam em diminuição exacerbada do pH, sendo observado em alguns casos a ocorrência de acidoses ruminais clinicas e sub-clinicas (KLEEN et al., 2003). Nessas condições, a fermentação ruminal é prejudicada (MARTIN, 1998), resultando em alterações nas produções de proteína bacteriana e AGCC, e queda no consumo alimentar.

Em condições ideais, a maioria dos carboidratos e nutrientes contidos nos alimentos é convertida em AGCC, proteinas microbianas e outros gases (BAKER, 1999).

Os AGCC são os principais resultados da fermentação do amido, sendo os mais abundantes o acetato, butirato e propionato, e são a principal fonte de energia dos ruminantes, podendo suprir até 80% do requerimento energético diário (VAN SOEST, 1982; BERGMAN, 1990).

Além de suprir à demanda energética a fermentação de carboidratos também tem grande importância na nutrição proteica dos ruminantes, sendo o principal meio formador de proteína microbiana (SANTOS et al., 1998).

As principais espécies de microrganismos amilolíticos são *Bacteroides amylophilus, Streptococus bovis, Succinomonas amylolitica, Bacteroides ruminicola* e algumas estirpes de *Bacteroides succinogenes*, a proliferação desses microrganismos é dada principalmente no rúmen de animais recebendo dietas ricas em grão (YOKOYAMA & JOHNSON, 1988).

As bactérias presentes no rúmen clivam de forma aleatória o amido através da ação da enzima α-amilase extracelular (YOKOYAMA & JOHNSON, 1988). Logo após o amido ser degradado em maltose e glucose, as bactérias sacarolíticas irão fermentar esses substratos rapidamente até piruvato. Para cada hexose são produzidos dois moles de piruvato, duas adenosinas tri-fosfato (ATP) e de dois NADH2. Grande parte do ATP gerado até aqui é utilizado para manutenção e crescimento bacteriano no rúmen (KOZLOSKI, 2002).

O piruvato representa o ponto em comum de todos os AGCC, porém a proporção molar de acetato, propionato e butirato produzidos no rúmen dependem do tipo de carboidrato fermentado , tempo e extensão da degradação, espécie de bactéria e ambiente ruminal (VAN SOEST, 1982; BERGMAN, 1990). De forma geral dietas ricas em grão tendem a produzir maior relação molar de propionato quando comparadas com dietas ricas em carboidratos estruturais (BERGMAN, 1990).

A grande maioria dos AGCC são absorvidos de forma passiva através das paredes do omaso e complexo rúmen/reticulo, sendo o ultimo responsável por aproximadamente 88% da absorção dos AGCC (BERGMAN, 1990).

Durante o processo de absorção, o percentual de AGCC a ser metabolizado no epitélio ruminal, aumenta com o tamanho da cadeia e com a atividade das enzimas CoA sintetase nos diferentes tecidos. Assim 90% do butirato produzido será metabolizado antes da absorção, sendo oxidados a corpos cetônicos e CO_2. Portanto, somente 10% do butirato chegará ao fígado, demonstrando grande atividade da enzima butiril-CoA sintetase no epitélio ruminal (BERGMAN, 1990).

No caso do propionato, ocorre menor degradação via epitélio ruminal, cerca de 3 a 15%, o qual é oxidado a CO_2, lactato e alanina, enquanto o restante (> 80% do que é produzido) chega ao sistema porta-hepático. O principal precursor da gluconeogênese em ruminantes é o propionato, justificando assim a baixa atividade no epitélio ruminal e alta atividade hepática da propionil-CoAsintetase (BERGMAN, 1990).

O acetato representa 90 a 98% dos AGCC circulantes na corrente sanguínea, indicando baixas atividades da enzima acetil-COA carboxilase no epitélio ruminal e fígado. Os tecidos periféricos (muscular e adiposo) são os principais metabolizadores do acetato, possuindo alta atividade da enzima Acetil-CoA Carboxilase, sendo somente 3% do turnover metabolizado de forma hepática (BERGMAN, 1990).

O aumento da disponibilidade de carboidratos fermentescíveis eleva a concentração de glicose no rúmen (GALYEAN; WAGNER; OWENS, 1979), que estimula o crescimento de microrganismos produtores de lactato, eleva a taxa de fermentação junto com os produtos finais da fermentação, ocasionando a queda do pH (OWENS et al., 1998). A diminuição do pH acarreta em morte de protozoários e parte das bactérias gram negativas, além da diminuição de bactérias utilizadoras de ácido lático (BERGMAN, 1990).

A utilização de dietas com elevadas concentrações de grãos resulta em um aumento significativo na ingestão de carboidratos altamente fermentáveis induzindo a redução do pH, podendo gerar o quadro clínico de acidose. A acidose tem sido foco de diversas pesquisas, sendo considerado o distúrbio metabólico mais comum entre os confinamentos de bovinos.

2.3. Aditivos

Com o objetivo de contornar possíveis distúrbios metabólicos e elevar a eficiência na utilização do alimento, diversos aditivos melhoradores de desempenho têm sido estudados.

A utilização de aditivos em dietas de confinamento tem sido crescente no cenário nacional. Estima-se que atualmente 90% dos nutricionistas utilizam algum tipo de aditivo na formulação das dietas, dentre os quais destacam-se os ionóforos, seguido dos tamponantes, probióticos, leveduras, antibióticos não-ionóforos e enzimas exógenas (MILLEN et al., 2009).

Os ionóforos são ácidos orgânicos, resultantes da fermentação de algumas espécies de *Streptomyces,* que modificam a fermentação ruminal. Essas substancias tem o poder de interagir de forma passiva com os cátions e íons (K+, Na+, Ca2+ e Mg2+), que atuam no balanço químico intra e extra celular das bactérias, ligando-se aos cátions de maior afinidade e transportando-os através da membrana celular para dentro da bactéria. Esta, por sua vez, utiliza o mecanismo da bomba iônica na tentativa de manter sua osmolaridade, utilizando sua energia de forma excessiva, até deprimir as suas reservas, reduzindo o crescimento das bactérias *gram* positivas e favorecendo o crescimento das bactérias *gram* negativas (RANGEL et al., 2008).

A suplementação de ionóforos reduz de forma significativa a população de microorganismos *gram* positivos, principais produtores de lactato no rúmen (WALLACE; CHESSON, 1996).

Porém a utilização de ionóforos na cadeia produtiva de carne bovina estão sofrendo diversas barreiras, principalmente pela a União Europeia, que por via do regulamento nº 1831/2003 determinou a proibição de antibióticos e coccidiostáticos como aditivos alimentares de bovinos. Frente a isso, diversos aditivos alimentares estão sendo desenvolvidos e estudados para a substituição dos ionóforos e a manutenção dos índices produtivos.

2.4. Enzimas exógenas

A utilização de enzimas exógenas na nutrição animal não é algo recente, sendo aplicada na produção de suínos e aves. Porém quando trata-se da

nutrição de ruminantes essa tecnologia ainda é pouco descrita. Inicialmente, acreditava-se que quando as enzimas exógenas chegassem no ambiente ruminal seriam rapidamente desnaturadas ou digeridas no rúmen**,** antes mesmo de conseguirem promover qualquer tipo de ação (BEAUCHEMIN et al., 1999).Entretanto, foi verificado que algumas enzimas apresentavam estabilidade no líquido ruminal (MORGAVI et al., 2004) e, dessa forma, tal fato não seria um limitante para a maioria das enzimas exógenas utilizadas na nutrição de ruminantes.

Segundo (HARGER; SPRADA; HIRATSUKA, 1982), as enzimas podem ser definidas como biocatalizadores que aceleram a velocidade de uma reação química termodinamicamente possível, reduzindo a barreira energética dessas reações Os complexos enzimáticos utilizados na alimentação animal são constituídos de extratos concentrados da fermentação de bactérias (principalmente Bacillus spp.) ou fúngica (principalmente Trichoderma longibrachiatum, Aspergillus niger, A. oryzae), possuindo atividades primárias especificas, ou seja, existem enzimas especializadas na degradação de proteínas (proteolíticas), amidos (amilolíticas), pectina (pepectinoliticas), fibras (fibrolíticas) entre outras, porém os produtos também apresentam atividades secundarias (BEAUCHEMIN et al., 2003a).

O mecanismo de ação das enzimas exógenas ainda não é totalmente compreendido. Feng et al., (1996) relataram que os compostos podem aumentar a taxa de passagem do alimento ocasionando uma possível elevação no consumo de matéria seca, enquanto Beauchemin et al., (1999) consideram a ideia do aumento da aceitabilidade/palatabilidade dos alimentos que tenham a inclusão de complexos enzimáticos.

Bedford et al. (1991) relataram uma diminuição na viscosidade da digesta no duodeno, o que pode contribuir para a maior absorção de nutrientes pelos os animais.

Contudo, diversos estudos demonstraram melhoras significativas na digestibilidade de nutrientes com adição de preparados enzimáticos na alimentação de ruminantes (JUDKINS; STOBART, 1988; BEAUCHEMIN; RODE; SEWALT, 1995; RODE; YANG; BEAUCHEMIN, 1999; BEAUCHEMIN et al., 2000; CRUYWAGEN; GOOSEN, 2004).

2.4.1. Enzimas amilolíticas

A denominação de uma enzima ocorre devido ao substrato sobre o qual ela atua (HARGER; SPRADA; HIRATSUKA, 1982), sendo assim, as enzimas amilolíticas, apresentam como ação principal a degradação de amido, glicogênio e polissacarídeos, liberando diversos produtos, incluindo dextrinas e progressivamente pequenos polímeros compostos de unidades de glicose.

As enzimas amilolíticas exógenas (EAE) hidrolisam as moléculas de amidos em diferentes produtos, dependendo de sua classificação. Costa (1996) propôs um esquema (Figura 5) para identificar e classificar as enzimas amilolíticas.

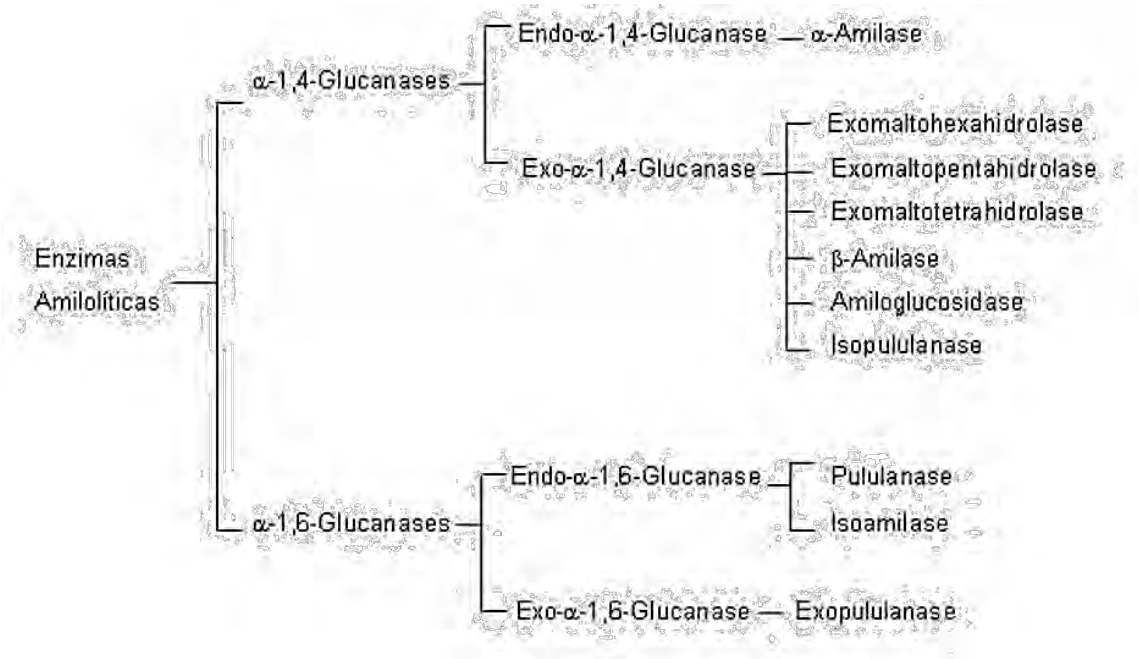

Figura 5: Classificação das enzimas amilolíticas

Fonte: Costa (1996)

Durante a catalisação, as amilases atacam o substrato de forma aleatória e em vários pontos, clivando a molécula de amido em oligossacarídeos de baixo peso molecular (5-7 unidades de glicose) e, eventualmente, em unidades de maltodextrina e maltose.A partir do complexo amilopectina libera glicose e maltose.

A inclusão de EAE em dietas de ruminantes demonstra capacidade de melhorar a digestão dos nutrientes e o desempenho animal, porém, o modo de

ação das EAE ainda não está é totalmente entendido. Algumas evidencias indicam que são mecanismos complexos e influenciados por diversos fatores, como alimentação, método de fornecimentos, ingredientes utilizados, dosagens entre outros (MCALLISTER et al., 2001).

A catalisação enzimática só é possível a partir do contato do substrato com o complexo enzimático. Morgavi et al. (2000) realizaram ensaios testando a adição das EAE diretamente ao alimento e observaram maior estabilidade das EAE devido a formação do complexo enzima-substrato, que dificulta a ação da protease microbiana.

A formação do complexo enzima-substrato apresenta grande influência sobre a ação das enzimas, já que impede que as enzimas se solubilizem no liquido ruminal elevando o tempo de permanência do complexo no ambiente. Caso as enzimas se solubilizem no liquido ruminal, irão fluir de forma rápida para o intestino minimizando suas ações (BEAUCHEMIN et al., 2003b).

O aumento das concentrações do amido nas dietas de confinamento pode promover alterações no trato digestório e minimizar a digestão desse nutriente, podendo resultar em perdas de amido pelas fezes, diminuindo a eficiência na utilização do alimento. Foi observado que a adição de amilase em dietas de cordeiros promoveu melhor aproveitamento do amido, resultando no aumento de13,9% no ganho de peso diário em animais suplementados (RUBIO et al., 2001).

No ambiente ruminal as enzimas podem agir diretamente sobre as ligações a serem catalisadas ou atuarem de forma sinérgica com os microrganismos, agindo de forma indireta, potencializando a degradação enzimática microbiana. McAllister et al., (2001) verificaram sinergismo entre enzimas exógenas e microbianas pelo aumento do potencial hidrolítico no meio ruminal. Também foi observado que algumas enzimas são muito resistentes, transpondo o ambiente ruminal e continuando ativas no abomaso e intestino, auxiliando a digestão dos materiais que escapam à fermentação ruminal (HRISTOV et al., 2008).

Aumentos da taxa de degradação do alimento no rúmen estão relacionados com a melhora da colonização pelos microrganismos ruminais em função do tratamento enzimático (COLOMBATTO, 2008). A ação das enzimas promove uma maior disponibilidade de carboidratos fermentáveis, elevando

assim a taxa de fermentação e multiplicação microbiana. A maior densidade de microrganismos no rúmen promovem digestão mais extensiva da dieta total (LEWIS et al., 1996; BEAUCHEMIN et al., 2000).

Com ação hidrolítica da α-amilase, ocorre a elevação da concentração de oligossacarídeos resultantes da degradação do amido, resultando em modificações nos processos fermentativos, visto que a degradação microbiana dos oligossacarídeos é mais simples, aumentando a digestibilidade do amido (TRICARICO et al., 2007).

Embora a degradação do amido seja elevada no ambiente ruminal, a excreção do excedente nas fezes demonstra ainda um potencial degradabilidade de frações que não foram aproveitadas ao longo do trato digestório, que com o auxilio de EAE poderiam ser aproveitadas, elevando a eficiência na produção, além de auxiliar na prevenção de distúrbios ruminais e auxiliar na melhora dos padrões fermentativos (TRICARICO et al., 2007).

2.4.2. Enzimas fibrolíticas

Os ruminantes, quando comparados com os monogástricos, possuem a vantagem de conseguir degradar carboidratos fibrosos presentes na parede celular das plantas de forma eficaz, possibilitando transformar alimentos de baixa qualidade em nutrientes de grande valor biológico.

Porém, é sabido que existe a possibilidade de melhorar a degradação e aproveitamento das fibras, pois apesar da alta atividade fibrolítica no rúmen, ainda é observada a eliminação de fibras degradáveis nas fezes (GALLARDO et al., 2009).

Os complexos enzimáticos fibrolíticas possuem como principais ingredientes fitases, celulases e hemicelulases derivadas de compostos fermentados de fungos e bactérias, sendo a duas ultimas de maior importância. Esses complexos possuem a capacidade de elevar a degradação de polissacarídeos fibrosos, juntamente com as enzimas endógenas produzidas no rúmen (NEWBOLD, 1997).

O complexo enzimático das celulases é constituído de um conjunto de hidrolases glicosídicas, que envolvem três tipos de enzimas: endo-β-1,4-glucanases ou endoglucanases, exo-β-1,4-glucanases ou celobiohidrolases, ou

apenas exoglucanases e β-1,4-glucosidases, que atuam de forma sinérgica na hidrólise de celulose (ZHANG; SCHELL; MCMILLAN, 2007), porém, em locais diferentes. As endoglucanases atuam em regiões menos organizadas das microfibrilas da celulose, reduzem a polimeração das microfibrilas, liberando substrato para a degradação das exoglucases (MCALLISTER et al., 1999), ou seja, clivam de forma aleatória a cadeia de celulose, resultando oligômeros de celulose de vários graus de polimerização. Já por sua vez as exoglucoses hidrolisam as extremidades não redutoras da cadeia de celulose, liberando celobilose. As o β-glucosidases iraõ reduzir as celobiloses e liberando glicose, além de hidrolisar cadeias curtas de celoligossacarídeos a partir de extremidades redutoras ou não (BHAT; HAZLEWOOD, 2001).

A utilização da hemicelulase com o objetivo de alterar a degradação das fibras está diretamente ligado a ação da xilanase, que irão catabolizar as xilanas. As xilanases participam da desagregação da parede celular de plantas e, em conjunto com outras enzimas, hidrolisam polissacarídeos (POLIZELI et al., 2005).

Assim como o complexo celulase o complexo das hemicelulases precisam de um sistema de ação cooperativo, para que ocorra a lise completa (SUNNA; ANTRANIKIAN, 1997). Inicialmente temos as endo-β-1,4-xilanases que iniciam o processo despolimeralizando as xilanas, as quais hidrolisam a cadeia principal mais fácil e rapidamente em regiões sem substituições, gerando oligossacarídeos não substituídos e ramificados ou esterificados (BIELY, 1985). As β-xilosidases são exoglucosidases que hidrolisam xilooligossacarídeos pequenos e xilobiose, liberando xilose. A ação dessa enzima é extremamente especifica (SUNNA; ANTRANIKIAN, 1997; WHITAKER; VORAGEN; WONG, 2003).

2.4.3. Mecanismos de ação das enzimas exógenas

Os mecanismos de ação das enzimas exógenas ainda são pouco explorados, porém evidências recentes indicam que pode ocorrer uma atuação direta do produto enzimático sobre o alimento, causando hidrólise, ou ainda por efeito associativo, ou indiretamente, pelo o estimulo da colonização das fibras por microrganismos.

Compostos enzimáticos atuam primeiramente por hidrólise dos carboidratos presentes na parede celular e em açúcares, reduzindo, consequentemente, o conteúdo das fibras e melhorando a digestibilidade da dieta (MUCK e KUNG, 1998). Outro fato é a maior disponibilidade da proteína e dos carboidratos, tornando a parede celular mais degradável após o tratamento enzimático (VARGAS et al., 2008)

A ação associativa de complexos enzimáticos exógenos de origem fúngica com enzimas bacterianas ruminais, aparentemente apresentam maior eficiência (HRISTOV; MCALLISTER; CHENG, 2000). Chesson (1994) verificou que a associação de extrato de *Aspergillus oryzae* e enzimas bacterianas ruminais resultou em maiores taxas de hidrólise em feno, quando comparado com a soma dos efeitos individuais de cada enzima. Tal resultado contribuiria com a teoria que enzimas originárias do fungo complementariam a ação das enzimas produzidas pelo rúmen.

Com o aumento dos níveis de concentrado em dietas de terminação, há a tendência de queda do pH ruminal. De maneira geral, a ação das enzimas endógenas é prejudicada ou até mesmo inibida quando o pH ruminal é menor que 5,5. Já as enzimas de origem fúngica apresentam boa ação em pH mais baixo, tornando a inclusão interessante em dietas de alto concentrado (HRISTOV; A. MCALLISTER; CHENG, 1998).

Além da maior digestibilidade da dieta estar associada ao maior efeito da hidrólise, também podem estar associadas com a maior colonização microbiana das partículas. Yang et al.(1999) observaram que o aumento do desaparecimento da matéria seca esteve associado a maiores índices de colonização do resíduo. A adesão de microrganismos ao substrato, pode estar relacionada a maior disponibilidade de nutrientes, que serão utilizados na produção de glicocalix pela a bactéria, permitindo maior adesão ao substrato Yang et al.(1999).

O aumento da digestibilidade e a adesão dos microrganismos estão relacionados com a destruição de algumas barreiras (ex: cutículas) de alguns ingredientes e compostos químicos, que por sua vez dificultam a aderência bacteriana.

Em alguns casos a adição de enzimas exógenas fúngica também aumentou a população microbiana do rúmen, provavelmente resultado de

maior disponibilidade de substrato fermentativo e a adequação de N na dieta, possibilitando maior síntese e fluxo de proteína microbiana para o duodeno (HRISTOV; MCALLISTER; CHENG, 2000).

