

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Efeitos da adição de complexo de carboidrases em dietas com diferentes níveis do coproduto de etanol de milho DDBS (fibra seca de destilaria com solúveis) para bovinos de corte em confinamento

Bárbara Martins Brixner

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

**Piracicaba
2023**

Bárbara Martins Brixner
Zootecnista

Efeitos da adição de complexo de carboidrases em dietas com diferentes níveis do coproduto de etanol de milho DDBS (fibra seca de destilaria com solúveis) para bovinos de corte em confinamento
versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **FLÁVIO AUGUSTO PORTELA SANTOS**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens

Piracicaba
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Brixner, Bárbara Brixner.

Efeitos da adição de complexo de carboidrases em dietas com diferentes níveis do coproduto de etanol de milho DDBS (fibra seca de destilaria com solúveis) para bovinos de corte em confinamento / Bárbara Martins Brixner.- - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2023.

82 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Enzimas 2. Confinamento 3. Co-produtos 4. Amido 5. Fibra I. Título

Aos meus avós, Silvino (*in memoria*) e Dirce.

Aos meus pais, Celso e Silvana, e à minha irmã, Beatrice Fernanda.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por sempre me dar forças e persistência nessa caminhada e por guiar meus passos durante todo o tempo.

Aos meus familiares que sempre me apoiaram. Principalmente aos meus pais, Silvana Regina Martins Brixner e Celso Afonso Brixner e irmã Beatrice Fernanda Martins Brixner. Aos meus avós, em memória, meu avô, Doutor Silvino, meu exemplo, a quem dedico minhas vitórias e meu eterno amor. A minha avó, Dirce, pelas virtudes ensinadas, orações e carinho.

Ao Elvis Calderan e sua família por terem se tornado minha família mesmo estando tão longe de casa. A vocês todo meu carinho e gratidão, Teresa, Gilmar, Stefanie e Suellen.

Aos membros do Clube de Práticas Zootécnicas – CPZ pela indescritível ajuda na condução dos experimentos. Em especial pela amizade do Nicolas Ferreira (Q-ig) e Isaque Vicci (Newton). Ao estagiário, João Pedro Galesi (Vidi- Baxo) por ser meu suporte.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Flávio Augusto Portela Santos, por todos os ensinamentos, paciência e auxílio. Ao Prof. Dr. Marco Antônio Penati por todo auxílio e oportunidade desde que cheguei a universidade.

Ao Prof. Daniel Montanher Polizel pelo conhecimento e exemplo ao longo desse período de convivência. Muito obrigada, por todos os conselhos, ajuda, conversas e disponibilidade.

Ao Prof. Dr. Alexandre Vaz Pirez, pelos conselhos, incentivo e solicitude com os empréstimos de implementos e animais que envolveram os experimentos.

Aos professores do departamento de Zootecnia da ESALQ e do campus de Pirassununga, por todos os ensinamentos transmitidos e esforços realizados diante da situação de distanciamento social.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz - ESALQ, pelas diversas oportunidades e crescimento dentro do curso, e a possibilidade da realização de um grande sonho.

Aos membros do Grupo de Pesquisa em Nutrição de Ruminantes (NUTRIBOV) por todo crescimento pessoal e profissional.

Aos membros do Grupo de Pesquisa em Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) e Grupo do Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA) sempre solícitos em conceder materiais para realizar os experimentos, assim como pelos conselhos e ajuda.

A equipe do ESALQ LAB em auxiliar nas dúvidas e disponibilizar o espaço para a realização das análises, assim como a técnica Luciana.

Aos funcionários do departamento de Zootecnia, em especial ao Elvis, Alex, Richard, Alexandre, Jucelino, Emerson, Francisco, Pedro, Dona Rose, Dona Rosa, e em memória o Sr. Wagner pela disponibilidade e atenção em auxiliar na condução do experimento. A equipe administrativa por sempre esclarecer dúvidas e atender as solicitações de serviço, sobretudo a Nalighia, Daiane, Ângela, Rafael e Robson.