Resultados encontrados na literatura sobre (HRISTOV; MCALLISTER; CHENG, 2000; MILLER et al., 2008; VARGAS et al., 2008; ÁLVAREZ et al., 2009; ROMERO et al., 2015; SUJANI; SERESINHE, 2015), demonstram uma variabilidade dos resultados relacionados ao ganho em desempenho, essa variação pode ser justificada pelo grande número de produtos à base de enzimas exógenas e condições experimentais, portanto, a variação dos resultados pode ser considerada normal.

Segundo Beauchemin et al., (2003b) além das variações atreladas a diferentes produtos e condições ambientais, os efeitos das eximas exógenas podem não ser significativos em condições que a energia não é o nutriente limitante, por uma super ou sub-dosagem ou por métodos inapropriados de fornecimento.

Outro fato destacado por Colombatto et al. (2003) é a proporção de concentrado/volumoso utilizado na dieta, o pH ruminal ou até mesmo o tempo de retenção do alimento no rúmen, são fatores que influenciam a variabilidade dos resultados. Já Cruywagen e Goosen (2004) atribuem parte da variação a composição dos componentes das dietas em que as EFE serão adicionadas.

3. OBJETIVO GERAL

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar os efeitos da inclusão de enzimas exógenas em dietas de alto concentrado nas características de carcaça, qualidade de carne e padrões ruminais de bovinos da raça Nelore confinados. A hipótese é que a adição de enzimas exógenas em dietas de bovinos em confinamento, melhore o desempenho e uniformidade das carcaças, elevando os padrões fermentativos do rúmen.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁLVAREZ, G.; PINOS-RODRÍGUEZ, J. M.; HERRERA, J. G.; GARCÍA, J. C.; GONZALEZ, S. S.; BÁRCENA, R. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal digestibility in steers fed high fiber rations. **Livestock Science**, v. 121, n. 2, p. 150–154, 2009.

BAKER, S. K. **Rumen methanogens, and inhibition of methanogenesisAustralian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 50, n. 8, p. 1293-1298, 1999.

BEAUCHEMIN, K. A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D. P.; YANG, W. Z. Use of Exogenous Fibrolytic Enzymes to Improve Feed Utilization by Ruminants 1 , 2. **Journal of Animal Science**, n. 81, p. 37–47, 2003a.

BEAUCHEMIN, K. A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D. P.; YANG, W. Z.; RODE, L. M. Mode of action of exogenous cell wall degrading enzymes for ruminants. **Canadian journal of animal science**, v. 84, n. 1, p. 13–22, 2003b. Disponível em: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=15775920>.

BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M.; KARREN, D.; CANADA, A.; BOX, P. O. Use of feed enzymes in feedlot finishing diets. n. October 1996, 1999.

BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M.; MAEKAWA, M.; MORGAVI, D. P.; KAMPEN, R. Evaluation of a Nonstarch Polysaccharidase Feed Enzyme in Dairy Cow Diets. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 3, p. 543–553, mar. 2000. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030200749149>. Acesso em: 7 set. 2016.

BEAUCHEMIN, K. a.; RODE, L. M.; SEWALT, V. J. H. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 75, n. 4, p. 641–644, 1995.

BEDFORD, M. R.; CLASSEN, H. L.; CAMPBELL, G. L. **The effect of pelleting, salt, and pentosanase on the viscosity of intestinal contents and the performance of broilers fed rye.Poultry science**, 1991. . Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1886869>.

BERGMAN, E. N. **Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species.Physiological reviews**, v.70, n.2, p.567, 1990.

BHAT, M. K.; HAZLEWOOD, G. P. **Enzymology and other characteristics of Cellulases and XylanasesEnzymes in Farm Animal Nutrition**, 2001. . Disponível em: <http://books.google.com/books?id=ReV4vrav6N8C&pgis=1>.
BIELY, P. Microbial xylanolytic systems. **Trends in Biotechnology**, v. 3, n. 11, p. 286–290, 1985.

CHESSON, A. **Manipulation of fibre degradation: an old theme revisited**. Jacques, eds. Biotechnology in the feed industry. Proc. Alltech's Tenth Annual Symp., Nothingham University Press, Loughborough, U.K, p 83-98, 1994

COLOMBATTO, D. **Enzymes, direct-fed microbials and plant extracts in ruminant nutritionAnimal Feed Science and Technology**, 2008. .

COSTA, J. A. V. **Estudo da produção de amiloglucosidase por aspergillus níger nrrl 3122 em fermentação semi-sólida de farelo de arroz**. 1996.

CRUYWAGEN, C. W.; GOOSEN, L. Effect of an exogenous fibrolytic enzyme on growth rate, feed intake and feed conversion ratio in growing lambs. **South African Journal of Animal Sciences**, v. 34, n. 6SUPPL.2, p. 71–73, 2004.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Da. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945–954, 2009.

FENG, P.; HUNT, C. W.; PRITCHARD, G. T.; JULIEN, W. E. Effect of Enzyme Preparations on In Situ and In Vitro Degradation and In Vivo Digestive Characteristics of Mature Cool-Season Grass Forage in Beef Steers. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 6, p. 1349–1357, 1996.

GALLARDO, I.; BÁRCENA, R.; PINOS-RODRÍGUEZ, J. M.; COBOS, M.; CARREÓN, L.; ORTEGA, M. E. **Influence of exogenous fibrolytic enzymes on in vitro and in sacco degradation of forages for ruminantsItalian Journal of Animal Science**, 2009. .

GALYEAN, M. L.; WAGNER, D. G.; OWENS, F. N. Corn particle size and site and extent of digestion by steers. **Journal of Animal Science**, v. 49, n. 1, p. 204–210, 1979.

HARGER, C.; SPRADA, D.; HIRATSUKA, E. Amilase Fúngica. In: **Bioquímica das Fermentações,** In: Bioquímica das Fermentações, 1982. 56 p.

HRISTOV, A. N.; A. MCALLISTER, T.; CHENG, K.-J. Stability of exogenous polysaccharide-degrading enzymes in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v. 76, n. 1–2, p. 161–168, 1998. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037784019800217X>.

HRISTOV, A. N.; BASEL, C. E.; MELGAR, A.; FOLEY, A. E.; ROPP, J. K.; HUNT, C. W.; TRICARICO, J. M. Effect of exogenous polysaccharide-degrading enzyme preparations on ruminal fermentation and digestibility of nutrients in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1, p. 182–193, 2008.

HRISTOV, A. N.; MCALLISTER, T. A.; CHENG, K. J. Intraruminal supplementation with increasing levels of exogenous polysaccharide-degrading enzymes: Effects on nutrient digestion in cattle fed a barley grain diet. **Journal**

of Animal Science, v. 78, n. 2, p. 477–487, 2000.

HUNTINGTON, G. B. Starch Utilization by Ruminants: From Basics to the Bunk. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 3, p. 852–867, 1997.

JUDKINS, M. B.; STOBART, R. H. **Influence of two levels of enzyme preparation on ruminal fermentation, particulate and fluid passage and cell wall digestion in wether lambs consuming either a 10% or 25% grain diet.Journal of animal science**, 1988. .

KLEEN, J. L.; HOOIJER, G. A.; REHAGE, J.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M. Subacute ruminal acidosis (SARA): A review. **Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine**, v. 50, n. 8, p. 406–414, 2003.

KOTARSKI, S. F.; WANISKA, R. D.; THURN, K. K. **Starch hydrolysis by the ruminal microflora.The Journal of Nutrition**, 1992. .
KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 1. ed. v.122, n.1, p.178-190, 1992.

LEE, S. Y.; KIM, W. Y.; KO, J. Y.; HA, J. K. Effects of corn processing on the site and extent of digestion in lactating cows. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 9, p. 2087–2097, 1997. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76154-X>.

LEWIS, G. E.; HUNT, C. W.; SANCHEZ, W. K.; TREACHER, R.; PRITCHARD, G. T.; FENG, P. Effect of Direct-Fed Fibrolytic Enzymes on the Digestive Characteristics of a Forage-Based Diet Fed to Beef Steers. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 12, p. 3020–3028, 1996.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 02 nov. 2016.

MARINO, C. T.; OTERO, W. G.; BASTOS, J. P. S. T. Preparado De Anticorpos Policlonais Como Aditivo. **Archivos. Zootecnia**, v. 58, p. 109–119, 2009.

MARTIN, S. A. Manipulation of Ruminal Fermentation with Organic Acids: A Review. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 12, p. 3123–3132, 1998.

MCALLISTER, T. a.; HRISTOV, a. N.; BEAUCHEMIN, K. a.; RODE, L. M.; CHENG, K.-J. Enzymes in Ruminant Diets. **Enzymes in Farm Animal Nutrition**, p. 273–298, 2001.

MCALLISTER, T. a.; OOSTING, S. J.; POPP, J. D.; MIR, Z.; YANKE, L. J.; HRISTOV, a. N.; TREACHER, R. J.; CHENG, K.-J. Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle. **Can. J. Anim. Sci.**, v. 79, n. 3, p. 353–360, 1999.

MILLEN, D. D.; PACHECO, R. D. L.; ARRIGONI, M. D. B.; GALYEAN, M. L.; VASCONCELOS, J. T. A snapshot of management practices and nutritional

recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 10, p. 3427–3439, 2009.

MILLER, D. R.; GRANZIN, B. C.; ELLIOTT, R.; NORTON, B. W. Effects of an exogenous enzyme, Roxazyme® G2 Liquid, on milk production in pasture fed dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1, p. 194–208, 2008.

Morgavi, D.P., Beauchemin, K.A., Nsereko, V.L., 2000. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from Trichoderma longibrachia- tum. J. Dairy Sci. 83, 1310–1321.

MORGAVI, D. P.; BEAUCHEMIN, K. A.; NSEREKO, V. L.; RODE, L. M.; MCALLISTER, T. A.; WANG, Y. Trichoderma enzymes promote Fibrobacter succinogenes S85 adhesion to, and degradation of, complex substrates but not pure cellulose. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 10, p. 1083–1090, 2004.

NEWBOLD, J. Proposed mechanisms for enzymes as modifiers of ruminal fermentation. **Florida Ruminant Nutrition Symposium**, p. 3–17, 1997.
NOCEK, J. E.; TAMMINGA, S. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3598–3629, 1991a. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78552-4>. Acesso em: 26 ago. 2016.

NOCEK, J. E.; TAMMINGA, S. Site of Digestion of Starch in the Gastrointestinal Tract of Dairy Cows and Its Effect on Milk Yield and Composition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3598–3629, out. 1991b. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030291785524>. Acesso em: 26 ago. 2016.

NUSSIO, L. G.; CAMPOS, F. P. De; DIAS, F. N. Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. **Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas**, p. 1–17, 2001.

OWENS, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; GILL, D. R. Acidosis in Cattle: A Review. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 275–286, 1998.

PAES, M. C. D. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. **EMBRAPA.Circular Tecnica 75**, v. 75, p. 6, 2006.

PASSINI, R.; RODRIGUES, P. H. M.; DE CASTRO, A. L.; SILVEIRA, A. C. Parâmetros de fermentação ruminal em bovinos alimentados com grãos de milho ou sorgo de alta umidade ensilados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 5, p. 1266–1274, 2003.

POLIZELI, M. L. T. M.; RIZZATTI, A. C. S.; MONTI, R.; TERENZI, H. F.; JORGE, J. A.; AMORIM, D. S. Xylanases from fungi: Properties and industrial

applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 67, n. 5, p. 577–591, 2005.

POORE, M. H.; MOORE, J. A.; ECK, T. P.; THEURER, C. B. Effect of Fiber Source and Ruminal Starch Degradability on Site and Extent of Digestion in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 8, p. 2244–2253, 1993.

RANGEL, A. H. do N.; LEONEL, F. de P.; SIMPLÍCIO, A. A.; MENDONÇA JÚNIOR, A. F. de. Utilização de ionóforos na produção de ruminantes. **Revista De Biologia E Ciências Da Terra**, v. 8, n. 1, p. 264–273, 2008. Disponível em: <http://eduep.uepb.edu.br/rbct/sumarios/pdf/19ruminantes.pdf>.

RODE, L. M.; YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A. Fibrolytic Enzyme Supplements for Dairy Cows in Early Lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 10, p. 2121–2126, 1999.

ROMERO, J. J.; ZARATE, M. A.; ARRIOLA, K. G.; GONZALEZ, C. F.; SILVA-SANCHEZ, C.; STAPLES, C. R.; ADESOGAN, A. T. Screening exogenous fibrolytic enzyme preparations for improved in vitro digestibility of bermudagrass haylage. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 4, p. 2555–2567, 2015.

ROONEY, L. W.; PFLUGFELDER, R. L. **Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn.Journal of animal science**, 1986. .

RUBIO, R.; MARTÍNEZ, M.; GERMÁN, D.; GALVÁN, C.; MAGDALENA, M. Disponible en: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30235406. **Agrociencia**, 2001.

SANTOS, F. A. P.; HUBER, J. T.; THEURER, C. B.; SWINGLE, R. S.; SIMAS, J. M.; CHEN, K. H.; YU, P. Milk yield and composition of lactating cows fed steam-flaked sorghum and graded concentrations of ruminally degradable protein. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 1, p. 215–220, 1998. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030298755687>.

SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; OWENS, F. N.; ANDWELTY, S. D. EFFECTS OF CORN PARTICLE SIZE ON FEEDLOT STEER PERFORMANCE AND CARCASS CHARACTERISTICS. **Animal Science Research Report**, v. 31, p. .99–104, 1995.

SECRIST, D. S.; OWENS, F. N.; W. J. HILL S. D. WELTY. ROLLED VERSUS WHOLE CORN: EFFECTS ON RUMINAL FERMENTATION OF F. **Animal Science Research Report**, v. 32, p. 181–188, 1996.

SUJANI, S.; SERESINHE, R. T. Exogenous enzymes in ruminant nutrition: A review. **Asian Journal of Animal Sciences**, v. 9, n. 3, p. 85–99, 2015.

SUNNA, A.; ANTRANIKIAN, G. Xylanolytic Enzymes from Fungi and Bacteria. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 17, n. 1, p. 39–67, 1997.

TEIXEIRA, J. C.; SANTOS, R, M.; OLIVEIRA, I. G. **Degradabilidade ruminal da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro de rações contendo caroço de algodão e grão de milho, em diferentes formas físicas, em vacas da raça Holandesa**Resvista Brasileira de Zootecnia, , 1996. .

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch - Composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, n. 2, p. 151–165, 2004.

THEURER, C. B. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. **Journal of animal science**, v. 63, n. 5, p. 1649–1662, 1986.

TRICARICO, J. M.; ABNEY, M. D.; GALYEAN, M. L.; RIVERA, J. D.; HANSON, K. C.; MCLEOD, K. R.; HARMON, D. L. Effects of a dietary Aspergillus oryzae extract containing alpha-amylase activity on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 3, p. 802–811, 2007. Disponível em: <<Go to ISI>://000245678200028>.

TURGEON, O. A.; BRINK, D. R.; BRITTON, R. A. Corn particle size mixtures, roughage level and starch utilization in finishing steers diets. **Journal of Animal Science**, v. 57, n. 3, p. 739–749, 1983. Disponível em: <https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/57/3/JAN0570030739>.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminants**. [s.l: s.n.]v. 2

VARGA, G. A.; KOLVER, E. S.; SUPPL, M. Conference : New Developments in Forage Science Contributing to Enhanced Fiber Utilization by Ruminants Microbial and Animal Limitations to Fiber Digestion and Utilization 1. **The Journal of Nutrition**, v. 127, n. 5, p. 819S–823S, 1997. Disponível em: <http://jn.nutrition.org/content/127/5/819S.abstract>.

VARGAS, J. M.; MENDOZA, G. D.; RUBIO-LOZANO, M. D. la S.; CASTREJÓN, F. A. Effect of Exogenous Fibrolytic Enzymes on Ruminant Performance. v. 45, n. 2, p. 297–306, 2008.

WALLACE, R. J.; CHESSON, A. **Biotechnology in animal feeds & animal feeding. Part 1: Ionophores, antibiotics and methane inhibitors in ruminants.Feed Compounder**, 1996. .

WANG, Y.; MCALLISTER, T. a.; RODE, L. M.; BEAUCHEMIN, K. a.; MORGAVI, D. P.; NSEREKO, V. L.; IWAASA, a. D.; YANG, W. **Effects of an exogenous enzyme preparation on microbial protein synthesis, enzyme activity and attachment to feed in the Rumen Simulation Technique (Rusitec)British Journal of Nutrition**, 2007. . Disponível em: <http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0007114501000435>.

WATSON, S. A.; RAMSTAD, P. E. **Corn: chemistry and technology**.
WHITAKER, J. R.; VORAGEN, A. G. J.; WONG, D. W. S. **Handbook of food enzymology**. 1. ed. NewYork: Marcel Dekker,Inc, 2003.

YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. a; RODE, L. M. **Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows.Journal of dairy science**, 1999. . Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75245-8>.

ZHANG, Y. H. P.; SCHELL, D. J.; MCMILLAN, J. D. **Methodological analysis for determination of enzymatic digestibility of cellulosic materialsBiotechnology and Bioengineering**, 2007.

Capítulo 2**:**

PROCESSAMENTO DO MILHO E NÍVEIS DE ENZIMAS FIBROLÍTICAS EXÓGENAS NA DIETA DE BOVINOS NELORE CONFINADOS

Processamento do milho e níveis de enzimas fibrolíticas exógenas na dieta de bovinos Nelore

RESUMO

Esse trabalho foi desenvolvido para avaliar o efeito da utilização das enzimas fibrolíticas exógenas (EFE) e diferentes granulometrias do milho sobre o desempenho, características de carcaça, qualidade de carne e padrões ruminais na alimentação de bovinos Nelore confinados. Foram utilizados 96 bovinos Nelore, não castrados, com peso inicial de 401±32 e média de 20 meses de idade, distribuídos em um delineamento em blocos casualizados (peso inicial) em esquema fatorial 2 x 3 (granulometria do milho e níveis EFE). As dietas foram compostas de 21,78% de concentrado e 78,22% de volumoso (silagem de milho), sendo utilizado o milho moído sob a peneira 5 ou 11 mm, além, da utilização de 3 inclusões do complexo enzimático fibrolítico 0; 0,37 e 0,74% da MS (OPTIMASE® Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda). Os animais foram pesados e mensuradas as características de carcaça nos dias 0, 28, 56 e ao final do confinamento. Ao final de 80 dias de confinamento, os animais foram abatidos, e avaliado o peso de carcaça quente (PCQ), rendimento e carcaça quente (RC) e gordura renal pélvica e inguinal (GRPI), foram coletas amostras de liquido e tecido ruminal para determinação da morfologia papilar ruminal, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$), após 24 horas de resfriamento da carcaça foram avaliada o pH e coletada amostras entre a 12ª e 13º costela do musculo *longissimus* para determinação da cor, força de cisalhamento (FC) e perdas por cocção (PPC). Não foi observada interação entre os dois fatores testados, a granulometria do milho não influenciou o desempenho, características de carcaça, qualidade de carne, fermentação ruminal e morfologia ruminal. A inclusão de EFE não alterou a ingestão de matéria seca (IMS;P=0,4339), peso vivo final (PVF; P=0,9181), eficiência alimentar (EA; P=0,4330) além da cor, FC (P=0,6399), PPC (0,6746) da carne, também não foi observado efeito para os AGCC, $N\text{-}NH_3$ (P=0,9686) e morfologia ruminal. Porém foi observado efeito quadrático (P=0,0174), para GRPI em % e kg e efeito linear (P=0,0434) para a espessura de gordura subcutânea entre a 12ª e 13ª costela (EGS).

Palavras-chaves: *Bos indicus*; Ganho de peso; Maciez

Corn processing and levels of exogenous fibrolytic enzymes on finishing diets of Nellore cattle

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effect of the use of exogenous enzymes Fibrolytic (EFE) and different particle sizes of corn on performance, carcass characteristics, meat quality and ruminal trails of Nelore cattle. Were used 96 non-castrated Nellore cattle with initial weight of 401 ± 32 and average of 20 months of age, distributed in a randomized block design (initial weight) factorial 2 x 3 (particle size of corn and EFE levels). The diets were composed of 21.78% concentrate and 78.22% roughage (corn silage), and used the ground corn in the pan 5 or 11 mm, besides using 3 inclusions fibrolytic enzyme complex 0; 0.37 and 0.74% of MS (Alltech OPTIMASE ® Agroindustrial Ltda Brazil). The animals were weighed and measured carcass characteristics on days 0, 28, 56 and the end of the feedlot. At the end of 80 days of feedlot the animals were slaughtered and rated the hot carcass weight (HCW), yield and hot carcass (YC) and inguinal pelvic and kidney fat (IPKF), were sampled the ruminal tissue and fluid to determination of ruminal papillary morphology, short-chain fatty acids (SCFA) and nitrogen ammonia (N-NH3), after 24 hours of casting cooling were evaluated pH and collected samples between the 12th and 13th rib longissimus muscle to determine the color, shear force (WBSF) and cooking losses (CL). There was no interaction between the two factors tested, the particle size of corn did not influence the performance, carcass characteristics, meat quality, ruminal fermentation and morphology. The inclusion of EFE did not alter the dry matter intake (DMI; P=0.4339), final body weight (PVF; P=0.9181), feed efficiency (P = 0.4330) in addition to color, FC (P = 0.6399), PPC (0.6746) meat, there was also no effect on SCFA, N-NH3 (P = 0.9686) and rumen morphology. But the EFE effect the IPKF (P=0.0174) as quadratic form, and linear on fat thickness (P=0.0441). But it was observed quadratic effect (P = 0.0174) for IPKF in% and kg and linear effect (P = 0.0434) for fat thickness between the 12th and 13th rib (EGS).

Keywords: Tenderness; Weight gain; *Bos indicus*

4. INTRODUÇÃO

Com a intensificação dos sistemas de produção de carne bovina visando suprir a crescente demanda por carne de qualidade, é necessária a intensificação da produção, utilizando dietas de elevada densidade energética e a utilização de sistemas de confinamento.