Aos meus amigos de Piracicaba, Cynthia, Felipe, Alex e Fabiana pelo apoio e convívio nessa nova jornada na minha vida. Aos meus amigos de Campo Grande, em especial a Gabriella Souza, Bruna de Sá e Gabriela Aquino pela amizade e torcida ao longo desses anos, no qual permanece mesmo com a distância.

A Empresa Adisseo Company e a Fernanda Lopes pelo financiamento e apoio ao projeto, e pela oportunidade e confiança em mim depositada para a condução dos experimentos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos – Código de Financiamento 001.

Enfim, agradecer a todos que participaram da minha trajetória acadêmica ou auxiliou no desenvolvimento desse trabalho.

Sou imensamente grata.

Muito obrigada!

“Sabemos muito pouco sobre o que nós somos e menos ainda o que podemos ser”.

Lord Byron

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	11
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	14
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1. Digestão de amido em dietas para bovinos confinados.....	21
2.2. Uso de co-produtos da indústria de etanol de milho na dieta de bovinos	23
2.3. Enzimas e complexos enzimáticos	26
2.3.1 Uso de enzimas para ruminantes.....	26
2.3.2. Enzimas fibrolíticas	27
2.3.3. Xilanase e β -glucanase.....	29
2.3.4. Modo de ação das celulasas e arabinocelulasas	31
2.3.6. Impactos dos complexos enzimáticos no desempenho e metabolismo de bovinos de corte.....	35
3. MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1 Experimento de desempenho animal.....	39
3.1.1. Local do experimento e animais.....	39
3.1.2. Delineamento experimental.....	39
3.1.3. Tratamentos	40
3.1.4. Manejo alimentar.....	41
3.1.5. Amostragem e análise bromatológica dos ingredientes	43
3.1.6. Determinação do amido fecal.....	46
3.1.7. Determinação do desempenho animal.....	47
3.1.8. Análises de carcaça	47
3.1.9. Cálculo de energia líquida das rações	48
3.1.10. Análise estatística	49
3.2. Experimento de metabolismo	50
3.2.1. Local do experimento	50
3.2.2. Delineamento experimental.....	50
3.2.3. Manejo alimentar.....	50

3.2.4. Análises experimental.....	51
3.2.4. Análise estatística.....	53
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
4.1. Experimento de desempenho animal.....	55
4.2. Experimento de metabolismo animal.....	62
5. CONCLUSÕES.....	69
REFERÊNCIAS.....	71

RESUMO

Efeitos da adição de complexo de carboidrases em dietas com diferentes níveis do coproduto de etanol de milho DDBS (fibra seca de destilaria com solúveis) para bovinos de corte em confinamento