O milho, principal grão cereal utilizado em dietas para ruminantes em confinamento possui custo elevado, o principal destino da produção, cerca de 70% da produção mundial, é a indústria de alimentação animal. Em países desenvolvidos os valores podem chegar a 85% (PAES, 2006). A moagem é considerada uma forma de processamento prática e de baixo custo e visa reduzir o tamanho das partículas, expondo o conteúdo do grão a microbiota ruminal, aumentando a digestibilidade do amido e das proteínas(GALYEAN; WAGNER; OWENS, 1979).

A inclusão de concentrados nas dietas podem promover distúrbios ruminais e metabólicas, fazendo-se necessário a utilização de aditivos alimentares. No entanto, o uso de alguns aditivos alimentares está sofrendo barreiras por alguns mercados, como o regulamento nº 1831/2003, que vetou a utilização de antibióticos e coccidiostáticos como aditivos alimentares de bovinos, amplamente utilizados como moduladores de fermentação ruminal, sendo as enzimas fibrolíticas exógenas (EFE) possíveis aditivos a fim de suprir essas deficiências.

A utilização de EFE exógenas na nutrição animal não é algo recente, pois têm sido utilizadas na produção de suínos e aves, porém quando tratamos da nutrição de ruminantes essa tecnologia é pouco descrita.

Compostos enzimáticos atuam primeiramente por hidrólise dos carboidratos presente na parede celular e em açúcares, reduzindo, consequentemente, o conteúdo das fibras e melhorando a digestibilidade da dieta (MUCK e KUNG, 1997), podendo estar associada com a maior colonização microbiana das partículas.

Contudo estudos demonstram melhoras significativas na digestibilidade de nutrientes com adição de preparações enzimáticas na alimentação de

ruminantes (JUDKINS; STOBART, 1988; BEAUCHEMIN; RODE; SEWALT, 1995; RODE; YANG; BEAUCHEMIN, 1999; BEAUCHEMIN et al., 2000; CRUYWAGEN; GOOSEN, 2004).

Desta forma, este trabalho foi desenvolvido para avaliar o efeito da granulometria do milho e de EFE, sobre o desempenho, características de carcaça, qualidade da carne e características ruminais de bovinos Nelore confinados com dietas com alta proporção de concentrado.

5. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP; Protocolo 14.1.1370.74.5) e conduzido no confinamento do Departamento de Zootecnia da FZEA/USP, em Pirassununga/SP.

5.1. Local, animais e tratamentos

Noventa e seis bovinos Nelores machos, não-castrados, com peso inicial médio de 401±32 kg, e idade de 20 meses foram alocados em duas instalações, de acordo com o peso inicial (bloco). Um grupo de 48 animais foi alocados em baias individuais, enquanto o restante (n=48) foi alojado em 4 baias coletivas (12 animais por baia) equipadas com portões eletrônicos tipo Calan Broadbent (American Calan Inc., Northwood, NH, EUA), que permitia o controle de consumo individual dos animais. Todas as baias e piquetes possuíam bebedouros automáticos, comedouros cobertos e piso de alvenaria.

Os animais foram adaptados por um período de 30 dias, sendo os 15 primeiros as instalações e posteriormente ao nível de inclusão de concentrado. Nos primeiros 15 dias os animais receberam apenas silagem de milho. A adaptação ao concentrado foi realizada de forma gradual, iniciando com 30% de concentrado, elevando 20% a cada 4 dias, sem a adição da enzima.

Em seguida, os animais receberam a dieta final (Tabela 2), contendo três níveis de inclusão de enzimas fibrolíticas (0; 0,37 e 0,74% de inclusão da MS) e duas granulometrias do milho grão (grossa ou fina). O grão do milho foi processado em moinho do tipo martelo, com peneiras de 11 mm para a

moagem grossa e de 5 mm para a moagem fina, respectivamente. As doses utilizadas foram correspondente a 0, 50 e 100% dos valores indicados pelo fabricante.

Como fonte de EFE, foi utilizado o produto comercial Optimase® (Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda, Araucária, PR), composto por um complexo enzimático incorporado com ureia de absorção lenta.

Tabela 2: Composição percentual da dieta utilizada (na matéria seca).

	Tratamentos		
Ingredientes (% MS)	0%	0,37%	0,74%
Silagem de milho	21,78	21,78	21,78
Milho Grão Seco	58,08	58,08	58,08
Farelo de Soja 45%	5,79	5,79	5,79
Polpa cítrica	11,03	11,03	11,03
Ureia protegida (Optigen®)	0,74	0,37	-
Ureia protegida e complexo enzimático (Optimase®)	-	0,37	0,74
Ureia	0,78	0,78	0,78
Núcleo Mineral[1]	0,80	0,80	0,80
Calcário calcítico	1,00	1,00	1,00
NUTRIENTES[2]			
Matéria seca, %		76,43	
Proteína Bruta, %		16,34	
Extrato etéreo, %		2,89	
Fibra bruta, %		10,71	
Fibra em detergente ácido, %		14,96	
Fibra em detergente neutro, %		26,45	
Extrativo não nitrogenado, %		65,53	
Matéria mineral, %		4,51	
NDT, %		78,5	

[1] CONFINATTO N210 (Composição: Ca: 160g; P: 24g, Mg: 5g; Na: 59,3g; S: 28g; Co: 8,23mg; Cu: 560mg; I: 28mg; Mn: 1120mg; Se: 5,6mg; Zn: 1680mg; Vit A: 73920 UI; Monensina: 1.000mg); [2] Valores resultados de analises bromatológicas.

A alimentação foi realizada diariamente às 8h e às 16h e a as sobras foram recolhidas, pesadas e amostradas três vezes por semana, para determinação da matéria seca.

O ajuste de fornecimento do alimento foi realizado diariamente através de leitura de cocho, onde era verificado visualmente a quantidade de alimento restante do dia anterior e atribuída uma pontuação de 0 a 4, onde 0 era o cocho sem alimento algum e 4 o cocho com todo o alimento fornecido no dia anterior. Nos casos de escore 0 e 1 eram acrescentados mais 10% no fornecimento de alimento do dia. As pesagens das sobras eram realizadas a cada dois dias, afim de estipular a IMS.

5.2. Desempenho

Os animais foram pesados e avaliados por ultrassonografia no início do experimento (dia 0), no dia 28, 56 e ao final do confinamento. As pesagens foram realizadas após jejum de sólidos de aproximadamente 14 horas. A partir dos dados de consumo alimentar e dos pesos foram calculadas ingestão de matéria seca (IMS), o ganho de peso diário (GPD), eficiência alimentar (EA). A IMS foi calculada através da diferença entre o alimento oferecido e as sobras. O GPD foi calculado através da razão do ganho de peso pelos dias de confinamento, enquanto a EA foi obtida pela divisão da IMS pelo ganho de peso.

5.3. Característica avaliadas por ultrassonografia

As características de carcaça foram avaliadas por ultrassonografia, utilizando um equipamento de ultrassonografia, marca Aloka®, modelo SSD 500 Micrus (Aloka Co. Ltd.), com transdutor linear de 3,5 mHz e 172 mm de comprimento. Foram colhidas imagens para determinação da área de olho de lombo (AOL), da espessura de gordura subcutânea entre a 12ª e a 13ª costelas (EGS) e uma segunda imagem sobre o músculo *Bíceps femoris* entre o ílio e o ísquio para a determinação da espessura de gordura na picanha (EGP).

5.4. Abate e características de carcaça

O abate foi realizado no Matadouro Escola da USP, em Pirassununga/SP, de acordo com procedimentos humanitários, conforme requerido pela legislação brasileira. Os abates foram divididos em 4 grupos, sendo dois de 24 e dois de 23 animais.

Após o abate foram pesadas as gorduras perirenal, inguinal e pélvica (GRPI). As carcaças foram pesadas individualmente (PCQ) e, em seguida, resfriadas por 24 horas (0-2ºC).

5.5. Coletas das amostras de liquido e tecido ruminal

Durante o abate, após a evisceração, foram coletadas 200 ml de líquido ruminal, para a avaliação do pH, utilizando um potenciômetro digital portátil (HANNA instruments HI8424). O restante do liquido ruminal foi filtrado em 4 camadas de gaze e em seguida armazenado em freezer (-18 ºC) para posterior determinação da concentração de nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$) e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).

Também foi colhido um fragmento do rúmen correspondente a região do saco cranial para determinação da morfologia das papilas do rúmen. As amostras foram imediatamente imersas em frascos contendo uma solução tampão fosfato (PBS = 0,790g de NaCl; 0,223g de Na2HPO4; 0,0524g NaH_2PO_4; H_2O qsq 100 ml) 0,1 M, pH 7,4 e resfriadas, para a preservação das características biológicas.

5.6. Morfologia das papilas ruminais

As amostras das papilas ruminais foram avaliadas para mensuração do número de papilas/cm², área média das papilas, % área papilar e superfície total de absorção cm² de parede, conforme a metodologia descrita por (DANIEL; RESENDE JÚNIR; CRUZ, 2006).

5.7. Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e nitrogênio amoniacal

Para avaliação dos AGCC as amostras foram descongeladas a temperatura ambiente e centrifugadas a 14500 × g durante 10 min. O sobrenadante (800 µl) foi transferido para um frasco seco e limpo com 200 ul de ácido fórmico 98-100% PA ACS e 100 µL do padrão interno (ácido 2-etil-butírico 100 mM, Chemservice, USA). O padrão externo foi preparado com ácidos acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico (Chemservice, USA).

A determinação dos AGCC foram realizadas por cromatografia em fase gasosa (GC-2014, Shimadzu, Japão), através de uma coluna capilar (Stabilwax ®, Restek, EUA) a 145°C (isotérmica) e um injetor split/splitless e detector dual FID a 250°C, utilizando o método descrito por (Erwinet al. (1961), adaptado por Getachew et al. (2002)**.** Hélio foi utilizado como gás de arraste, o ar sintético como comburente e o hidrogênio como combustível.

O nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$) ruminal foi determinado através de análise de titulação. As amostras foram descongeladas e centrifugadas por 15 minutos a 3000 rpm. A destilação da amostra foi realizada com destilador micro Kjeldahl, através da transferência de 5 ml do sobrenadante para tubos de digestão, foi utilizado 10 ml de solução tetraborato de sódio a 5% no funil do aparelho e 10 ml de ácido bórico em balão de Erlenmeyer na saída do nitrogênio amoniacal. Foi utilizado o acido sulfúrico (0,05 N) na titulação (VIEIRA, 1980). A concentração em porcentagem do nitrogênio amoniacal foi obtida através da equação:

$$N_{\%} = \frac{normalidade\ H_2SO_4\ \times miliequivalente\ do\ N \times 100}{volume\ da\ amostra\ \times volume\ H_2SO_4}$$

Em que:

$Normalidade\ H_2SO_4 = 0{,}05$

$miliequivalente\ do\ N = 0{,}014$

$volume\ da\ amostra = 5\ ml$

$volume\ H_2SO_4 = volume\ de\ \text{ácido}\ sulfutrico, em\ ml, gastos\ para\ titula\text{ção}$

5.8. Qualidade de carne

Após 24 horas de resfriamento registou-se o pH das carcaças e, em seguida, a meia-carcaça direita foi dividida na região entre a 12ª e a 13ª costelas onde retirou-se uma amostra (2,5 cm de espessura cada) do músculo *Longissimus*, no sentido caudo-cranial, para realização de análises de qualidade da carne.

Após a retirada das amostras, as mesmas foram pesadas e expostas ao ambiente por 20 minutos e em seguida foi avaliada a cor objetiva da carne, utilizando o espectrofotômetro portátil Konica Minolta (CMD2500d; Konica Minolta Sensing, Inc, Tóquio, Japão), realizando o procedimento em três diferentes pontos da amostra usando a escala de cor CIELab (L*= luminosidade, a*= intensidade da cor vermelha, b*= intensidade da cor amarela.

Posteriormente foi inserido um termômetro no centro geométrico de cada amostra e as mesmas foram colocadas em forno elétrico industrial (Modelo F130/L – Fornos Elétricos Flecha de Ouro Ind. e Com. Ltda, São Paulo, Brasil) a 170°C até atingirem temperatura interna de 40°C, quando foram viradas e permaneceram até atingir a temperatura interna de 71°C, conforme recomendado pela American Meat Science Association (AMSA, 1995).

Em seguida, as amostras permaneceram em temperatura ambiente (22°C) até resfriarem, foram novamente pesadas, envolvidas em filme plástico e colocadas em geladeira (4-6°C) até o dia seguinte, quando foram retirados 6 a 8 cilindros (1,27 cm de diâmetro) de cada amostra, no sentido paralelo das fibras. Logo após, os cilindros foram cisalhados utilizando um equipamento Warner-Bratzler shear force para determinação da força de cisalhamento. A força de cisalhamento de cada amostra foi considerada como a média das 6 a 8 repetições.

5.9. Análise Estatística

O efeito dos fatores principais (granulomentria do milho e enzimas) e da interação, foram avaliados por análise de variância, através do procedimento Mixed do *software* SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observadas interações significativas entre os níveis da EFE e a granulometria do milho para nenhuma das características avaliadas.

6.1. Desempenho

A adição de EFE não afetou nenhuma das características de desempenho avaliadas (Tabela 3).

Mesmo em dietas com altas proporções de concentrado, o uso de EFE poderia auxiliar na melhoria do desempenho dos animais, pelo aumento da degradação das fibras, o que poderia aumentar o aporte de nutrientes para os animais, repercutindo positivamente no aumento do ganho de peso dos animais.

É possível que isso não tenha sido observado neste experimento, devido a pouca concentração de material fibroso no rúmen se quando comparado com as dietas de confinamento atuais, o que pode ter dificultado a formação do complexo substrato/enzima minimizando assim a degradação e elevação da disponibilidade de nutrientes no rúmen. É possível também que a adição de EFE ter elevado a digestão das fibras, porém devido a pouca concentração do nutriente na dieta, o aumento na disponibilidade nutricional foi pequeno, inviabilizando diferenças no GPD e EA, consequentemente no PVF.

Beauchemin et al. (1995) avaliaram o efeito do fornecimento de xilanases e celulases em dietas compostas de feno de alfafa (97%), feno Timothy (Phleum pratense; 91%) ou silagem de cevada (91%) em dietas para bezerros cruzados. Os autores relataram um aumento no ganho de peso (36%) dos animais que receberam dietas contendo maiores os aditivos (xilanases e celulases), apenas nas dietas contendo feno de alfafa, que de acordo com os autores, pode ter ocorrido em função do aumento da degradabilidade da fibra (17%).

Tabela 3: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de desempenho em confinamento, de acordo o nível de inclusão de enzima fibrolíticas exógenas e a moagem do milho.

Características	Granulometria		Níveis EFE			EPM	*Valor de P*		
	Fino	Grosso	0	0,37	0,74		Granulometria	Enzima	Granulometria x Enzima
Peso vivo inicial (kg)	401	402	402,0	402,5	399,9	3,52	0,9217	0,9181	0,9346
Peso vivo final (kg)	487	490	490,3	485,0	489,6	5,88	0,7305	0,8183	0,6662
Ingestão de matéria seca (kg/d)	12,2	13,0	12,94	12,47	12,41	0,43	0,1116	0,6767	0,3628
Ganho de peso (g/dia)	1.310	1.340	1.350	1.250	1370	80,00	0,7629	0,5625	0,4410
Eficiência alimentar (g de GPD/ kg de IMS)	100	90	100	90	100	5,25	0,3150	0,4339	0,5249

Por outro lado os altos níveis de enzimas fibrolíticas exógenas não promoveram melhora para as dietas a base de alfafa nos parâmetros avaliados, porém o maior nível de enzima (Tratamento 5), elevou o GPD em 36% resultante de um aumento de 17% na degradabilidade da fibra. O aumento no GPD não foi acompanhado por aumento na IMS, melhorando assim a conversão alimentar dos animais. Já nas dietas a base de silagem de cevada os níveis de EFE não provocaram diferenças nas características. Os autores concluíram que a relação entre a concentração enzimática e a resposta animal não foi linear e foi diferente para leguminosa e gramínea.

Krueger et al. (2008) também relataram que animais cruzados (Angus e Brangus) alimentados com feno de capim bermuda tratados com enzimas fibrolíticas durante o corte do capim ou junto a alimentação dos animais, não diferiram no GPD, IMS e EA, corroborando com os resultados do presente estudo.

Em outro estudo, Beauchemin et al. (2002) relataram maiores ganhos de peso (1,40 vs 1,53 kg/d) em animais suplementados com enzimas fibrolíticas exógenas (xilanase e celulase), contendo 7,8% silagem de cevada na dieta. Porém a ingestão de matéria seca e a conversão alimentar não foram diferentes. He et al. (2015) estudaram bovinos confinados alimentados com resíduo de destilaria, suplementados com enzimas fibrolíticas e relatam que a inclusão do complexo enzimático não alterou o ganho de peso ou peso final, porém observam uma tendência de redução da ingestão de alimento, justificada por uma maior digestibilidade da FDN resultando em uma pequena melhora na eficiência alimentar.

De modo geral a literatura aponta diversos trabalhos em que o desempenho dos animais é afetado por alimentação tratada com enzimas fibrolíticas (MICHAL; JOHNSON; TREACHER, 1996; PRITCHARD; C. HUNT; TREACHER., 1996; MCALLISTER et al., 1999)**,** porém todas as dietas utilizadas eram baseadas em altas inclusões de forragem, consequentemente dietas ricas em fibras.

De acordo com Beauchemin et al. (2003), existem evidencias em que dietas de alto grão ou que apresentem boa digestibilidade, como a utilizada neste experimento, a adição de enzimas não afete o desempenho animal, já que em dietas com essas características a energia não é nutriente limitante.

Portanto, é importante ressaltar que, existe a possibilidade de que o produto enzimático utilizado no presente estudo possa melhorar o desempenho de animais que estejam recebendo dietas com concentrações de volumosos superiores, ou em dietas que apresentem menor digestibilidade.

Não foram observadas diferenças estatísticas para nenhuma das características de desempenho avaliadas quanto à forma de moagem do milho (Tabela 3).

O processo de moagem incrementa a digestibilidade do milho, já que rompe barreiras físicas, diminuindo o tamanho da partícula e maximizam superfície de contato para a adesão microbiana, expondo mais os grânulos de amido ao ambiente ruminal e a digestão enzimática no intestino. No entanto, não foi verificado aumento quando o milho foi moído de forma mais fina. Isso pode ter ocorrido pela alta digestibilidade da dieta, que não a energia ou a digestibilidade da dieta, suprindo a demanda nutricional do animal.

Lucci et al. (2008), ao avaliarem a degradabilidade *in situ* de diferentes moagens de milho (grosseiramente quebrado, grosseiramente moído e finamente moído) em carneiros fistulados no rúmen, encontraram valores semelhantes de digestibilidade para os nutrientes da dieta, sendo diferentes apenas para extrato etéreo. Segundo os autores seria possível uma ação enzimática compensatória do intestino sobre o milho moído de forma mais grosseira.

Assim como o presente estudo, Swanson et al. (2014) não encontraram variações em PVF, GPD, IMS e EA, de bovinos que foram alimentados com milho moído a 2,68 mm e 1,46 mm, porém observaram que animais que recebiam a moagem mais grossa ingeriram mais alimento por visita ao cocho, além de passarem maior tempo bebendo água.

Vander Pol et al., (2008) também avaliaram o efeito do processamento do grão do milho (milho inteiro, finamente moído, grosseiramente quebrado, 50% de grosseiramente quebrado e 50% de milho floculado finamente moído), em dietas de elevada inclusão de concentrado. Os autores observaram menores PVF nos animais alimentados com milho finamente moído, seguido do milho floculado, sendo o maior valor de PVF observado no grupo que recebia o milho grosseiramente quebrado. A maior moagem do milho refletiu em diminuição da EA, juntamente com o milho grosseiramente quebrado, enquanto

que a junção do milho grosseiramente quebrado e finamente moído apresentou maiores valores de EA.

Engel et al. (2014) avaliaram o desempenho de bovinos confinados alimentados com diferentes inclusões de forragens juntamente com diferentes processamentos de moagem de milho, sendo elas, grão inteiro, *dry rolled* (milho quebrado) e finamente moído. Os autores não observaram diferenças no PVF e GPD, porém observaram maior ingestão de MS no grupo que recebeu milho inteiro comparado com o quebrado e finamente moído.

Lundy et al. (2015) estudaram novilhos confinados alimentados com duas distintas granulometrias de milho (2,35 mm e 0,50 mm) e silagem de milho, encontrando maiores PVF, IMS e GPD para o grupo que recebia o milho moído de forma mais grosseira, porém neste caso a granulometria não afetou a EA dos animais. Os autores concluíram que a moagem mais fina do milho resultou em fermentação mais rápida do alimento, resultando possivelmente em uma acidose subclínica e justificaram que a maior IMS no grupo que recebia milho 2,34 mm compensou a maior degradação do milho 0,50 mm.

Tricarico et al. (2007) estudaram bovinos cruzados confinados alimentados com milho finamente moído ou quebrado, recebendo doses de enzimas amilolíticas exógenas, não observaram interações entre os fatores, nem efeitos significativos da granulometria do milho sobre o GPD, IMS e EA.

Como citado anteriormente, a moagem do milho em diferentes granulometrias apresentam resultados contraditórios, ocorrendo grande variação dentro das características avaliadas por diferentes autores. Alguns fatores que podem variar as respostas estão ligadas diretamente ao milho como, o nível de inclusão e as diferenças entre as moagens. Porém, outros fatores não vinculados com o milho também podem influenciar, como a porcentagem de inclusão de volumosos, a matéria seca, a densidade energética e a digestibilidade das dietas.

6.2. Características avaliadas por ultrassonografia

Não foi observado efeito da adição de EFE para AOL (Tabela 4) e EGG (Tabela 6), porém verificou-se efeito significativo para a EGS (P=0,0073;

Tabela 5). Com relação ao tempo de confinamento, observou-se um crescimento linear para AOL (P<0,0001), EGS (P<0,0001) e EGP (P<0,0001).

Assim como o presente estudo, Beauchemin et al. (1997) verificaram AOL similar em bovinos cruzados alimentados a base de milho suplementados com EFE.

Foi observado efeito linear (P=0,0296) de EFE na EGS, tal fato demonstra que a adição de EFE pode elevar a deposição de gordura de cobertura, porém não foi observada a mesma resposta na EGP.

Poderia-se esperar maiores valores maiores de EGP e EGS para animais suplementados com o nível mais alto de EFE, visto que a adição de complexos enzimáticos eleva a degradação da fibra resultando em ácido acético no rúmen, juntamente com o lactato são os principais componentes das gorduras de acabamento (SMITH; CROUSE, 1984).

Beauchemin et al. (1997) não encontrou diferença na espessura de gordura de animais que receberam dietas com xilanases e celulases, em relação aos animais controle.

Krueger et al. (2008) também não encontraram diferenças de AOL, EGS, EGP ou gordura entremeada em novilhos cruzados (Angus x Brangus), alimentados com feno de capim bermuda, tratados com EFE e amônia.

A principal diferença entre o estudo realizado por Beauchemin et al. (1997) e Krueger et al. (2008) e este é o grupo racial, os animais utilizados no presente estudo são de origem zebuína, e possuem maior dificuldade para a deposição de gordura, portanto o pouco incremento energético promovido pela a adição das EFE foi direcionado para a deposição de gordura, diferentemente do que aconteceu com o estudo de Beauchemin et al. (1997), onde o autor não encontra variações na deposição de gordura.

Não houve efeito da granulometria do milho para sobre nenhuma das características de carcaça avaliadas por ultrassonografia.

Os resultados encontrados nesse experimento estão de acordo com os relatados por Engel et al. (2014) que não observaram efeito da granulometria do milho ou do nível de forragem sobre a AOL ou EGS.

Por outro lado Vander Pol et al. (2008), encontram maiores EGS em bovinos alimentados com milho quebrado, inteiro e úmido, comparados com as

fontes moída finamente ou floculado. Porém os autores não encontram valores de diferenças estatísticas para AOL.

Lundy et al. (2015) comparam as carcaças de animais alimentados com 35% de resíduo de destilaria contendo milho quebrado ou moído, e também não encontram diferenças estatísticas na AOL e EGS, entretanto o PCQ foi maior nos animais que receberam milho quebrado.

Tabela 4: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades da área de olho de lombo avaliada por ultrassonografia em função do tempo e de acordo com a inclusão de enzima e granulometria do milho.

Características		Tempo de confinamento, em dias				Média Geral	EPM	*Valor de P*		
		0	28	56	71			Granulometria	Enzima	Granulometria x Enzima
Área de olho de lombo, em cm²	Nível			Enzima			0,85	0,7277	0,0760	0,7875
	0,00	55,38	62,66	66,74	69,59	63,59				
	0,37	57,31	63,39	66,86	70,65	64,55				
	0,74	57,54	63,62	69,04	71,10	65,33				
				Granulometria						
	Fino	56,62	63,41	67,21	70,29	64,38				
	Grosso	56,87	63,04	67,89	70,60	64,60				
				Tempo						
	Geral	56,75	63,22	67,55	70,45	64,49				

Tabela 5: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades da espessura de gordura subcutânea avaliada por ultrassonografia em função do tempo e de acordo com a inclusão de enzima e granulometria do milho.

Características		Tempo de confinamento, em dias				Média Geral	EPM	*Valor de P*		
		0	28	56	71			Granulometria	Enzima	Granulometria x Enzima
Espessura de gordura subcutânea, em mm[1]	Nível			Enzima			0,45	0,9643	**0,0073**	0,1746
	0,00	0,99	1,03	2,19	2,87	1,77				
	0,37	1,04	1,55	2,07	2,92	1,89				
	0,74	1,11	1,92	3,09	3,29	2,35				
				Granulometria						
	Fino	1,09	1,41	2,51	3,00	2,00				
	Grosso	1,01	1,58	2,39	3,05	2,01				
				Tempo						
	Média Geral	1,05	1,50	2,45	3,02	2,01				

[1] $y = 1,5176 + 0,2176x$ ($P=0,0296$; $r^2=0,64$)

Tabela 6: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades da espessura de gordura subcutânea na garupa avaliada por ultrassonografia em função do tempo e de acordo com a inclusão de enzima e granulometria do milho.

Características		Tempo de confinamento, em dias,				Média Geral	EPM	*Valor de P*		
		0	28	56	71			Enzima	Granulometria	Enzima* Granulometria
	Nível			Enzima						
	0,00	0,84	2,58	3,65	4,52	2,89				
Espessura de gordura subcutânea na garupa, em mm	0,37	0,84	2,80	3,84	4,46	2,98				
	0,74	0,83	2,87	4,46	5,45	3,40				
				Granulometria			0,84	0,2395	0,1515	0,3968
	Fino	2,33	3,06	4,14	4,96	3,62				
	Grosso	2,11	2,43	3,82	4,65	3,25				
				Período						
	Geral	1,39	2,75	3,98	4,81	3,23				

6.3. Características de carcaça

Também não foram observadas diferenças entre os tratamentos para o peso de carcaça quente, rendimento de carcaça e pH, porém animais que receberam as dietas com EFE apresentaram maior peso (P=0,0304) e percentagem de GRPI (P=0,0275). Foi observado efeito quadrático para GRPI tanto para fatores absolutos expressos em kg (P=0,0174; $y=2,7648 – 0,6765x + 1,3813x^2$), quanto para os valores expressos em porcentagem (P=0,0203; $y= 8.0468 – 3,1284x + 5,6147x^2$).

Os maiores valores de GRPI encontrados no grupo que recebeu 0,74% de EFE estão de acordo com os resultados encontrados na EGS por ultrassom, visto que em ambas as características os animais apresentaram valores maiores, indicando o aumento da deposição de gordura em animais suplementados com o nível máximo de inclusão de EFE.

Sabe-se que a deposição de gordura não é feita de forma uniforme em suas porções, sendo elas interna (renal, pélvica e inguinal), intermusculares (entres os grupamentos musculares), subcutânea (de cobertura) e intramuscular (marmoreio). Pethick et al. (2004) afirma que a deposição de gordura ocorre de forma subsequente, iniciando com a gordura interna, segunda por intermuscular, subcutânea e por último a intramuscular, portanto, é esperado que animais que apresentem maior deposição de gordura de acabamento também apresentem valores superiores de gordura interna.

Ao estudar o efeito de EFE nas características de carcaça de animais alimentados com milho ou cevada Beauchemin et al. (1997) não encontraram diferenças significativas na gordura renal total, apesar dos valores dos grupos que receberam complexos enzimáticos com maior proporção de celulase apresentar valores numericamente maiores independente da fonte energética (9,1 kg vs 10,5 kg).

Tabela 7: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de carcaça, de acordo o nível de inclusão de enzima fibrolíticas exógenas (EFE) e a granulometria do milho.

Características	Granulometria		Níveis EFE			EPM	*Valor de P*		
	Fino	Grosso	0	0,37	0,74		Granulometria	Enzima	Granulometria x Enzima
Peso de carcaça quente, kg	287,9	290,4	291,6	286,2	289,7	3,74	0,6047	0,6261	0,5564
Rendimento de carcaça, %	59,1	59,3	59,5	59	59,2	0,27	0,5357	0,5457	0,4303
pH após 24 horas	5,8	5,7	5,6	5,8	5,6	0,02	0,7346	0,6889	0,8114
Gordura renal, pélvica e inguinal, kg	8,1	8,2	8	7,6	8,8	0,30	0,8808	0,0314	0,1679
Gordura renal, pélvica e inguinal, % do peso de carcaça quente	2,8	2,8	2,8	2,6	3,0	0,09	0,9962	0,0279	0,2281

Como é sabido, as subdosagens de enzimas são ineficientes para provocar alguma elevação na degradabilidade da dieta. Tal resultado pode indicar que uma elevação na inclusão de EFE na dieta poderia elevar a degradabilidade e a ausência de efeito da inclusão de EFE pode ter ocorrido devido à indisponibilidade do complexo enzimático juntamente com a pouca fração fibrosa da dieta. Porém os valores maiores de GRPI não afetaram o rendimento de carcaça.

Vargas et al. (2008)**,** observaram maiores rendimentos de carcaça quente em bovinos que receberam dietas contendo quatro níveis de enzima fibrolíticas em relação aos animais do grupo controle. As dietas eram compostas por 88% de concentrado e 12% de volumoso (palha de milho picada).

Poucos estudos encontrados na literatura apontam relação entre a suplementação com EFE com características de carcaça. Beauchemin et al. (1997) não encontraram diferenças no rendimento de carcaça e gordura renal de bovinos que receberam suplementação de EFE. Os mesmos autores relataram maior proporção de osso em animais que não receberam EFE, e justificaram que os animais que receberam a suplementação tiveram maior deposição de musculo e gordura.

Não foram observadas diferenças para as características de carcaça avaliadas em função da granulometria do milho (Tabela 7)**.**

Vander Pol et al. (2008) relataram maiores PCQ e GRPI% em animais alimentados com milho grosseiramente quebrado, quando comparados com outros graus de moagem de milho mais finos, porém o RC não foi alterado.

Por outro lado, Swanson et al. (2014) observaram mesmo PCQ em animais alimentados com dietas em que o milho havia sido moído em 2,68 mm e 1,46 mm. Assim como o presente estudo, os autores não haviam encontrado diferenças estatísticas nas mensurações de PVF.

Engel et al. (2014) também não observaram diferenças estatísticas no PCQ de bovinos alimentados com diferentes moagens de milho, porém encontraram valores de GRPI superiores em animais que recebiam milho inteiro, não ocorreu diferenças na GRPI de animais que recebiam milho grosseiramente quebrado ou finamente moído.

Assim como o observado nos dados de desempenho, os efeitos das diferentes moagens de milho podem apresentar grande variação de resultados nas características de carcaça, sendo que são observados efeitos significativos principalmente quando ocorrem diferenças estatísticas no PVI, GPD ou IMS. No presente estudo a falta de diferenças na carcaça dos grupos pode ser justificada pela igualdade dos grupos durante a fase de confinamento.

6.4. Qualidade de Carne

Não foi observado efeito dos níveis de EFE para nenhuma das características relacionadas a qualidade da carne avaliadas neste estudo (Tabela 8).

Os valores de médios de b* encontrados nesse experimento (13,4) estão ligeiramente acima da média citada para carne bovina, que é de 6,1 a 11,3 (MUCHENJE et al., 2009), podendo ser influenciada pelo pH final da carne (MUCHENJE et al., 2009), possuindo uma correlação negativa (VESTERGAARD et al., 2000).

A maciez é considerada uma característica muito importante, já que o consumidor está disposto a pagar mais por um produto com maciez garantida. Segundo Beauchemin et al. (1997) a adição de EFE resultou em aumento da força de cisalhamento (FC) nas dietas contendo milho, porém efeito contrário foi observado nas dietas contendo cevada, onde a adição de EFE diminuiu a FC. Os autores concluíram que os efeitos da adição de EFE sob a qualidade de carne ainda não são bem conhecidos e que precisam ser estudados novamente.

Não existem indícios que a inclusão de EFE alteraria a maciez de forma direta, possivelmente a diminuição da força de cisalhamento pode estar ligada a maior deposição de gordura, visto que maiores quantias de gordura na carne estão relacionadas a menores forças de cisalhamento (MILLER, 2001).

Não foram encontrados relatos em alterações da coloração da carne em animais suplementados com EFE, essa variação pode ser considerada pequena e não perceptível a avaliação visual.

Tabela 8: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de qualidade de carne, de acordo o nível de inclusão de enzima fibrolíticas exógenas (EFE) e a granulometria do milho.

Características	Granulometria		Níveis EFE			EPM	*Valor de P*		
	Fino	Grosso	0	0,37	0,74		Granulometria	Enzima	Granulometria x Enzima
L*	33,1	32,8	33,4	32,2	33,2	0,59	0,6696	0,3951	0,7805
a*	13,9	13,6	13,6	14	13,8	0,37	0,5241	0,8347	0,0827
b*	13,3	13,2	13,5	13,2	13,4	0,36	0,6837	0,8265	0,2195
Força de cisalhamento (kg)	8,3	7,8	8,2	8,2	7,8	0,27	0,1625	0,6399	0,3665
Perdas por cocção (%)	27,2	25,8	26,9	26	26,4	0,67	0,0683	0,6746	0,3651

Assim como o presente estudo Faucitano et al. (2011) não encontraram diferenças no pH, cor (L*, a*, b*), PPC, perda por gotejamento de bovinos alimentados com milho quebrado ou moído e dois processamentos de farelo de soja.

O incremento energético gerado pelo processamento do milho também poderia afetar a FC de forma indireta, já que elevando a deposição de gordura poderia elevar o EGS, responsável por atuar como um isolante térmico, reduzindo a velocidade de resfriamento da carcaça e problemas de *cold shortening.*

6.5. Fermentação ruminal

Não foi verificado efeito significativo de EFE para nenhuma das características de fermentação ruminal avaliadas (Tabela 9).

Possivelmente a falta de efeito significativo nas concentrações de AGCC e N-NH_3 estão ligados ao tempo de jejum utilizado antes do abate. Como a coleta foi realizada após o abate e os animais estavam de jejum aproximado de 14 horas provavelmente as concentrações de N-NH_3 e AGCC já estariam estabilizados.

Valores de concentração máxima de N-NH_3 foram encontrados obtidos após duas horas da alimentação em novilhos Nelore suplementados com EFE (VALADARES, 1997; MARTINS; VIEIRA; BERCHIELLI, 2006). Os valores de N-NH_3 encontrados nesse experimento não limitaram o crescimento microbiano, visto que valores abaixo de 5mg/100 ml são considerados limitantes segundo Satter & Slyter, (2007). Entretanto os valores de N-NH_3 variam ao longo do tempo, devido à disponibilidade de substrato e a taxa de fermentação dos carboidratos encontrados na dieta, podendo ser considerados níveis ótimos 10 mg/100ml (VAN SOEST, 1982).

Em geral a inclusão de EFE nas dietas elevam o pH ruminal quando avaliadas após 4 ou 8 horas da alimentação (ÁLVAREZ et al., 2009), além de elevar a proporção de acetato (BEAUCHEMIN et al., 2000; GADO et al., 2009).

Tabela 9: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de fermentação ruminal de bovinos em confinamento, de acordo o nível de inclusão de enzima fibrolíticas exógenas (EFE) e a granulometria do milho

Características	Granulometria		Níveis EFE			EPM	*Valor de P*		
	Fino	Grosso	0	0,37	0,74		Granulometria	Enzima	Granulometria x Enzima
pH ruminal	6,3	6,2	6,2	6,2	6,2	0,06	0,6769	0,9714	0,2535
Ácido Acético (mM)	47,7	59,2	54,2	55,1	50,9	4,71	0,0624	0,8369	0,8335
Ácido Propiônico (mM)	20,5	20,2	22,1	18,2	20,8	2,84	0,9259	0,6559	0,0693
Ácido Isobutírico (mM)	1,4	1,6	1,7	1,6	1,3	0,13	0,0967	0,1423	0,4458
Ácido Butírico (mM)	10,0	12,9	12,3	11,2	10,9	1,35	0,1572	0,7887	0,9257
Ácido Isovalérico (mM)	2,1	2,3	2,4	2,3	2	0,24	0,4582	0,4792	0,3904
Ácido Valérico (mM)	2,3	1,7	2,8	1,3	1,9	0,54	0,4235	0,1965	0,3157
Nitrogênio amoniacal	5,9	6,04	6,32	6,13	5,58	1,36	0,9686	0,7983	0,1468

Gado et al. (2009) encontraram maiores valores de ácido propiônico aproximadamente 13,6% em animais que receberam EFE após 3 horas da alimentação, os valores de acetato foram 6,6% maiores no grupo suplementado, indicando ação fibrolítica do complexo enzimático utilizado. Outros autores também relatam aumento nos valores de acetato (LEWIS et al., 1996; WANG et al., 2007).

Ao estudar a degradabilidade ruminal *in vitro* (ROMERO et al., 2016) com a adição 12 complexos enzimáticos com ações fibrolíticas diferentes, observaram aumento da concentração de todos os AGCC, porém os valores de N-NH_3 foram maiores em apenas um dos tratamentos.

Aparentemente a adição de EFE na alimentação animal influencia os padrões fermentativos (LEWIS et al., 1996; HE et al., 2013; SALEM et al., 2013), porém as diferenças encontradas na literatura correspondem a um per[iodo de oito horas após a alimentação(LEWIS et al., 1996; HE et al., 2013; SALEM et al., 2013; LEWIS et al., 1996; WANG et al., 2007). É possível que no presente estudo isso não tenha sido observado em função da coleta das amostras ter sido realizada após o abate (12 horas após a alimentação).

Não foram observadas variações no pH ruminal, AGCC e NH_3 em função das diferentes moagens de milho (Tabela 8).

Segundo Secrist et al. (1996) pode ser observado diferentes valores de pH ruminal em animais que são alimentados com milho moído de forma mais fina e quebrados de forma grosseira, reportando valores acima de 6,0 para animais que receberam milho quebrado. Valores próximos ao observado em ambos os grupos 6,3 e 6,2 respectivamente milho moído e quebrado. Porém os autores também descreveram uma drástica queda do pH nas 12 horas subsequente a alimentação, para os animais do grupo que recebeu milho moído.

No caso do presente estudo, a variação na granulometria do milho não influenciou o pH ruminal. Tal efeito pode ser justificado devido ao intervalo entre a alimentação e a coleta das amostras, possibilitando a ação de sistemas tamponantes como o bicarbonato, fosfato, hemoglobina, amônia e proteínas (OWENS et al., 1998), além de absorção de AGCC e outros metabólicos acidificantes do rúmen, visto que a variação do pH ruminal está diretamente

relacionado com as concentrações dos AGCC(FILHO; PINA; FERMENTAÇÃO, 2006)

Franzoni (2012) avaliou bezerros Holandeses de 60 dias de idade alimentados com milho processado de diferentes formas, farelado, floculado e quebrado e observou que o grupo que recebeu milho floculado apresentou menor valor médio de pH ruminal em coletas realizadas 4 horas após a alimentação.

Também não foram observadas variações na concentração dos AGCC em função das diferentes granulometrias do milho. Esse resultado é coerente com o observado para o pH, visto que o acúmulo de AGCC abaixa o pH do fluído ruminal, porém em condições fisiológicas normais, são absorvidos rapidamente pelo o epitélio ruminal (BERGMAN, 1990). Provavelmente a rápida absorção dos AGCC pelo epitélio ruminal tenha igualado as concentrações nos diferentes tratamentos, aliados com o longo período entre a alimentação e a coleta das amostras.

Maiores partículas de milho estão ligadas com maiores produção de ácido acético e menores concentrações de ácido propiônico e butírico (FRANZONI, 2012). A relação inversa do tamanho da partícula do milho e a produção de propionato é justificada pela a intensificação da degradabilidade conforme a moagem se torna mais fina, o aumento na produção de propionato em dietas mais degradáveis é amplamente relatada (PLASCENCIA; ZINN, 1996; JOY et al., 1997; CROCKER et al., 1998; LESMEISTER; HEINRICHS; GABLER, 2004).

Não foi observado diferença no $N\text{-}NH_3$ entre os diferentes grupos. Tal resultado está de acordo com os observados no pH e no AGCC. A redução na concentração de $N\text{-}NH_3$ está ligada a dietas que possuem maior degradabilidade do amido (ALDRICH et al., 1993), e também a maior utilização do $N\text{-}NH_3$ pela microbiota ruminal que aumenta a atividade em cenários em que possuem maior disponibilidade de AGCC. Porém o aumento na produção de AGCC pode diminuir de forma drástica o pH ruminal, reduzindo a atividade proteolítica e a capacidade das bactérias desaminar aos aminoácidos, resultando na queda da produção ruminal do nitrogênio amoniacal (LANA; RUSSELL; VAN AMBURGH, 1998).

Segundo Dias (1999) a concentração de $N\text{-}NH_3$ ótima para o desenvolvimento microbiano é 3,3 e 8,0 mg/dl, por outro lado, Preston & Leng (1987) acreditam que valores inferiores a 5 mg/dL já afetam de forma negativa a capacidade do rúmen degradar o material fibroso. Todavia, os valores encontrados no presente estudo são superiores a ambos os valores mínimos citados, indicando que nenhum dos tratamentos poderia provocar redução na degradação ruminal.

De maneira geral, os diferentes grãos de moagens testados não afetaram o pH, AGCC ou $N\text{-}NH_3$, porém vale ressaltar que o intervalo entre a ultima alimentação e a coleta provavelmente é a justificativa pela ausência de resultados diferentes, e que os dados das análises não representam de forma adequada a dinâmica ruminal.

6.6. Morfologia Ruminal

Não foi verificado efeito dos tratamentos para nenhuma das características de morfologia ruminais avaliadas (**Erro! Fonte de referência ão encontrada.**10).