A utilização de enzimas na nutrição de bovinos confinados pode ser uma estratégia efetiva para melhorar o aproveitamento total da dieta, através do aumento na digestibilidade dos nutrientes e do perfil de fermentação ruminal, proporcionando melhorias no desempenho animal com menor produção de metano. A inclusão de coprodutos da indústria de etanol de milho também tem o potencial de aumentar a densidade energética de dietas para bovinos em terminação. Objetivou-se estudar a resposta de bovinos de corte confinados à inclusão de doses (0, 75 e 100 mg/ kg MS) de complexo de carboidrases (CE) associadas a baixa (15%) ou alta (45%) inclusão do coproduto da indústria de etanol de milho DDBS (fibra seca de destilaria com solúveis), sobre o desempenho animal, a fermentação ruminal e a digestibilidade aparente dos nutrientes no trato total. No experimento de desempenho animal foram utilizados 389 machos cruzados inteiros para avaliar os efeitos dos tratamentos sobre consumo de MS, ganho de peso, eficiência alimentar, características de carcaça, densidade energética das dietas e a concentração de amido fecal. No experimento de metabolismo animal foram avaliados os parâmetros de fermentação ruminal e a digestibilidade aparente dos nutrientes no trato digestivo total de 30 machos Nelore castrados e canulados no rúmen. O delineamento para ambos os experimentos foi em blocos casualizados, sendo utilizados dois níveis de coprodutos da indústria de etanol do milho (DDBS) e 3 doses do CE. Os dados foram analisados utilizando o procedimento PROC MIXED do SAS 9.4 (SAS Inc, Cary, NC) para um delineamento de blocos completos ao acaso. Os resultados foram relatados como médias dos quadrados mínimos e a significância foi definida como $P \leq 0,05$ e as tendências foram relatadas quando $0,05 < P \leq 0,10$ usando o Teste de Tukey. Contrastes ortogonais foram realizados para avaliar os efeitos das doses do CE. No experimento de desempenho animal não houve interação entre DDBS e CE ($P \geq 0,3161$), para as variáveis CMS, peso final, GPD, EA, amido fecal, características de carcaça e densidade energética das dietas. O uso do CE não teve efeito sobre o CMS, peso final, GPD, EA, amido fecal, características de carcaça e densidade energética das dietas ($P \geq 0,519$). A inclusão de 45% de DDBS na dieta aumentou o GPD ($P = 0,02$), a EA ($P = 0,0365$), a ELm ($P = 0,032$) a ELg ($P = 0,0381$) e reduziu o teor de amido fecal ($P < 0,0001$) em comparação com a inclusão de 15%. No experimento de metabolismo não houve efeito de tratamento para o CMS ($P \geq 0,2782$) mas a inclusão de 45% de DDBS aumentou o consumo de MM ($P = 0,033$), FDN ($P = 0,01$) e de EE ($P = 0,0048$). As digestibilidades da MS, MO, CHOT, FDN e de CNF não foram afetadas pelos tratamentos ($P \geq 0,204$). A inclusão de CE causou aumento linear na digestibilidade do EE ($P = 0,0269$). Houve interação ($P = 0,0211$) entre DDBS e CE para a digestibilidade da proteína, que aumentou com o aumento da dose de CE apenas nas dietas com 15% de DDBS. Não houveram interações entre as doses do CE e o nível de DDBS para as variáveis de fermentação ruminal ($P \geq 0,1847$). A inclusão de 45% de DDBS aumentou o pH ruminal ($P = 0,0264$), enquanto o fornecimento do CE tendeu ($P = 0,095$) a aumentar a concentração molar de propionato ruminal e a reduzir ($P = 0,055$) a relação C2:C3. Em conclusão, a inclusão de 45% de DDBS na dieta em comparação com 15%

resultou em melhor desempenho animal, enquanto o complexo enzimático melhorou a eficiência da fermentação ruminal de bovinos confinados.

Palavras-chave: Aditivos, Coprodutos, Desempenho, Enzima, Metabolismo

ABSTRACT

Effects of the addition of carbohydrase complex in diets with different levels of distillers bran plus solubles for finishing beef cattle