As papilas ruminais apresentam grande importância para o ruminantes, visto que são responsáveis pelo mecanismo de movimentação da digesta (D'ARCE; FLECHTMANN, 1980) e o aumento da área absortiva (BANKS, 1991; DUKES, 1993)**.** Seu desenvolvimento é estimulado de forma física por alimentos sólidos e através da produção de AGCC (SANDER et al., 1959; HARRISON et al., 1960; TAMATE et al., 1962)**.** O desenvolvimento é dado principalmente pala concentração de ácido butírico, o mais importante, seguido por ácido propiônico e por ultimo o acético (SANDER et al., 1959; TAMATE et al., 1962)**.**

Não eram esperadas diferenças estatísticas na morfologia ruminal para o fator EFE, visto que o complexo enzimático tem como objetivo elevar a fermentação das fibras, principal substrato para a produção de acetato, que dentre os AGCC é o que possui menor importância para o desenvolvimento papilar. Além disso a baixa concentração de fibras na dieta pode ter contribuído para a pouca produção de acetato.

Tabela 10: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de morfologia ruminal, de acordo o nível de inclusão de enzima fibrolíticas exógenas (EFE) e a granulometria do milho

Características	Granulometria		EPM	Níveis EFE			EPM	*P-Valor*		
	Fino	Grosso		0	0,37	0,74		Granulometria	Enzima	Granulometria x Enzima
Área média das papilas, cm²	0,36	0,38	0,02	0,38	0,37	0,35	0,36	0,5172	0,6726	0,3835
Número de papilas/cm² de parede	34,61	32,81	2,31	35,42	33,2	32,5	2,83	0,5893	0,7593	0,9353
Área Papilar (% da superfície de absorção)	90,48	91,28	0,7	91,38	91,13	90,11	0,85	0,4152	0,5358	0,8793
Superfície de absorção, cm²/cm² de parede	12,55	12,56	0,82	13,19	12,86	11,61	1,01	1,000	0,5158	0,7802

Não foi observado efeito da granulometria do milho sobre a morfologia ruminal (Tabela 10). A ausência de efeito na morfologia ruminal não era esperada, uma vez que o processamento dos grãos cereais proporcionam um aumento no aporte de carboidratos não fibrosos, elevando a produção de AGCC, principalmente o butirato e propionato, que são os principais fatores atuante na variação do tamanho da papila (TAMATE et al., 1962; BRENT, 1976; OWENS et al., 1998; DANIEL; RESENDE JÚNIR; CRUZ, 2006).

Por outro lado, a ausência de efeito significativo está de acordo com os dados encontrados na IMS e AGCC, visto que valores superiores de IMS iriam resultar em maior produção de AGCC, que são os responsáveis pela diferenciação papilar, todas essas características também demostram coesão com o pH ruminal. (BRENT, 1976; DANIEL; RESENDE JÚNIR; CRUZ, 2006)

Alterações na composição e na forma de alimentação podem influenciar a estrutura do rúmen, como o comprimento, largura e números de papilas e espessura da parede ruminal. Porém, o epitélio e a musculatura ruminal crescem e se desenvolvem de forma independente, indicando que os fatores que influenciam a dieta podem ou afetar um ou outro (LESMEISTER; HEINRICHS; GABLER, 2004). Entretanto o desenvolvimento numérico da célula não é o único fator determinante para o desenvolvimento do tamanho papilar. O maior fluxo sanguíneo no rúmen, resultante de uma maior alimentação e necessidade de maior absorção, pode resultar no crescimento papilar (DANIEL; RESENDE JÚNIR; CRUZ, 2006).

Como verificado, as diferentes moagens de milho não afetaram a produção de AGCC, tornando o desenvolvimento papilar igual em ambos os grupos experimentais, além disso, durante o processo de mastigação e ruminação pode ter ocorrido a diminuição das partículas de milho reduzindo a diferenças de tamanho quando comparado com o milho moído finamente.

7. CONCLUSÕES

Não houve interação entre o nível de EFE e a granulometria do milho, indicando que os dois fatores atuam de forma independentes nas características avaliadas.

A adição de enzimas fibrolíticas exógenas não alterou o desempenho, qualidade de carne, morfologia e fermentação ruminal, porém elevou a deposição de gordura interna e de acabamento.

As diferentes granulometrias do milho não afetaram o desempenho, qualidade de carne, características de carcaça, morfologia e fermentação ruminal dos animais.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDRICH, J M e colab. **Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow, and performance of dairy cows.** Journal of dairy science, v. 76, n. 4, p. 1091–1105, 1993. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77438-X>.

ÁLVAREZ, G. e colab. **Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal digestibility in steers fed high fiber rations**. Livestock Science, v. 121, n. 2, p. 150–154, 2009.

BANKS, W. **Histologia Veterinária Aplicada**. São Paulo: Editora Manole, 1991.

BEAUCHEMIN, K.A. e colab. **Evaluation of a Nonstarch Polysaccharidase Feed Enzyme in Dairy Cow Diets**. Journal of Dairy Science, v. 83, n. 3, p. 543–553, Mar 2000. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030200749149>. Acesso em: 7 set 2016.

BEAUCHEMIN, K. A. e colab. **Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants**. Journal of Animal Science, v. 81, n. 14_suppl_2, p. E37–E47, 2002. Disponível em: <https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/81/14_suppl_2/E37?access=0&view=article>.

BEAUCHEMIN, K. a. e RODE, L. M. e SEWALT, V. J. H. **Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages**. Canadian Journal of Animal Science, v. 75, n. 4, p. 641–644, 1995.

BEAUCHEMIN, K A e colab. **Effects of fibrolytic enzymes in corn or barley diets on performance and carcass characteristics of feedlot cattle**. Canadian Journal of Animal Science, 1997.

BEAUCHEMIN, K A e colab. **Use of Exogenous Fibrolytic Enzymes to Improve Feed Utilization by Ruminants 1 , 2**. Journal of Animal Science, n. 81, p. 37–47, 2003.

BERGMAN, E N. **Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species.** Physiological reviews. [S.l: s.n.]. , 1990

BRENT, B. E. **Relationship of acidosis to other feedlot ailments.** Journal of animal science, v. 43, n. 4, p. 930–935, 1976.

CROCKER, L M e colab. **Influence of processed corn grain in diets of dairy cows on digestion of nutrients and milk composition.** Journal of dairy science, v. 81, n. 9, p. 2394–407, 1998. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9785231>.

CRUYWAGEN, C. W. e GOOSEN, L. **Effect of an exogenous fibrolytic enzyme on growth rate, feed intake and feed conversion ratio in growing lambs**. South African Journal of Animal Sciences, v. 34, n. 6SUPPL.2, p. 71–

73, 2004.

D'ARCE, R.D. e FLECHTMANN, C.H.W. **Introdução à anatomia e fisiologia animal**. São Paulo : [s.n.], 1980.

DANIEL, J.L.P. e RESENDE JÚNIR, J.C. e CRUZ, F.J. **Participação do ruminoretículo e omaso na superfície absortiva total do proventrículo de bovinos**. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 43, n. 5, p. 688–694, 2006.

DIAS, H.L.C. **Consumo, digestibilidades aparentes totais e parciais de dietas contendo diferentes níveis de concentrado, em novilhos F1 Limousin x Nelore.pdf**. Viçosa, MG: Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.

DUKES, H.H. **Fisiologia dos animais domésticos.** 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.

ENGEL, C. L. e ANDERSON, V. L. e SCHAUER, C. S. **Effects of corn particle size and forage level on performance and carcass traits of yearling steers during finishing**. 2014 North Dakota Beef Report, p. 22, 2014. Disponível em: <http://www.ag.ndsu.edu/pubs/ansci/beef/AS1736-07.pdf\nhttps://www.ag.ndsu.edu/pubs/ansci/beef/AS1736-07.pdf>.

ERWIN, E.S. e MARCO, G.J. e EMERY, E.M. **Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography**. Journal of Dairy Science. [S.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022030261899566/fulltext>. , 1961

FAUCITANO, L. e colab. **Effects of corn grain particle size and treated soybean meal on carcass and meat quality characteristics of beef steers finished on a corn silage diet**. Meat Science, v. 88, n. 4, p. 750–754, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.03.008>.

FILHO, VALADARES e PINA, S. C.; e FERMENTAÇÃO, D. S. **Fermentação ruminal**. Jaboticabal: Funep, 2006.

FRANZONI, ANA PAULA SALDANHA. **Efeito do processamento do milho no desenvolvimento do rúmen , desempenho de bezerros e digestibilidade in vitro do grão**. 2012.

GADO, H.M. e colab. **Influence of exogenous enzymes on nutrient digestibility, extent of ruminal fermentation as well as milk production and composition in dairy cows**. Animal Feed Science and Technology, v. 154, n. 1, p. 36–46, 2009.

GALYEAN, M L e WAGNER, D G e OWENS, F N. **Corn particle size and site and extent of digestion by steers**. Journal of Animal Science, v. 49, n. 1, p. 204–210, 1979.

GETACHEW, G. e MAKKAR, H. P. S. e BECKER, K. **Tropical browses: contents of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas**

production. The Journal of Agricultural Science. [S.l: s.n.]. , 2002

HARRISON, H.N. e colab. **Changes in the Tissue and Volume of the Stomachs of Calves Following the Removal of Dry Feed or Consumption of Inert Bulk**. Journal of Dairy Science, v. 43, n. 9, p. 1301–1312, Set 1960. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030260903179>. Acesso em: 7 set 2016.

HE, Z X e colab. **Effect of wheat dried distillers grains with solubles and fibrolytic enzymes on ruminal fermentation , digestibility , growth performance , and feeding behavior of beef cattle 1**. p. 1218–1228, 2015.

HE, Zhixiong e colab. **Using exogenous enzymes to increase the rumen degradability of wheat dried distillers grains with solubles**. Archives of Animal Nutrition, v. 67, n. 5, p. 381–392, 2013.

JOY, M.T. e colab. **Effects of Corn Processing on the Site and Extent of Digestion in Lactating Cows**. Journal of Dairy Science, v. 80, n. 9, p. 2087–2097, 1997. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002203029776154X>.

JUDKINS, M. B. e STOBART, R. H. **Influence of two levels of enzyme preparation on ruminal fermentation, particulate and fluid passage and cell wall digestion in wether lambs consuming either a 10% or 25% grain diet.** Journal of animal science. [S.l: s.n.]. , 1988

KRUEGER, N. A. e colab. **Effect of method of applying fibrolytic enzymes or ammonia to Bermudagrass hay on feed intake, digestion, and growth of beef steers**. Journal of Animal Science, v. 86, n. 4, p. 882–889, 2008.

LANA, R P e RUSSELL, J B e VAN AMBURGH, M E. **The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production.** Journal of animal science, v. 76, n. 8, p. 2190–2196, 1998.

LESMEISTER, K.E. e HEINRICHS, A.J. e GABLER, M.T. **Effects of Supplemental Yeast (Saccharomyces cerevisiae) Culture on Rumen Development, Growth Characteristics, and Blood Parameters in Neonatal Dairy Calves**. Journal of Dairy Science, v. 87, n. 6, p. 1832–1839, 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15453499>.

LEWIS, G. E. e colab. **Effect of Direct-Fed Fibrolytic Enzymes on the Digestive Characteristics of a Forage-Based Diet Fed to Beef Steers**. Journal of Animal Science, v. 74, n. 12, p. 3020–3028, 1996.

LUCCI, C. S. e colab. **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.

LUNDY, Erika L e colab. **Influence of Corn Particle Size on Steer Performance and Carcass Characteristics When Fed Diets with Moderate Inclusions of Wet Distillers Grains plus Solubles Influence of Corn Particle Size on Steer Performance and Carcass Characteristics When Fed Diets**. v. 661, p. 1–5, 2015.

MARTINS, Adriana De Souza e VIEIRA, Paulo De Figueiredo e BERCHIELLI, Telma Teresinha. **Revista Brasileira de Zootecnia Taxa de passagem e parâmetros ruminais em bovinos suplementados com Passage rate and ruminal parameters in cattle supplemented with fibrolytic enzymes**. 2006.

MCALLISTER, T. a. e colab. **Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle**. Can. J. Anim. Sci., v. 79, n. 3, p. 353–360, 1999.

MICHAL, J.J. e JOHNSON, K.A. e TREACHER, R.J. et al. **The impact of direct fed fibrolytic enzymes on the growth rate and feed efficiency of growing beef steers and heifers**. Journal of Animal Science, v. 74, p. 296, 1996.

MILLER, R.K. **Obtendo carne de qualidade consistente**. CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, n. anais, p. 123–142, 2001.

MUCHENJE, V. e colab. **Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review.** Food Chemistry, v. 112, p. 279–289, 2009.

OWENS, F. N. e colab. **Acidosis in Cattle: A Review**. Journal of Animal Science, v. 76, n. 1, p. 275–286, 1998.

PAES, Maria Cristina Dias. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho.** EMBRAPA.Circular Tecnica 75, v. 75, p. 6, 2006.

PETHICK, D. W. e HARPER, G. S. e ODDY, V. H. **Growth, development and nutritional manipulation of marbling in cattle: A review**. Australian Journal of Experimental Agriculture, v. 44, p. 705–715, 2004.

PLASCENCIA, A. e ZINN, R. A. **Influence of Flake Density on the Feeding Value of Steam-Processed Corn in Diets for Lactating Cows**. Journal of Animal Science, v. 74, n. 2, p. 310–316, 1996.

PRESTON, T R e LENG, R A. **Matching ruminant production system with available resources in the tropics and sub-tropics**. [S.l: s.n.], 1987.

PRITCHARD, G. e C. HUNT, A. Allen e TREACHER., R. **Effect of direct – fed fibrolytic enzymes on digestion and growth performance in beef cattle.** Journal of Animal Science, v. 74, p. 296, 1996. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1521689610000455>.

RODE, L.M. e YANG, W.Z. e BEAUCHEMIN, K.A. **Fibrolytic Enzyme Supplements for Dairy Cows in Early Lactation**. Journal of Dairy Science, v. 82, n. 10, p. 2121–2126, 1999.

ROMERO, J.J. e colab. **Screening exogenous fibrolytic enzyme preparations for improved in vitro digestibility of bermudagrass haylage**. Journal of Dairy Science, v. 98, n. 4, p. 2555–2567, 2015.

ROMERO, J J e colab. **Improving the performance of dairy cattle with a xylanase-rich exogenous enzyme preparation**. J. Dairy Science, v. 99, p.

3486–3496, 2016.

SALEM, A. Z M e colab. **Effects of exogenous enzymes on nutrient digestibility, ruminal fermentation and growth performance in beef steers**. Livestock Science, v. 154, n. 1–3, p. 69–73, 2013.

SANDER, E.G. e colab. **The Stimulatory Effect of Sodium Butyrate and Sodium Propionate on the Development of Rumen Mucosa in the Young Calf**. Journal of Dairy Science, v. 42, n. 9, p. 1600–1605, Set 1959. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030259907726>. Acesso em: 7 set 2016.

SATTER, L. D e SLYTER, L. L. **Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro**. British Journal of Nutrition, v. 32, n. 2, p. 199, 2007. Disponível em: <http://journals.cambridge.org/abstract_S0007114574000742>.

SECRIST, D. S. e OWENS, F. N. e W. J. HILL S. D. WELTY. **ROLLED VERSUS WHOLE CORN: EFFECTS ON RUMINAL FERMENTATION OF F**. Animal Science Research Report, v. 32, p. 181–188, 1996.

SECRIST, D.S. e colab. **EFFECTS OF CORN PARTICLE SIZE ON FEEDLOT STEER PERFORMANCE AND CARCASS CHARACTERISTICS**. Animal Science Research Report, v. 31, p. .99–104, 1995.

SMITH, S.B. e CROUSE, D.J. **Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue**. The Journal of Nutrition, v. 144, p. 792–800, 1984.

SWANSON, K. C. e colab. **Influence of dry-rolled corn processing and increasing dried corn distillers grains plus solubles inclusion for finishing cattle on growth performance and feeding behavior**. Journal of Animal Science, v. 92, n. 6, p. 2531–2537, 2014.

TAMATE, H. e colab. **Effect of Various Dietaries on the Anatomical Development of the Stomach in the Calf**. Journal of Dairy Science, v. 45, n. 3, p. 408–420, Mar 1962. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030262894065>. Acesso em: 7 set 2016.

TRICARICO, J M e colab. **Effects of a dietary Aspergillus oryzae extract containing alpha-amylase activity on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle**. Journal of Animal Science, v. 85, n. 3, p. 802–811, 2007. Disponível em: <<Go to ISI>://000245678200028>.

VALADARES, R.F.D. **Níveis de proteína em dieta de bovinos: consumo, digestibilidade, eficiência de síntese microbiana, amônia ruminal, uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina**. Tese (Dout ed. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1997.

VAN SOEST, P J. **Nutritional ecology of the ruminants**. [S.l: s.n.], 1982. v. 2.

VANDER POL, K J e colab. **Effect of Corn Processing in Finishing Diets Containing Wet Distillers Grains on Feedlot Performance and Carcass**

Characteristics of Finishing Steers. The Professional Animal Scientist, v. 24, p. 439–444, 2008.

VARGAS, J.M. e colab. **Effect of Exogenous Fibrolytic Enzymes on Ruminant Performance**. v. 45, n. 2, p. 297–306, 2008.

VESTERGAARD, M. e colab. **Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on meat and eating quality of young bulls and the relationship between muscle fibre characteristics, fibre fragmentation and meat tenderness.** Meat Science, v. 54, p. 187–195, 2000.

VIEIRA, P F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. 1980. 98 f. 1980.

WANG, Y. e colab. **Effects of an exogenous enzyme preparation on microbial protein synthesis, enzyme activity and attachment to feed in the Rumen Simulation Technique (Rusitec)**. British Journal of Nutrition. [S.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0007114501000435>. , 2007

Capítulo 2 :

NÍVEIS DE AMIDO E ENZIMAS AMILOLÍTICAS EXÓGENAS EM DIETAS DE BOVINOS NELORE

Níveis de amido e enzimas amilolíticas exógenas em dietas de bovinos Nelore

RESUMO

Esse trabalho foi desenvolvido para avaliar o efeito do fornecimento de enzimas amilolíticas exógenas (EAE) e diferentes níveis de amido sobre o desempenho, características de carcaças, qualidade de carne e padrões fermentativos ruminais de bovinos Nelore. Foram realizados dois experimentos, o primeiro composto por 48 bovinos, não castrados confinados, com peso médio inicial de 300 kg e idade média de 16 meses, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2 (com e sem enzima; alto e baixo teor de amido). As dietas utilizadas para os experimentos foram iguais, contendo 90% de concentrado e 10% de volumosos (bagaço de cana). A redução do amido na dieta foi realizada pela a substituição de 20% de milho moído por polpa cítrica moída, a enzima utilizada foi a Amase® (Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda), a qual foi adicionada e misturada previamente no núcleo mineral. Os animais do primeiro experimento foram pesados e mensuradas as características de carcaça nos dias 0, 27, 55, 83, 111 e 136 do confinamento. Ao final de 124 dias (média de dias confinados) os animais foram abatidos, foi avaliado peso de carcaça quente (PCQ), rendimento de carcaça quente (RC) e gordura renal pélvica e inguinal (GRPI), após 48 horas de resfriamento da carcaça, foram mensurados o pH e coletada amostras entre a 12ª e 13º costela do musculo *longissimus* para determinação da cor, força de cisalhamento (FC) e perdas por cocção (PPC). Foi observado interação entre os fatores para espessura de gordura subcutânea na garupa (EGG; P=0,0020), sendo que os animais alimentados com dietas alto amido e com enzima apresentaram resultados superiores quando comparados com os demais. Ao observar o efeito da utilização das enzimas, os animais alimentados com dietas sem enzima apresentaram maior espessura de gordura subcutânea 1,83 vs 1,50 mm e maior área de olho de lombo 61,85 vs 60,07 cm² em relação aos animais alimentados com dietas com enzimas. Já o efeito da suplementação com diferentes teores de amido, os animais alimentados com dietas de alto amido apresentaram maior ingestão de matéria seca (IMS; P=0,0134; 7,2 vs 8,5 kg), menor eficiência alimentar (EA; P=0,0176; 174,8 vs 146,7 g/kg de MS) e rendimento de carcaça (RC; P=0,0304; 55,01 vs 56,01 %). O segundo experimento foi realizado utilizando 8 bovinos Nelore canulados no rúmen, com peso inicial de 510 kg e idade média de 30 meses, os animais foram alocados em um delineamento em quadrados latinos replicados contemporâneos. Os animais foram adaptados a dietas de alto concentrado por um período de 14 dias, sem a adição do complexo enzimático, posteriormente passaram por mais 14 dias de adaptação os tratamentos e no 15° dia, foram coletadas amostras de liquido ruminal nos tempos, 0, 2, 4, 6, e 8 horas após a alimentação. Foi observado efeito de interação entre os tratamentos (EAE e nível de amido)

para IMS (P=0,0321) e nitrogênio amoniacal (N-NH3; P=0,0247). Os animais alimentados com enzima apresentaram menores concentrações de propionato (P=0,0107; 17,09 vs 26,11 Mm) e maior relação acetato/propionato (A/P; P=0,0011; 3,33 vs 2,33) em comparação com aos animais alimentados sem enzima. As dietas com alto amido diminuíram a relação A/P (P=0,0249; 2,49 vs 3,17) em relação ao que animais alimentado com baixo amido. A adição de EAE em dietas de bovinos não causaram grandes impactos no desempenho e qualidade de carne, porém reduziram o acabamento de gordura nas carcaças, juntamente com a concentração de propionato ruminal. Dietas com elevada concentração de amido melhoram a EA de bovinos confinados.

Palavras-chaves: Ácidos graxos de cadeia curta; Desempenho; eficiência alimentar; qualidade de carne; nitrogênio amoniacal

Starch level and amylolytics exogenous enzymes in diets for feedlot young Nellore bulls

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effects of starch (corn) level and amilolítica exogenous enzymes on performance, ruminal parameters, carcass characteristics and meat quality of feedlot finished Nellore cattle. Two e experiments were conducted, the first one consisted of 48 confined non-castrated bovine animals, with a mean initial weight of 300 kg and a mean age of 16 months, distributed in a completely randomized design, in a 2 x 2 factorial scheme (with and without enzyme; And low starch content). The diets used for the experiments were the same, containing 90% of concentrate and 10% of forage (sugarcane bagasse). The reduction of starch in the diet was performed by replacing 20% of milled corn with ground citrus pulp, the enzyme used was Amase® (Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda), which was previously added and mixed in the mineral core. The animals from the first experiment were weighed and the carcass characteristics were measured on confinement days 0, 27, 55, 83, 111 and 136. At the end of 124 days (mean confined days) the animals were slaughtered, hot carcass weight (HCW), hot yield carcass (YC) and pelvic and inguinal renal fat (PIRFI) were evaluated after 48 hours of carcass cooling , The pH was measured and samples were collected between the 12th and 13th rib of the longissimus muscle for determination of color, shear force (SF) and cooking losses (CL). Interaction between the factors for subcutaneous fat thickness in the croup (SFT; P=0.0020) was observed, and the animals fed with high starch and enzyme diets presented superior results when compared with the others.When observing the effect of the use of the enzymes, the animals fed with diets without enzyme had a greater thickness of subcutaneous fat 1.83 vs 1.50 mm and greater rib eye area 61.85 vs 60.07 cm² in relation to fed animals with enzyme diets. On the other hand, the effect of supplementation with different starch contents, the animals fed with high starch diets presented higher dry matter intake (DMI; P=0.0134; 7.2 vs 8.5 kg), lower feed efficiency (FE; P=0.0176, 174.8 vs. 146.7 g/kg DM) and yield carcass yield (YC, P=0.0304; 55.01 vs 56.01%). The second experiment was carried out using 8 rumen cannulated Nelore cattle, with initial weight of 510 kg and mean age of 30 months, the animals were allocated in a contemporary replicated Latin squares design. The animals were adapted to diets of high concentrate for a period of 14 days, without the addition of the enzymatic complex, later they went through another 14 days of adaptation the treatments and in the 15th day, samples of ruminal liquid were collected at the times, 0, 2, 4, 6, and 8 hours after feeding. It was observed interaction effect between treatments (EAE and starch level) for IDMI (P=0.0321) and ammoniacal nitrogen (N-NH3; P=0.0247). The animals fed with enzyme had lower concentrations of propionate (P=

0.0107; 17.09 vs 26.11 Mm) and higher acetate/propionate ratio (A/P; P=0.0011, 3.33 vs 2.33) Compared to animals fed without enzyme. The high starch diets decreased the A/P ratio (P=0.0249; 2.49 vs 3.17) compared to that fed with low starch. The addition of EAE in bovine diets did not cause major impacts on the performance and meat quality, but reduced fat finishing in the carcasses, together with the ruminal propionate concentration. Diets with high starch concentration improve EA of confined cattle.

Keywords: Performance; feed efficiency; Meat quality; Short chain fatty acids; nitrogen ammoniacal.

1. INTRODUÇÃO

O aumento da concentração do amido nas dietas de confinamento pode promover alterações no trato digestório reduzindo a digestão deste nutriente, podendo resultar em perdas de amido pelas fezes e diminuição da eficiência na utilização do alimento. Dietas com teores de fibras reduzidas ou inadequadas, resultam na redução exacerbada do pH, causando, em alguns casos, a ocorrência de acidoses ruminais clinicas e sub-clinicas (KLEEN et al., 2003).

A substituição de carboidratos não estruturais por fibras de elevada degradação poderia reduzir os casos de acidose e melhorar o desempenho dos animais, além de apresentar resultados interessantes do ponto de vista metabólico, como um ambiente ruminal mais saudável (HATFIELD; WEIMER, 1995; CARVALHO, 1998; O'MARA et al., 1999; DUSKOVA; MAROUNEK, 2001).

Além de elevar a densidade energética em dietas de confinamento, com o aumento da inclusão de concentrado, o melhor aproveitamento da dieta é necessário, principalmente quando a matriz energética utilizada representa grande participação no custo de produção, como é o caso do milho.

Para isso são utilizados produtos denominados aditivos alimentares, no qual as enzimas amilolíticas exógenas (EAE) se enquadram.

Enzimas podem ser definidas como biocatalizadores que aceleram a velocidade de uma reação química termodinamicamente possível, facilitando que a reação aconteça (HARGER; SPRADA; HIRATSUKA, 1982).

O uso de EAE em dietas de ruminantes auxilia na digestão dos alimentos e no desempenho animal. Apesar desse modo de ação ainda não ser totalmente conhecido, algumas evidencias demostram que são mecanismos complexos e influenciados por diversos fatores como método de aplicação do produto, tempo de contato da enzima com o substrato, ingredientes e digestibilidade da dieta além da grande variedade de produtos no mercado (MCALLISTER et al., 2001). Desta forma, é necessário a realização de estudos adicionais para avaliar o efeito desse tipo de produto sobre o metabolismo ruminal, desempenho e qualidade da carne de animais confinados com dietas de alta energia.

Este estudo foi realizado para avaliar o efeito do fornecimento de EAE em dietas de alto concentrado com diferentes proporções de milho, sobre o metabolismo ruminal, desempenho e qualidade da carne de animais confinados com dietas de alta energia.

8. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP; Protocolo 1589060616) e conduzido no confinamento do Departamento de Zootecnia da FZEA/USP, em Pirassununga/SP.

EXPERIMENTO 1 – Desempenho em confinamento e qualidade da carne

8.1. Local, animais e tratamentos

Quarenta e oito bovinos Nelores machos, não-castrados, com peso inicial médio de 300±3,4 kg, e idade de 16 meses foram pesados, identificados e alojados em 4 baias coletivas (12 animais por baia) equipadas com portões eletrônicos tipo Calan Broadbent (American Calan Inc., Northwood, NH, EUA), que possibilitou o controle de consumo individual dos animais. Todas as baias possuíam bebedouros automáticos, comedouros cobertos e piso de alvenaria.

Os animais foram adaptados por um período de 30 dias sendo os 15 primeiros as instalações e posteriormente às dietas. A adaptação ao concentrado foi realizada de forma gradual, iniciando com 30% de inclusão, elevando 20% a cada 4 dias, sem a adição da enzima.

Após a adaptação, os animais receberam a dieta final (Tabela 11), contendo dois níveis de amido (alto e baixo) e dois níveis de inclusão de enzima (com e sem). O aumento no nível de amido na dieta foi realizado através da substituição da polpa cítrica pelo milho. A fonte de EAE utilizada foi a Amaze® (Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda).

Tabela 11: Composição percentual da dieta utilizada (na matéria seca).

Ingrediente	Controle	Alto amido
Bagaço de cana seco	10	10
Milho moído	57,1	80
Farelo de soja	9,3	6,4
Polpa cítrica	20	-
Núcleo mineral[2]	3,6	3,6
Nutrientes[1]		
Matéria seca, %	81,1	81,6
Proteína Bruta, %	14,6	14,2
Amido, %	35,7	49,2
Fibra em detergente neutro, %	21,3	19,2
NDT, %	77,0	78,9

[1]Calculado pelo programa Ração de lucro máximo (RLM) ESALQ-USP; [2]Níveis de garantia do produto estão apresentados no Anexo 1

A alimentação foi realizada diariamente às 8h e às 16h e a as sobras foram recolhidas, pesadas e amostradas, para determinação da matéria seca, consumo individual 3 vezes por semana, o ajuste de fornecimento do alimento foi realizada diariamente atrás de leitura de cocho.

8.2. Desempenho

Os animais foram pesados e avaliados por ultrassonografia no início do experimento (dia 0) e nos dias 27, 55, 83, 111 e 136. As pesagens foram realizadas após jejum sólido de aproximadamente 14 horas. A partir dos dados de consumo alimentar e dos pesos vivos foram calculadas ingestão de matéria seca (IMS), o ganho de peso diário (GPD), eficiência alimentar (EA). A IMS foi calculada através da subtração da MS que sobrou da MS oferecida, o GPD foi calculado através da razão do ganho de peso pelos dias de confinamento, a EA foi realizada pela divisão da IMS pelo ganho de peso.

8.3. Característica avaliadas por ultrassonografia

As características de carcaça foram avaliadas por ultrassonografia, utilizando um equipamento de ultrassonografia, marca Aloka®, modelo SSD 500 Micrus (Aloka Co. Ltd.), com transdutor linear de 3,5 mHz e 172 mm de comprimento. Foram colhidas imagens para determinação da área de olho de lombo (AOL), da espessura de gordura subcutânea entre a 12ª e a 13ª costelas (EGS) e uma segunda imagem sobre o músculo Bíceps femoris entre o ílio e o ísquio para a determinação da espessura de gordura da picanha (EGP).

O abate foi realizado no Matadouro Escola da USP, em Pirassununga/SP de acordo com procedimentos humanitários, conforme requerido pela legislação brasileira. Os abates foram divididos em 2 grupos, ambos com 24 animais, os grupos de abate eram formados pelos animais mais pesados de cada combinação de fator testado.

No momento do abate os animais foram insensibilizados através de concussão cerebral por pistola pneumática penetrante e, em seguida, foi realizada a sangria pela secção dos grandes vasos do pescoço.

Após o abate foram pesadas as gorduras perirenal, inguinal e pélvica (GRPI) e as carcaças (PCQ). Em seguida as carcaças foram colocadas em câmara fria (0-2ºC) durante 48 horas para posterior desossa.

8.4. Qualidade de carne

Após o período de 48 horas de resfriamento foi medidos o pH, e, em seguida, a meia-carcaça direita foi dividida na região entre a 12ª e a 13ª costelas onde foi retirada uma amostra (2,5 cm de espessura cada) do músculo *Longissimus*, no sentido caudo-cranial, para realização de análises de qualidade da carne.

As amostras foram pesadas e expostas ao ambiente por 20 minutos e em seguida foi avaliada a cor objetiva da carne, utilizando o espectrofotômetro portátil Konica Minolta (CMD2500d; Konica Minolta Sensing, Inc, Tóquio, Japão), realizando o procedimento em três diferentes pontos da amostra usando a escala de cor CIELab (L*= luminosidade, a*= intensidade da cor vermelha, b*= intensidade da cor amarela.

Posteriormente foi inserido um termômetro no centro geométrico de cada amostra e as mesmas foram colocadas em forno elétrico industrial (Modelo F130/L – Fornos Elétricos Flecha de Ouro Ind. e Com. Ltda, São Paulo, Brasil) a 170°C até atingirem temperatura interna de 40°C, quando foram viradas e permaneceram até atingir a temperatura interna de 71°C, conforme recomendado pela American Meat Science Association (AMSA, 1995).

Após isso, as amostras permaneceram em temperatura ambiente (22°C) até resfriarem, foram novamente pesadas, envolvidas em filme plástico e colocadas em geladeira (4-6°C) até o dia seguinte, quando foram retirados 6 a 8 cilindros (1,27 cm de diâmetro) de cada amostra, no sentido paralelo das fibras. Logo após, os cilindros foram cisalhados utilizando um equipamento *Warner-Bratzler shear force* para determinação da força de cisalhamento. A força de cisalhamento de cada amostra foi considerada como a média das 6 a 8 repetições.

As amostras foram utilizadas para determinação dos lipídeos totais, utilizando o método proposto por (BLIGH EG AND DYER W J, 195, com modificações citadas por RESENDE, 2009)

EXPERIMENTO 2 – Metabolismo ruminal

8.5. Animais, instalações e delineamento experimental

Foram utilizados oito bovinos, machos castrados da raça Nelore,(510 kg de peso vivo e 24 meses de idade) canulados no rúmen. Os animais foram alocados em oito baias individuais cobertas, dotadas com comedouros e bebedouros individuais.

Os animais foram distribuídos em um delineamento em quadrado latino replicado em arranjo fatorial 2x2 (com e sem enzima; alto e baixo amido), com quatro períodos de 15 dias (14 dias de adaptação às dietas e um dia de coleta).

Foi realizado um período de adaptação a dietas de alto concentrado de 15 dias iniciando com 70% de volumoso e 30% de concentrado (sem a adição das enzimasonde a proporção de concentrado foi aumentada em 20% a cada 4 dias.

As dietas utilizadas neste experimento foram as mesmas utilizadas no experimento 1.

A alimentação foi realizada diariamente às 8h e às 16h e a as sobras foram recolhidas, pesadas e amostradas, para determinação da matéria seca, consumo individual e ajuste de consumo, 3 vezes por semana

8.6. Coleta das amostras e características ruminais

Amostras de líquido ruminal (300 ml) foram colhidas em três pontos diferentes do rúmen, correspondentes ao antro e saco ventrais anterior e posterior, com o auxílio de bomba de vácuo (Marconi MA 058, Piracicaba, Brasil). As coletas foram realizadas no ultimo dia de cada período (15º dia), após0; 2; 4; 6 e 8 horas da primeira alimentação dos animais.

8.7. pH, ácidos graxos de cadeia curta e nitrogênio amoniacal

As concentrações de AGCC do fluido ruminal foram medidas por cromatografia em fase gasosa (GC-2014, Shimadzu, Japão), através de uma coluna capilar (Stabilwax ®, Restek, EUA) a 145°C (isotérmica) e um injetor split/splitless e detector dual FID a 250°C, utilizando o método descrito por (Erwinet al. (1961), adaptado por Getachew et al. (2002)**.** O gás hélio foi utilizado como gás de arraste, o ar sintético como comburente e o hidrogênio como combustível. As amostras foram descongeladas a temperatura ambiente e centrifugadas a 14500 × g durante 10 min. O sobrenadante (800 µl) foi transferido para um frasco seco e limpo com 200 ul de ácido fórmico 98-100% PA ACS e 100 µL do padrão interno (ácido 2-etil-butírico 100 mM, Chemservice, USA). O padrão externo foi preparado com ácidos acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico (Chemservice, USA). O software GCSolution ® (Shimadzu, Japão) foi utilizado para os cálculos.

A determinação de nitrogênio amoniacal (N-NH3) ruminal foi realizada através de análise de titulação, as amostras foram descongeladas e centrifugadas por 15 minutos a 3000 rpm. A destilação da amostra foi realizada com destilador micro kjeldahl, através da transferência de 5 ml do sobrenadante para tubos de digestão, foi utilizado 10 ml de solução tetraborato de sódio a 5% no funil do aparelho e 10 ml de ácido bórico em balão de

Erlenmeyer na saída do nitrogênio amoniacal. Foi utilizado o acido sulfúrico (0,05 N) na titulação. A concentração em porcentagem do nitrogênio amoniacal foi obtida através da equação:

$$N_{\%} = \frac{normalidade\ H_2SO_4\ \times miliequivalente\ do\ N \times 100}{volume\ da\ amostra\ \times volume\ H_2SO_4}$$

Em que:

$Normalidade\ H_2SO_4 = 0{,}05$

$miliequivalente\ do\ N = 0{,}014$

$volume\ da\ amostra = 5\ ml$

$volume\ H_2SO_4 = volume\ de\ \acute{a}cido\ sulfutrico, em\ ml, gastos\ para\ titula\tilde{c}ao$

8.8. Analise estatística

Os dados foram analisados como medidas repetidas no tempo, utilizando o procedimento Mixed (SAS® Inst. Inc., Cary, NC). Foram considerados os efeitos fixos de enzima (com ou sem), proporção de milho (alta ou baixa) e a interação entre ambos. O efeito do animal, quadrado, linha e coluna foram considerados como efeitos aleatórios.

Os dados foram analisados em relação à presença de *outliers*, normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (teste de Hartley). As comparações de médias entre tratamentos foram realizadas por meio de teste ajustado de Tukey (α = 0,05).

9. RESULTADOS E DISCUSSÃO

EXPERIMENTO 1 - Desempenho em confinamento e qualidade da carne

9.1. Desempenho

Não foi observada interação entre o nível de amido e a inclusão da enzima para nenhuma das características relacionadas ao desempenho. Também não foram encontrados efeitos significativos dos níveis de amido e da enzima para a maioria das variáveis de desempenho testadas (Tabela 12).

Os animais alimentados com a dieta de alto amido tiveram menor ingestão de matéria seca (P=0,0134) e consequentemente foram mais eficientes (P=0,0176) em relação àqueles da dieta com baixo amido.

O aumento da EA em relação a maior concentração de amido, também é relatado por Loggins et al. (1964), que estudou dietas que possuíam teores crescentes de amido (25, 50, 75 e 100%,) como matriz energética, na alimentação de ovinos em terminação, resultou em um efeito na redução linear da eficiência de conversão do alimento em peso vivo. Sampaio et al. (1984) também relatou o aumento na eficiência de conversão alimentar em bovinos que maiores porcentagens de milho como matriz energética, consequentemente maiores valores de amido na dieta.

Assim como observado no presente estudo, foram relatados efeitos negativos na IMS em dietas com elevado teor de concentrado (85 a 93%), que possuíam maiores teores de amido como fonte energética, atribuídos principalmente pela a redução do teor de amido e concomitante aumento no teor de fibras, resultando em manutenção do pH ruminal (SANTOS et al. 2004). A diminuição do amido na dieta observada pela a incorporação de polpa cítrica proporciona uma fermentação ruminal mais parecida com a observada nas forragens, ocorre a redução incipiente de lactato e da relação acetato:propionato maior que na fermentação de fontes ricas em amido (FEGEROS et al., 1995), corroborando com os resultados encontrados nesse experimento.

É possível que o elevado teor de amido na dieta, que é prontamente degradado no rúmen, tenha proporcionado a acidificação mais rápida do meio, consequentemente quadros de acidose subclínica, reduzindo assim IMS. Supõe-se que a menor IMS no grupo alimentado com alto amido pode ter reduzido a taxa da passagem, melhorando assim a absorção de nutrientes. Devido ao teor próximo a zero de amido, a polpa cítrica apresenta padrões fermentativos diferente da observada em grãos cereais ricos em amido, podendo ter auxiliado na redução da queda do pH. A maior produção de ácido acético e menor produção de lactato e propionato ruminal causada pela a inclusão de polpa cítrica, possibilita menores probabilidades de incidências de acidoses subclínicas (SCHALCH et al., 2001).

Tabela 12: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de desempenho em confinamento, de acordo com a inclusão de enzima e o nível de amido

Características	Amido		EPM	Enzima		EPM	Pr>F		
	Alto	Baixo		Sem	Com		Amido	Enzima	Amido x Enzima
Peso inicial, kg	301	299	4,93	300	299	4,93	0,8125	0,8681	0,7579
Peso final, kg	460	466	9,35	471,8	453,5	9,35	0,6412	0,1737	0,4049
Ganho de peso diário, g	1260	1310	70,00	1350	1220	70,00	0,5854	0,2405	0,3078
Consumo de matéria seca, kg/dia	7,20	8,50	0,36	8,00	7,70	0,36	0,0134	0,5834	0,7120
Eficiência alimentar, g GPD /kg MS	174,80	146,70	7,98	154,50	166,90	7,98	0,0176	0,3155	0,6142

A adição de EAE não alterou nenhuma das características de desempenho estudadas. Tricarico et al. (2007), ao estudarem novilhas de corte em fase de terminação suplementadas com EAE contendo elevada inclusão de milho moído, verificaram aumento de 4% na IMS além de 14% no ganho de peso nos primeiros 28 dias de confinamento, também observaram maior rendimento de carcaça, sugerindo maior aporte nutricional e deposição de tecidos nos animais suplementados. Os autores justificaram o aumento na IMS como uma resposta ao aumento da digestibilidade da dieta, que acelerou a taxa de passagem.

A ausência de efeito da EAE também foi relatada por Oliveira et al. (2015), que estudaram o desempenho de bovinos confinados alimentados com dietas contendo 66% de milho triturado e 16% de volumoso, sendo os tratamentos: controle (sem enzima), amilase (dieta controle com adição de 48, 7 unidades sacarificantes kg^{-1} da dieta) e composto (dieta controle com adição de 83,1 unidades sacarificantes, 8,8 unidades fibrolíticas, 0,05 g de mananoligossacarídeos e 0,2 g de leveduras inativas kg^{-1} de matéria seca da dieta). Os autores não encontraram diferenças significativas no GPD, IMS, conversão alimentar, rendimento de carcaça e nos ensaios de degradabilidade *in vitro,* além disso, as inclusões dos complexos enzimáticos não alteraram o amido fecal. De acordo com os autores é possível que as concentrações das enzimas não tenham sido suficientes para elevar a degradação dos nutrientes.

Era esperado que a adição de EAE nas dietas elevasse o GPD ou a EA, devido a um maior aporte energético gerado pela melhora na digestibilidade da dieta.

Outra possibilidade seria que os GPD fossem iguais em ambos os tratamentos, porém com redução significativa na IMS do grupo alimentado com enzima, consequentemente maior EA. Mas como o observado no Experimento 2, não foi observado aumento na concentração de AGCC nos animais que recebiam dietas com enzima, além de ser observado uma redução na concentração de propionato nos animais alimentados com a EAE.

A ausência de diferenças estatísticas do fator EAE para desempenho e os resultados obtidos no ensaio ruminal, descrito no tópico experimento 2, sugere que a adição de EAE não elevou a fermentação ruminal, porém provavelmente elevou a degradação enzimática do amido no abomaso, assim

sendo, os animais que receberam EAE não apresentaram diferenças estatística no desempenho por uma redução na fermentação do amido, compensada pelo o aumento da degradação do mesmo via enzimática no abomaso, resultando em mesmo aporte nutricional

9.2. Características avaliadas por ultrassonografia

Não foi observada interação entre os dias de confinamento e os níveis de amido ou EAE para nenhuma das características de carcaça avaliadas por ultrassom.

Não houve efeito do nível de amido para a AOL e EGS (Tabela 13).