The use of enzymes in the diets of feedlot cattle may be an effective strategy to increase the digestibility of nutrients and improving animal performance. Feeding corn ethanol byproducts also has the potential to increase diet energy content for feedlot cattle. The objective of this study was to evaluate the response of feedlot beef cattle to the inclusion of doses (0, 75 and 100 mg/ kg DM) of a carbohydrase complex (CE) associated with low (15%) or high inclusion (45%) of distillers bran plus solubles (DDBS) on performance, total tract apparent digestibility of nutrients and rumen fermentation. In the performance trial 389 crossbred yearling bulls were used to evaluate the effects of treatments on DMI, FBW, ADG, G:F, observed diet NE, carcass characteristics and fecal starch. In the metabolism trial 30 Nellore steers cannulated in the rumen were used to evaluate the effects of treatments on nutrient intake and digestibility in the total tract and on rumen fermentation. For both experiments the experimental designs were randomized complete blocks, with two levels of DDBS and 3 doses of CE. Data were analyzed using the SAS 9.4 PROC MIXED procedure (SAS Inc, Cary, NC). Results were reported as least squares means and significance was defined as $P \leq 0.05$ and trends were reported when $0.05 < P \leq 0.10$ using Tukey's Test. Orthogonal contrasts were performed to evaluate the effects of the enzyme complex doses. In the performance study there was no interaction between DDBS and CE ($P \geq 0,3161$) for DMI, FBW, ADG, G:F, fecal starch, carcass traits and diet NE. The inclusion of CE in the diets did not affect DMI, FBW, ADG, G:F, fecal starch, carcass traits and diet NE content ($P \geq 0,519$). The inclusion of 45% DDBS in the diets increased ADG ($P = 0,02$), G:F ($P = 0,0365$), NEm ($P = 0,032$), NEg ($P = 0,0381$) and decreased the fecal starch ($P < 0,0001$) compared with 15%. In the metabolism study there was no effect of treatments on DMI ($P \geq 0,2782$), but the inclusion of 45% of DDBS increased the intake of ash ($P = 0,033$), NDF ($P = 0,01$) and EE ($P = 0,0048$). Digestibilities of DM, OM, TCHO, NDF and NFC were not affected by treatments ($P \geq 0,204$). The inclusion of CE increased linearly the digestibility of EE ($P = 0,0269$). There was interaction ($P = 0,0211$) between DDBS and CE for protein digestibility, which increased as CE doses increased only in the diets with 15% DDBS. There were no interactions between DDBS and CE for the rumen fermentation variables ($P \geq 0,1847$). Feeding 45% DDBS increased ruminal pH compared with 15% ($P = 0,0264$), while feeding CE tended ($P = 0,095$) to increase the molar concentration of propionate in the rumen and tended to decrease the C2:C3 ($P = 0,055$). In conclusion, DDBS has greater NE content than flint ground corn and when it is included at 45% in finishing diets it increases diet NE content, cattle ADG and G:F compared with 15%. The CE tested improved the efficiency of rumen fermentation in feedlot cattle.