Foi observada interação entre os níveis de amido e enzima para a EGP (P=0,0200; Tabela 14).

A adição de EAE nas dietas contendo alto amido não alteraram as médias de EGP, porém em dietas contendo baixo amido houve uma diminuição da EGP.

O grupo de animais que receberam baixo amido com EAE apresentou a menor média de EGP, enquanto que os grupos que receberam as dietas com alto ou baixo sem, não diferiram entre si.Os animais alimentados com a dietas de alto amido com e sem enzima apresentaram os maiores valores de EGG.

A adição de EAE reduziu a AOL (P<0,0001) e a EGS (P=0,0325). Foi observado aumento linear de todas as características avaliadas por ultrassonografia em função do tempo de confinamento.

Era esperado que a adição de EAE nas dietas contendo maior concentração de amido elevasse a deposição de gordura, já que a maior disponibilidade de amido facilitaria a formação do complexo enzima/substrato, resultando em maior degradabilidade e consequentemente maior aporte energético.

Nas dietas de baixo amido, era esperado que a adição de EAE elevasse a deposição de gordura, decorrente do aumento da digestibilidade da dieta e maior aporte energético, porém foi observado menor EGP nos animais que recebiam as dietas de baixo amido contento EAE.

A variação na resposta observada em EGS e EGP em função da adição de EAE é pouco compreendida, já que a diminuição da deposição de gordura

subcutânea entre a 12ª e 13ª costela seria acompanhada pela a redução proporcional da deposição de gordura na garupa, uma vez que ambas as medidas avaliam gordura de acabamento e, dessa forma, poder-se-ia esperar a mesma resposta em ambas as características.

Tabela 13: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características avaliadas por ultrassonografia em função do tempo de confinamento, nível de enzima e de amido.

Características		Tempo de confinamento, em dias.							EPM	Pr>F			
		0	27	55	83	111	136	Geral		Amido	Enzima	Amido*Enzima	Tempo
					Enzima								
Área de olho de lombo, em cm²	Com	49,83	53,63	58,60	63,43	67,38	67,59	60,07	0,4808	0,3124	<0,0001	0,8741	<0,0001
	Sem	49,77	54,31	61,80	66,06	70,76	74,42	61,85					
					Amido								
	Alto	50,42	53,84	59,85	64,76	68,70	69,16	61,12					
	Baixo	49,19	54,10	60,55	64,73	69,44	72,85	61,80					
					Tempo								
	Geral	49,80	53,97	60,20	64,74	69,07	71,00						
					Enzima								
Espessura de gordura subcutânea, em mm	Com	0,2	0,5	1,3	1,8	2,4	2,7	1,5	0,1385	0,6679	0,0325	0,3423	<0,0001
	Sem	0,0	0,2	1,6	2,3	3,1	3,5	1,8					
					Amido								
	Alto	0,1	0,4	1,4	2,1	2,8	2,7	1,6					
	Baixo	0,1	0,3	1,4	2,0	2,7	3,5	1,7					
					Tempo								
	Geral	0,1	0,4	1,4	2,1	2,7	3,1						

Tabela 14: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades da espessura de gordura subcutânea na garupa avaliada por ultrassonografia em função do tempo de confinamento, nível de enzima e de amido

			Tempo de confinamento, em dias							EPM	Pr>F			
	Amido	Enzima	0	27	55	83	111	136	Geral		Amido	Enzima	Amido*Enzima	Tempo
Espessura de gordura Subcutânea na garupa, em mm	Alto	Com	1,0	1,6	2,9	3,7	4,7	4,6	3,1[a]	0,21	0,0012	0,3017	0,0200	<0,0001
		Sem	0,1	0,9	2,2	3,8	4,7	5,2	2,8[ab]					
	Baixo	Com	0,5	0,7	1,3	2,2	3,2	3,5	1,9[c]					
		Sem	0,1	0,5	2,2	3,5	4,3	5,0	2,6[b]					
	Tempo													
		Geral	0,4	0,9	2,2	3,3	4,2	4,6						

[a, b] Diferentes letras na mesma coluna, diferem pelo teste de Tukey (P <0,05).

A redução da deposição de gordura subcutânea foi relatada por Eun et al., (2009) onde a adição do complexo enzimático reduziu em 8,8% a EGS. Porém, há indícios que a suplementação com enzimas exógenas eleva a produção de proteína microbiana (ELWAKEEL et al., 2007) e diminui a mobilização de gordura para a geração de energia, justificado pela a diminuição da concentração de β-hidroxibutirato (HOLTSHAUSEN et al., 2011).

McAllister et al. (2000) estudaram o efeito de surfactantes e complexos enzimáticos exógenos no desempenho e características de carcaça de cordeiros e não encontraram diferenças estatísticas na EGS. Assim como Miller et al., (2008) que avaliaram a adição de complexos enzimáticos na alimentação de bovinos de corte, não encontrando resposta significativa do complexo enzimático para AOL e EGS.

Tricarico et al. (2007) estudaram a terminação de bovinos alimentado com extrato fúngico contendo atividade amilolítica e dietas compostas com milho quebrado ou finamente moído. Não foi observado efeito significativo do extrato fúngico para EGS, porém foi observado aumento de AOL nos animais suplementado com complexo enzimático, os autores concluíram que o aumento da AOL demonstraria capacidade do complexo enzimático de elevar a degradação da dieta, e consequentemente a deposição de tecido muscular.

A utilização de complexos enzimáticos, em dietas de bovinos, demonstra grande variação de resultados, muitas vezes contraditórios, sendo influenciado por diversos fatores, como alimentação, raça, estado fisiológico, método de aplicação e diversos complexos existentes no mercado.

9.3. Características de carcaça

Não foram observadas interações entre os fatores para as características de carcaça.

Foi observado efeito significativo para RC (P=0,0304; Tabela 15), onde as carcaças dos animais alimentados com alto amido apresentaram maior RC comparado com os animais que receberam baixo amido.

Tabela 15: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de carcaça, de acordo com a inclusão de enzima e o nível de amido

Características	Amido		EPM	Enzima		EPM	Pr>F		
	Alto	Baixo		Sem	Com		Amido	Enzima	Amido x Enzima
Peso de carcaça quente, kg	300,5	298,8	4,93	300,3	299,1	4,93	0,8125	0,8681	0,7579
Rendimento de carcaça, %	56,1	55,1	0,34	55,6	55,7	0,34	0,0304	0,7824	0,9732
Gordura renal, pélvica e inguinal, kg	8,0	7,3	0,37	7,1	8,1	0,37	0,2324	0,0625	0,3134
Gordura renal, pélvica e inguinal, % peso de carcaça	3,1	2,9	0,12	2,8	3,1	0,12	0,2164	0,1175	0,4917

A ausência de efeito significativo da substituição da fonte energética amido por pectina foi relatada por Pereira et al. (2007), que avaliaram a substituição de milho (0; 50; 75 e 100%) por polpa cítrica em dietas contendo 30% de silagem de cana de açúcar e 70% de concentrado.

A diferença encontrada no RC pode ser justificada com a variação encontrada na IMS, já que os animais que apresentaram maior rendimento de carcaça apresentaram menor IMS. O PCQ e PVF apresentaram valores numericamente diferentes, porém essa diferença não foi o suficiente para promover diferença estatística nessa característica, o PCQ foi numericamente menor para o grupo que recebia baixo amido e PVF numericamente maior, contribuindo com a ideia que esses animais apresentariam maior peso de trato digestório, devido a maior conteúdo restante. A união da diferença numérica encontrada no PVF e PCQ pode ter promovido efeito significativo no RC, visto que o RC é o resultado da razão entre o PCQ e PVF, portanto ocorreu a diminuição do valor do numerador e aumento numérico do denominador.

Devido a ausência de resultados no PVF e GRPI não era esperado variação no RC, sendo a única possibilidade um maior peso visceral do grupo

de animais que recebia dietas com baixo amido. O que reforça a teoria que a inclusão da polpa cítrica tenha deixados o trato digestório dos animais mais pesado por reter conteúdo, é o grande poder higroscópio do ingrediente, devido a sua alta concentração de pectina (RODRIGUES et al., 2005).

Não foi observado efeitos de EAE em nenhuma das características de carcaça avaliadas. Tricarico et al. (2007) observaram resultados semelhantes em bovinos terminados com diferentes fontes de volumoso suplementados com EAE. no mesmo trabalho também avaliaram níveis de EAE em diferentes moagens de milho, resultando na mesma resposta anterior. Oliveira et al. (2015) avaliaram características de carcaça em bovinos terminados com diferentes complexos enzimáticos, não encontrando diferenças no rendimento de carcaça.

Aparentemente a adição de EAE não possui a capacidade de alterar o RC, independente da dieta. É possível que influenciem apenas de forma indireta sobre o RC, elevando o peso das carcaças devido a maiores GPD, ou aumentando a deposição de gordura na cavidade abdominal.

Por outro lado, Tricarico et al. (2008) observaram aumento no rendimento de carcaça do grupo de animais que recebiam EAE, esse efeito foi justificado pela maior IMS o aumento na EAE ocorreu devido a maior atividade amilolíticas, degradando de forma mais rápida o alimento, proporcionando maior IMS, consequentemente maios aporte energético, que possibilitou uma elevação na deposição de tecidos.

A inclusão de EAE também não foi capaz de afetar estatisticamente os valores de GRPI em ambas as mensurações, apesar dos valores numericamente maiores encontrados no grupo que recebeu a enzima. Aparentemente a adição de EAE não foi capaz de aumentar a degradação ruminal, disponibilizando energia para maior deposição de tecidos.

De modo geral a adição de EAE não afetou as características de carcaça sendo coerente com a ausência de diferenças entre os tratamentos para as caraterísticas de desempenho.

9.4. Qualidade de carne

Não houve efeito dos tratamentos ou interação para nenhuma das características de qualidade de carne avaliadas (Tabela 16).

Tabela 16: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características de qualidade de carne, de acordo com a inclusão de enzima e o nível de amido

Características	Amido		EPM	Enzima		EPM	Pr>F		
	Alto	Baixo		Sem	Com		Amido	Enzima	Amido x Enzima
pH	5,7	5,8	0,07	5,8	5,7	0,07	0,2734	0,5081	0,5912
L*	38,6	38,8	0,82	38,5	38,9	0,82	0,8181	0,7394	0,8870
a*	15,4	15,2	0,46	15,0	15,7	0,46	0,7384	0,3032	0,9796
b*	12,9	13,1	0,53	12,7	13,4	0,53	0,8295	0,3301	0,9168
Força de cisalhamento, kg	4,7	4,8	0,27	4,9	4,6	0,27	0,8584	0,5825	0,9036
Perdas por cozimento, %	24,3	22,9	1,91	24	23,2	1,91	0,5967	0,7774	0,4253
Lipídios totais, %	7,63	8,25	0,04	8,11	7,79	0,07	0,2572	0,2041	0,6012

De modo geral os valores encontrados no dado experimento encontram-se dentro dos valores padrões para carne bovina, com exceção de valores de b* ligeiramente maiores, para todos os tratamentos, indicando uma maior coloração amarela.

Aparentemente não têm sido observadas relações entre a adição de EAE e a qualidade da carne. Vargas et al. (2008) não encontraram alterações na coloração, gordura, área de olho de lombo (AOL), e força de cisalhamento da carne de bovinos confinados recebendo enzimas exógenas. O valor médio de FC encontrado no presente estudo foi de 4,75 kg, podendo ser considerada no limiar de carnes macias, visto que valores acima de 5 kg são consideradas rígidas (KOCH et al., 1976; NORMAN, 1982).

As diferentes inclusões de amido não alteraram as características de qualidade de carne avaliadas. Moscardini (2008) estudou dietas com diferentes inclusões de amido como matriz energética em dietas de bovinos Nelores confinados, não encontrando diferenças estatísticas em PPC, L*, a*, b* e

marmorização, porém encontram variações na FC, os tratamentos que apresentavam menores teores de amido apresentaram menores valores de FC quando comparado com os tratamentos com alta inclusão de amido.

A PPC é resultado da diferença do peso da amostra antes do processo de cocção e após o processo, expressa o total de água, gordura, proteínas e minerais perdidos durante o aquecimento da carne (YU et al., 2005), variando nos bovinos de 13,1 a 34,5% (MUCHENJE et al., 2009). A ausência de efeito nessa caraterística é coerente com a ausência de efeito na variável lipídios totais, pois amostras que apresentam maiores porcentagens de lipídios totais antes do cozimento terá PPC maior (YU et al., 2005).

Beauchemin et al. (1997), ao avaliarem bovinos alimentados com dietas contendo milho ou cevada e diferentes fontes enzimáticas, relataram que a adição de enzimas exógenas foram adicionadas nas dietas contendo milho houve um aumento da FC e de perda por resfriamento. Já nas dietas a base de cevada foi observada a diminuição da FC quando foi fornecido enzimas exógenas. O autor conclui que os efeitos da adição de enzimas exógenas sob a qualidade de carne ainda não são bem conhecidos e que precisão ser estudados novamente.

Brito (2010) ao estudar complexos enzimáticos na terminação de cordeiros, não verificou diferenças na FC, PPC e na capacidade de retenção de água, corroborando com o resultado observado no presente estudo.

A adição de EAE também não afetou os lipídios totais da carne, esse resultado está de acordo com o observado no GPD e EA. O aumento na deposição da gordura poderia implicar na diminuição da EA, visto que a energia necessária para a deposição de gordura é maior do que para a deposição muscular. Na deposição de 10 kcal de lipídios e 10 kcal de proteínas serão gerados respectivamente 0,7 gramas de tecido adiposo e 2,8 gramas de musculo (LANNA, 1993).

Não existem indícios que a inclusão de EAE alteraria a maciez de forma direta, possivelmente a diminuição da força de cisalhamento pode estar ligada a maior deposição de gordura de acabamento reduzindo o encolhimento das fibras musculares por resfriamento, ou o aumento da deposição de gordura entremeada, visto que maiores quantias de gordura na carne justificam menores forças e cisalhamento (MILLER, 2001).

EXPERIMENTO 2 - Metabolismo ruminal

Não foi observada interação entre tempo e os fatores estudados para nenhuma das características relacionadas ao metabolismo ruminal (Tabela 17).

A IMS sofreu interação entre nível de amido e EAE (P=0,0321; Figura 6)**.** A adição do complexo enzimático na dieta composta de alto amido elevou em 28% o consumo de MSem relação aos demais tratamentos. Já na dieta com baixo amido não foram observadas diferenças.

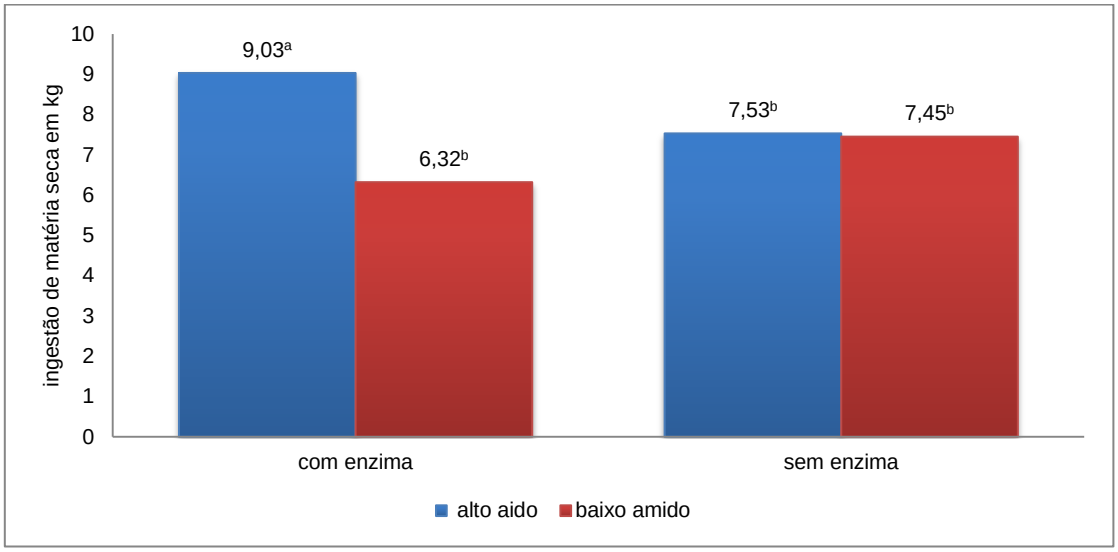

Figura 6: médias da ingestão de matéria seca em função da combinação dos fatores testados

Tabela 17: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades das características ruminais avaliadas, de acordo com a inclusão de enzima, nível de amido e tempos após a alimentação

Característica	Amido		EPM	Enzima		EPM	Pr>F			
	Alto	Baixo		Com	Sem		Amido	Enzima	Amido*enzima	hora
Ingestão MS, kg	8,28	6,89	0,40	7,7	7,5	0,40	0,0235	0,7446	0,0321	-
pH	6,4	6,2	0,19	6,3	6,4	0,19	0,1485	0,6236	0,5411	<0,0001
N-NH3, mg/dl	13,40	16,42	2,13	15,8	14,0	2,13	0,0153	0,1401	0,0247	<0,0001
AGCC										
Acético, mm	50,3	51,1	3,40	51,6	49,8	3,40	0,8224	0,6284	0,9244	0,0109
Propiônico, mm	24,1	19,0	2,45	17,0	26,1	2,45	0,1449	0,0107	0,4822	0,0920
Isobutírico, mm	1,1	0,9	0,11	1,1	1,0	0,11	0,5996	0,5996	0,6354	<0,0001
Butírico, mm	12,6	11,7	0,77	13,2	11,1	0,77	0,4328	0,065	0,8442	0,2425
Isovalérico, mm	2,3	2,1	0,28	2,3	2,1	0,29	0,3159	0,6834	0,3514	<0,0001
Valérico, mm	1,6	1,5	0,23	1,3	1,8	0,23	0,7636	0,2161	0,8851	0,1366
AGCC Total, mm	92,9	86,7	5,78	86,8	92,8	5,74	0,2744	0,2841	0,6028	0,0327
ACE/PROP	2,4	3,1	0,20	3,3	2,3	0,22	0,0249	0,0011	0,8768	0,1295

O efeito observado na IMS no segundo experimento e a ausência do efeito na IMS do primeiro experimento, pode ser explicada pela variação no número das unidades experimentais, além do tempo em que os animais consumiram as dietas.

Não foi observado pH ruminal a baixo de 6 em nenhum dos tratamentos (Figura 7), indicando que a fermentação ruminal não foi prejudicada pela redução do pH mesmo em dietas contendo 90% de concentrado. A maior estabilidade do pH ruminal observado nas dietas sem enzima alto amido, podem sugerir um consumo de alimento mais cadenciado.

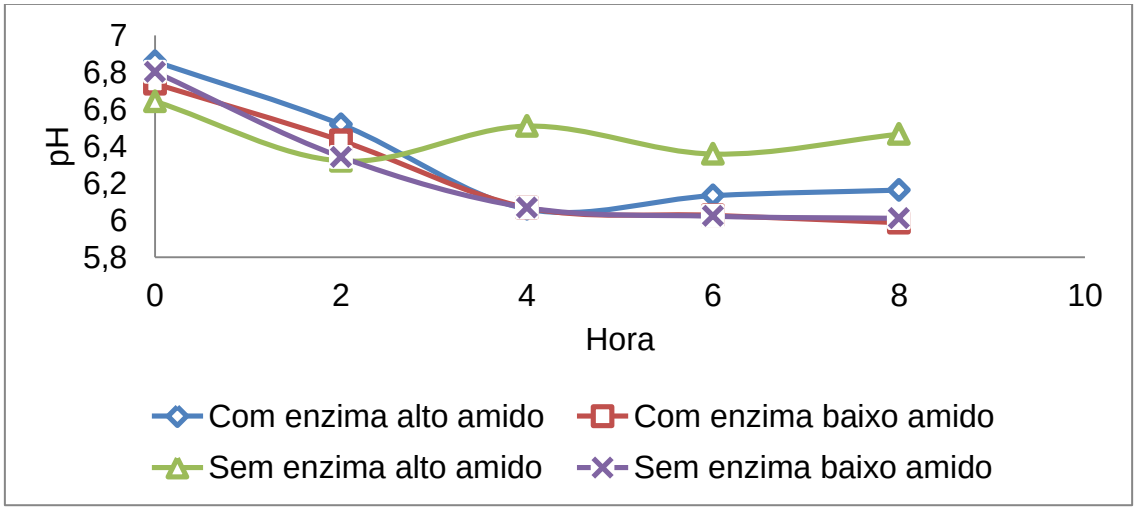

Figura 7: médias do pH em função do tempo e combinação de fatores estudados.

Verificou-se interação entre o nível de amido e a presença de EAE para N-NH3 (P=0,0247; Figura 8). Ocorreu aumento de 37% na concentração de N-NH3 nos animais que receberam dietas com enzima e baixo amido, enquanto os demais tratamentos não se diferenciaram entre si.

É possível observar que as 2 horas após a alimentação ocorreu o pico na produção de N-NH3 para todos os tratamentos, porém na dieta baixo amido e EAE a concentração foi mais elevada, e permaneceu assim ao longo do tempo (Figura 9). O aumento nas concentrações de nitrogênio amoniacal pode ser relacionado com maior crescimento bacteriano, ou com maiores populações de protozoários (MENDOZA; BRITTON; STOCK, 1998, 1999)

Rojo et al. (2005) encontraram efeito linear crescente na concentração de NNH3 e população de protozoários em relação a doses de glucoamilases

exógenas, porém efeito quadrático para NNH3 e protozoários quando o complexo enzimático utilizado foi a base de amilase.

A redução da população de protozoários está associada a condições ácidas em ambientes ruminais e elevada taxa de digestão do amido, resultando na diminuição do pH, caracterizando o efeito como quadrático. Portando a resposta encontrada nesse experimento é pouco compreendida, visto que o pH ruminal apresentou-se durante as coletas sempre acima de 6, não acarretando defaunação ruminal e redução de N-NH3 em nenhum dos tratamentos. Além, das dietas possuírem maior disponibilidade de amido e apresentar menores concentrações de N-NH3. Entretanto, essa resposta observada no dado experimento pode ser reflexo de uma ação diferente em relação a EAE e a pectina presente na polpa cítrica.

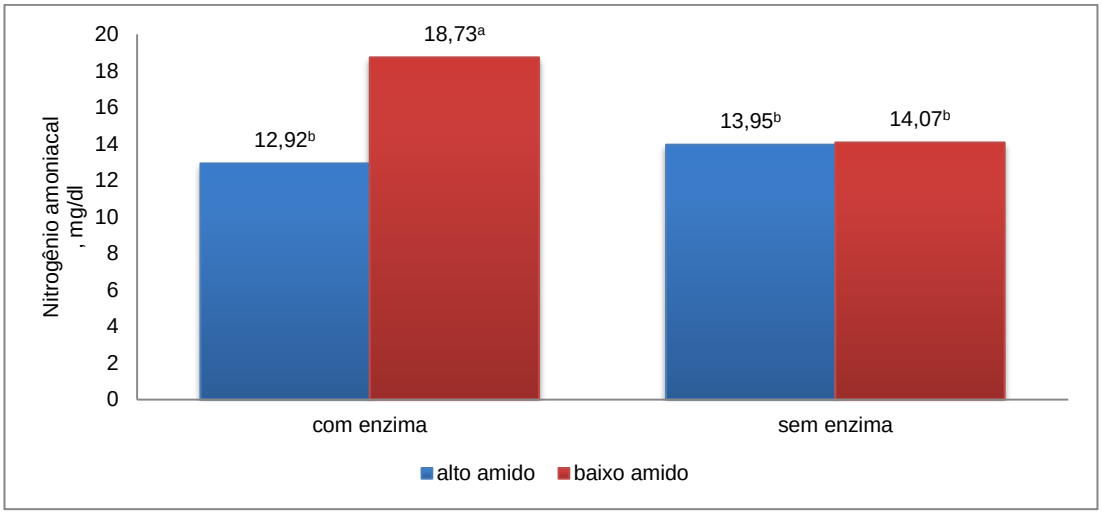

Figura 8: médias da concentração de nitrogênio amoniacal em função da combinas dos fatores testados

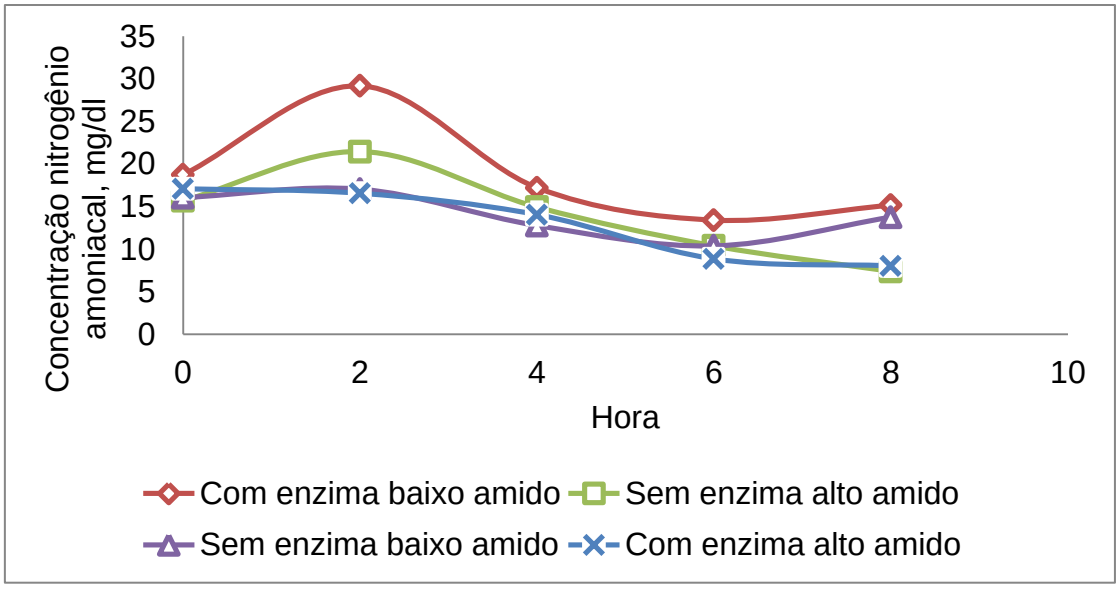

Figura 9: Concentração de nitrogênio amoniacal em função dos tempos de coletas e combinação dos fatores testados.

Apesar de não ter sido afetado por interação entre fatores e/ou com o tempo, as concentrações de acetato não demonstraram um padrão (Figura 10).

Assim como o observado por Rojo et al. (2005) não encontraram variações nas concentrações de acetato quando estudaram a adição de amilase na dietas de ovinos.

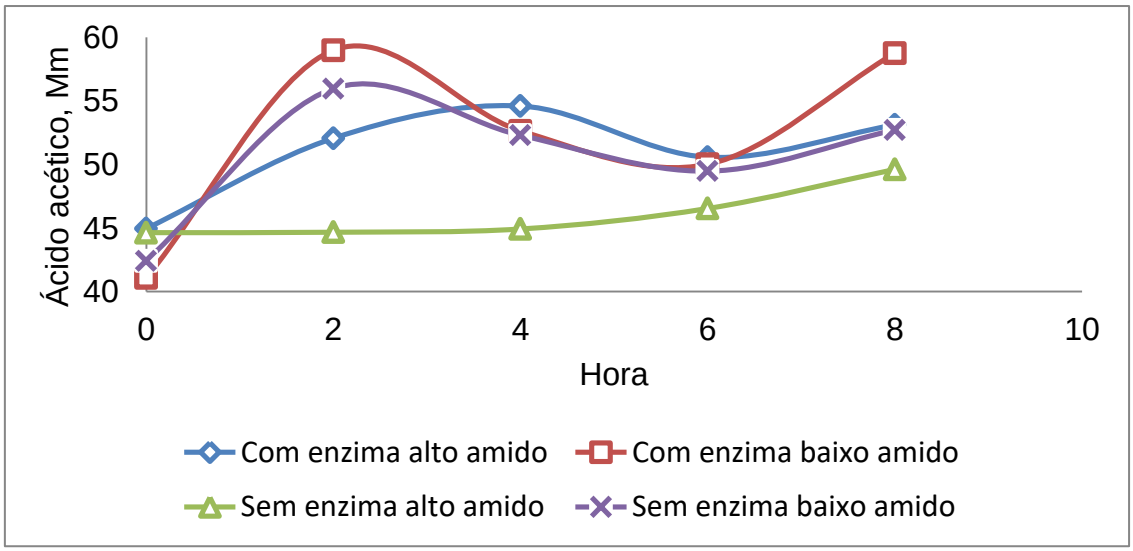

Figura 10: Concentração de acetato em função do tempo e combinação de fatores estudados.

Foram observados efeitos significativos de EAE para propionato (P=0,0107) e relação acetato:propionato (P=0,0011). A adição de EAE reduziu a concentração de propionado no liquido ruminal em 34,5%, sendo os valores

de 17,08 e 26,11 Mm, respectivamente, para os tratamentos com enzima e sem enzima.

A redução na relação acetato:propionato foi alterada principalmente pela menor concentração de propionato observado nos animais que receberam dieta com enzima, visto que a concentração de acetato foi estatisticamente igual para ambos tratamentos. Na figura 11 estão dispostas as médias da concentração do propionato em função da combinação dos tratamentos e do tempo.

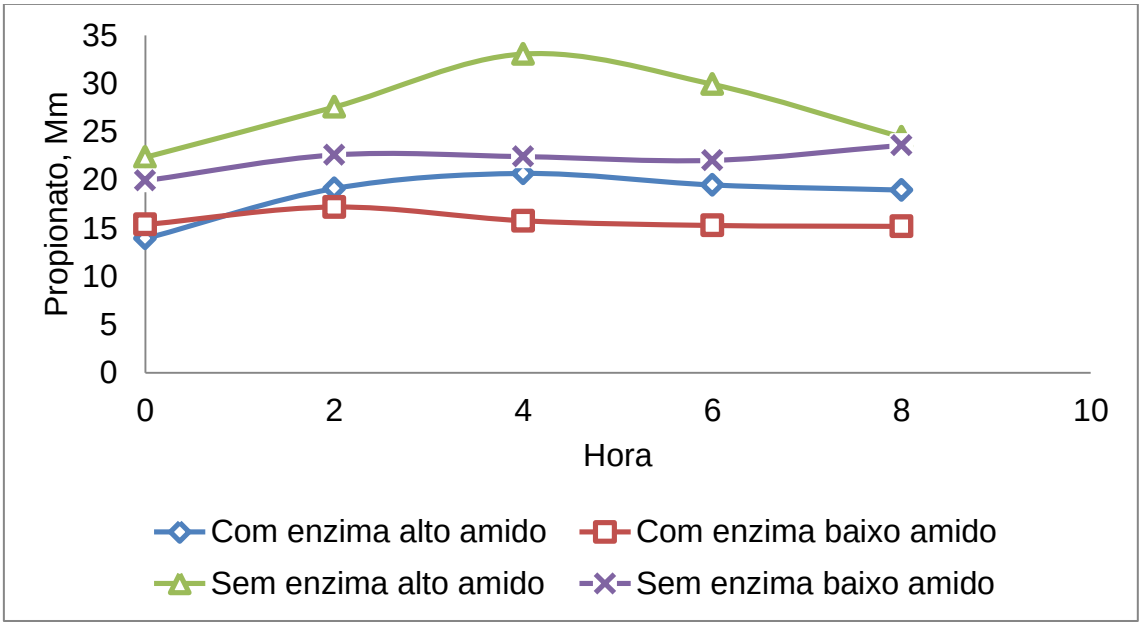

Figura 11: Concentração de propionato em função dos tempos de coletas e combinação dos fatores testados

Apesar da interação entre os fatores não ter apresentado efeito de significativo (P=0,0920) é possível verificar que a concentração de propionato no rúmen dos animais alimentados com alto amido sem EAE foram elevadas, em comparação com os demais tratamentos, sendo seguidas pelo tratamento de baixo amido sem enzimas.

Quando comparamos a inclusão da EAE nas dietas de alto amido a redução do propionato é nítida. No entanto, Rojo et al. (2005) observaram efeito quadrático em relação as concentrações de propionato em cordeiros alimentados com amilase exógena. Entretanto, Miller et al. (2008) não encontraram diferenças estatísticas para as concentrações de propionato de bovinos alimentados com níveis de enzimas exógenas.

Acredita-se que a diminuição das concentrações de propionato no ambiente ruminal tenha sido uma resposta causada pela diminuição da disponibilidade do amido para a fermentação ruminal, causada pela a adição da EAE. Provavelmente, ao chegar no ambiente ruminal os microrganismos iniciam o processo de fermentação do amido e outros carboidratos. A hidrolise do amido por ação bacteriana começa com a adesão da mesma aos grânulos, após inicia-se a produção de exo-amilases para hidrólise das ligações α 1-4 e α 1-6 da amilose e amilopectina (VAN SOEST, 1982).

Após a degradação do amido estes produtos (oligossacarídeos, dissacarídeos ou monossacarídeos) são absorvidos pelas bactérias e utilizados para a produção de proteína microbiana e AGCC. Suponha-se que durante o processo de degradação do amido as enzimas exógenas tenham se ligado aos sítios correspondentes a ação enzimática microbiana, possivelmente indisponibilizando os oligossacarídeos, dissacarídeos e monossacarídeos para a absorção microbiana, visto que o transporte de nutrientes para dentro da célula microbiana é realizada através da membrana microbiana e depende da afinidade e especificidade pelo substrato e da regulação do sistema de transporte de membrana (KOZLOSKI, 2002).

O amido e derivados indisponibilizados, seguiriam para o abomaso, onde terminariam a degradação enzimática e posterior absorção pelas vilosidades intestinais, ou posterior fermentação no intestino grosso. O aumento da digestibilidade do amido não necessariamente estaria ligada com o aumento nos padrões fermentativos das dietas ou atividade amilolítica ruminal (TRICARICO; JOHNSTON; DAWSON, 2008b).

Ocorreu a diminuição da relação acetato:propionato nos animais que receberam dietas com alto amido (P=0,0011), que pode ter sido causado pelo aumento numérico na concentração de propionato, apesar do efeito não ter sido estatisticamente diferentes, novamente, como ocorreu o aumento numérico do denominador o valor resultante diminui, sendo possível encontrar efeito significativo. O aumento do propionato está ligado a maiores teores de carboidratos não estruturais na dieta.

10. CONCLUSÃO

Os fatores estudados apresentaram efeito de interação, portanto não atuam de forma independente sobre as características estudadas.

A adição de EAE em dietas de terminação de bovinos não apresentaram efeitos no desempenho, porém reduziu a AOL, deposição de gordura e padrão fermentativo ruminal.

A substituição do amido por pectina como fonte energética não afetou as carcaças e qualidade de carne de bovinos confinados, porém reduziu a eficiência alimentar dos animais.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

BEAUCHEMIN, K A e colab. **Effects of fibrolytic enzymes in corn or barley diets on performance and carcass characteristics of feedlot cattle**. Canadian Journal of Animal Science, 1997.

BLIGH EG AND DYER W J. **Canadian Journal of**. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959.

BRITO, Fernando de Oliveira. **Níveis de complexo enzimático em dietas para ruminantes Níveis de complexo enzimático em dietas para ruminantes**. 2010.

CARVALHO, M.P. **Substituição do milho por subprodutos energéticos em dietas de bovinos à base de bagaço de cana tratado à pressão e vapor**. 1998. 85 f. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil, 1998.

DUSKOVA, D. e MAROUNEK, M. **Fermentation of pectin and glucose , and activity of pectin-degrading enzymes in the rumen bacterium Lachnospira multiparus**. Letters in Applied Microbiology, v. 3, p. 163, 2001.

ELWAKEEL, E a e colab. **Fibrolytic enzymes to increase the nutritive value of dairy feedstuffs.** Journal of dairy science, v. 90, n. 11, p. 5226–36, 2007. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17954763>.

ERWIN, E.S. e MARCO, G.J. e EMERY, E.M. **Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography**. Journal of Dairy Science. [S.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022030261899566/fulltext>. , 1961

EUN, J.-S. e colab. **Effects of Supplementing a Fibrolytic Feed Enzyme on the Growth Performance and Carcass Characteristics of Beef Steers1**. The Professional Animal Scientist. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1080744615307294>. , 2009

FEGEROS, K e colab. **Nutritive value of dried citrus pulp and its effect on milk yield and milk composition of lactating ewes.** Journal of dairy science, v. 78, n. 5, p. 1116–1121, 1995. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76728-5>.

GETACHEW, G. e MAKKAR, H. P. S. e BECKER, K. **Tropical browses: contents of phenolic compounds, in vitro gas production and**

stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production. The Journal of Agricultural Science. [S.l: s.n.]. , 2002

HARGER, C. e SPRADA, D. e HIRATSUKA, E. Amilase Fúngica. Bioquímica das Fermentações,1982. .

HATFIELD, Ronald D. e WEIMER, P. J. **Degradation Characteristics of Isolated and In Situ Cell Wall Lucerne Pectic Polysaccharides by Mixed Ruminal Microbes**. Journal of Science, Food and Agriculture, v. 69, p. 185–196, 1995.

HOLTSHAUSEN, L. e colab. **Improved milk production efficiency in early lactation dairy cattle with dietary addition of a developmental fibrolytic enzyme additive**. Journal of Dairy Science, v. 94, n. 2, p. 899–907, 2011.

KLEEN, J. L. e colab. **Subacute ruminal acidosis (SARA): A review**. Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine, v. 50, n. 8, p. 406–414, 2003.

KOCH, R M e colab. **Characterization of biological types of cattle - Cycle II: III. Carcass composition, quality and palatability**. Journal of Animal Science, v. 49, n. 2, p. 448–460, 1976. Disponível em: <http://jas.fass.org/content/49/2/448.short>.

KOZLOSKI, G V. **Bioquímica dos Ruminantes**. 1. ed., 2002.

LANNA, Dante Pazzanese Duarte. **Fatores Condicionantes e Predisponentes da Puberdade e da Idade de Abate**. Artigo Técnico, 1993.

LOGGINS, P. E. e AMMERMAN, C. B. e ARRINGTON, L. R. **Pelleted rations high in citrus by products and corn for fattening lambs**. Journal of Animal Science, v. 27, n. 1, p. 745, 1964.

MCALLISTER, T. a. e colab. **Enzymes in Ruminant Diets**. Enzymes in Farm Animal Nutrition, p. 273–298, 2001.

MCALLISTER, T A e colab. **Effect of a surfactant and exogenous enzymes on digestibility of feed and on growth performance and carcass traits of lambs**. Can.J.Anim.Sci.2000.MAR.;80.(1.):35.-44., v. 80, n. 1, p. 35–44, 2000.

MENDOZA, G D e BRITTON, R A e STOCK, R A. **Effect of feeding mixtures of high moisture corn and dry-rolled grain sorghum on ruminal fermentation and starch digestion**. v. 32, 1999.

MENDOZA, G D e BRITTON, R A e STOCK, R A. **Ruminal fermentation and in situ starch digestion with high moisture corn , dry rolled grain sorghum or a mixture of these grains**. v. 74, 1998.

MILLER, D.R. e colab. **Effects of an exogenous enzyme, Roxazyme® G2 Liquid, on milk production in pasture fed dairy cows**. Animal Feed Science and Technology, v. 145, n. 1, p. 194–208, 2008.

MILLER, R.K. **Obtendo carne de qualidade consistente**. CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, n. anais, p. 123–142, 2001.

MOSCARDINI, M. C. **Substituição do milho moído fino por polpa cítrica e/ou farelo de glúten de milho em rações para bovinos terminados em confinamento**. 2008. 92 f. Universidade de São Paulo, 2008.

MUCHENJE, V. e colab. **Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review.** Food Chemistry, v. 112, p. 279–289, 2009.

NORMAN, G. A. **Effect of breed and nutrition on the productive traits of beef cattle in south-east Brazil: Part 3-Meat quality**. Meat Science, v. 6, n. 2, p. 79–96, 1982.

O'MARA, F. P. e colab. **A comparison of digestibility of some concentrate feed ingredients in cattle and sheep**. Animal Feed Science and Technology, v. 81, n. 1–2, p. 167–174, 1999.

OLIVEIRA, Leonardo Guimarães De e colab. **Performance of beef cattle bulls in feed lots and fed on diets containing enzymatic complex**. Acta Scientiarum. Animal Sciences, v. 37, n. 2, p. 181, 2015. Disponível em: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/26446>.

PEREIRA, E. M e colab. **Estimativa de energia metabolizável de rações com polpa cítrica em substituição ao milho para tourinhos em terminação**. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 36, n. 1, p. 216–224, 2007.

RESENDE, F M. **Prospecção da infuência de marcadores genéticos sobre características de crescimento, carcaça e qualidade de carne em bovinos da raça Nelore**. 2009. 171 f. 2009.

RODRIGUES, Paulo Henrique Mazza e colab. **Efeito da Adição de Níveis Crescentes de Polpa Cítrica sobre a Qualidade Fermentativa e o Valor Nutritivo da Silagem de Capim-Elefante**. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 34, n. 4, p. 1138–1145, 2005.

ROJO, R. e colab. **Effects of exogenous amylases from Bacillus licheniformis and Aspergillus niger on ruminal starch digestion and lamb performance**. Animal Feed Science and Technology, v. 123–124 PA, p. 655–665, 2005.

SAMPAIO, A.A.M. e ANDRADE, P. e OLIVEIRA, M.D.S. **Uso de rações com diferentes níveis de proteína e fontes de energia na alimentação de bovinos confinados**. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia1, v. 13, n. 4, p. 528–534, 1984.

SCHALCH, Fernando José e colab. **Substituição do Milho em Grão Moído pela Polpa Cítrica na Desmama Precoce de Bezerros Leiteiros Substitution of the Corn Grain Ground by Citric Pulp in the Early Weaning of Dairy Calves**. v. 30, n. 1, p. 280–285, 2001.

TRICARICO, J. M. e JOHNSTON, J. D. e DAWSON, K. A. **Dietary supplementation of ruminant diets with an Aspergillus oryzae ??-amylase**. Animal Feed Science and Technology, v. 145, n. 1–4, p. 136–150, 2008a.

TRICARICO, J. M. e JOHNSTON, J. D. e DAWSON, K. A. **Dietary supplementation of ruminant diets with an Aspergillus oryzae a-amylase**. Animal Feed Science and Technology, v. 145, n. 1–4, p. 136–150, 2008b.

TRICARICO, J M e colab. **Effects of a dietary Aspergillus oryzae extract containing alpha-amylase activity on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle**. Journal of Animal Science, v. 85, n. 3, p. 802–811, 2007. Disponível em: <<Go to ISI>://000245678200028>.

VAN SOEST, P J. **Nutritional ecology of the ruminants**. [S.l: s.n.], 1982. v. 2.

VARGAS, J.M. e colab. **Effect of Exogenous Fibrolytic Enzymes on Ruminant Performance**. v. 45, n. 2, p. 297–306, 2008.

YU, L. H. e colab. **Effects of thawing temperature on the physicochemical properties of pre-rigor frozen chicken breast and leg muscles**. Meat Science, v. 71, p. 2009, 7 Nov 2005. Disponível em: <http://arxiv.org/abs/1011.1669>.