Keywords: Additives, Co-products, Performance, Enzyme, Metabolism

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Relação entre vitreosidade do grão de milho e a disponibilidade ruminal do amido avaliados em híbridos dentados norte-americanos (■) e do tipo flint produzidos no Brasil (▲). Disponibilidade = $A + B [Kd / (Kd + Kp)]$. Disponibilidade = $108,2 - \text{Disponibilidade} = 108,2 - 0,7605 * \text{Vitreosidade}$. $R^2=0,87$. $P < 0,001$ 22
- Figura 2. Processo de extração de etanol a partir do milho com a separação da fibra antes da etapa de fermentação (Fiber Separation Technology™). Adaptado de Garland (2018). 24
- Figura 3. Esquema de classificação dos carboidratos na célula vegetal (Luchesi, 2013, adaptado de Hall, 2003) FDA = fibra em detergente ácido, FDN = fibra em detergente neutro, FSND = fibra solúvel em detergente neutro (incluindo todos os polissacarídeos não-amiláceos ausentes na FDN). CNF = Carboidratos não fibrosos. 28
- Figura 4. Representação dos polissacarídeos não amiláceos totais (PNAs-T*) do grão de milho e DDGS. 29
- Figura 5. Representação a estrutura da arabinoxilana, principal polímero constituinte da hemicelulose. 30
- Figura 6. Mecanismo de ação da celulase. 32
- Figura 7. Estrutura da xilana e sítios de ação das enzimas xilanolíticas e acessórias. 33
- Figura 8. Representação esquemática da ação enzimática na degradação do arabinoxilano. 34
- Figura 9. Representação esquemática da atuação do complexo enzimático sobre os PNAs. 34
- Figura 10. Imagem de ultrassom coletada e interpretada (AOL-95cm²; EGS=15,4mm). 48
- Figura 11. Efeito das doses enzimáticas, nos diferentes períodos de coleta sobre o amido fecal. 55
- Figura 12. Efeito da dose de CE na digestibilidade da proteína bruta. 62
- Figura 13. Variação do pH ruminal, em função do tempo, nas diferentes inclusões de DDDBS da dieta. 66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise química do WDBS e DDBS em trabalhos da literatura	25
Tabela 2. Teor em PNA totais, arabinoxilanos totais (% em relação à matéria seca) e suas respectivas frações solúveis (% do total) de milho e DDGS	29
Tabela 3. Composição das dietas experimentais de adaptação*	41
Tabela 4. Composição das dietas experimentais	42
Tabela 5. Composição das misturas minerais e vitamínicas	43
Tabela 6. Tamanho médio e distribuição do tamanho de partícula do milho moído ¹	44
Tabela 7. Tamanho médio e distribuição do tamanho de partícula do bagaço de cana e da dieta total (TMR)	44
Tabela 8. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais	46
Tabela 9. Composição química das dietas experimentais no período após a adaptação	46
Tabela 10. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais do experimento de metabolismo animal	51
Tabela 11. Desempenho de bovinos de corte cruzados alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDBS (fibra seca de destilaria de etanol de milho) e doses de CE (complexo enzimático)	59
Tabela 12. Características de carcaça de bovinos de corte cruzados alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDBS (fibra seca de destilaria de etanol de milho) e doses de CE (complexo enzimático)	60
Tabela 13. Concentração de energia líquida de manutenção (ELm) e de ganho (ELg) em dietas contendo níveis diferentes de DDBS (fibra seca de destilaria de etanol de milho) e de doses de CE (complexo enzimático) para bovinos em terminação	61
Tabela 14. Efeitos de níveis de DDBS e de CE no consumo em bovinos canulados confinados	64
Tabela 15. Efeitos de níveis de DDBS e de CE na digestibilidade aparente total em bovinos canulados confinados	65
Tabela 16. Efeitos de níveis de DDBS e de CE nos parâmetros ruminais em bovinos canulados confinados	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AOL	Área de olho de lombo
CE	Complexo Enzimático
CMS	Consumo de matéria seca
CNF	Carboidratos não fibrosos
DGs	Distiller's Grains
DDBS	Dried distillers bran plus solubles
DDGS	Dried distiller's grains solubles
EA	Eficiência alimentar
EA	Enzimas Amilacéas
EE	Extrato etéreo
EF	Enzimas Fibrolíticas
Eg	Energia de ganho
EGS	Espessura de gordura subcutânea
EL	Energia líquida
ELg	Energia líquida de ganho
ELm	Energia líquida de manutenção
Em	Energia de manutenção
FDA	Fibra insolúvel em detergente ácido
FDN	Fibra insolúvel em detergente neutro
FSDN	Fibra solúvel em detergente neutro
GPD	Ganho de peso diário
HPDG	High Protein Dry Distillers Grains Plus Solubles
MM	Matéria mineral
MS	Matéria seca
MO	Matéria orgânica
NRC	National Research Council
NDT	Nutrientes digestíveis totais

PNAs	Polissacarídeos não amilacéos
PNAs-T	Polissacarídeos não amiláceos totais
TMP	Tamanho médio de partícula
WDBS	Wet distiller's grains solubles

1. INTRODUÇÃO

Dietas contendo alta densidade energética tem sido adotada por inúmeros confinamentos no Brasil, devido ao interesse maior dos pecuaristas em acelerar o processo de abate e facilitar o processo operacional do sistema de produção (SILVESTRE & MILLEN, 2021). Dietas com alta inclusão de grãos proporcionam maior ganho de peso, melhor eficiência alimentar e melhores características de carcaça, o que pode tornar a atividade mais rentável (PRESTON, 1998; NUNEZ, 2008).

O milho é o grão mais utilizado em dietas nos confinamentos no Brasil (SILVESTRE & MILLEN, 2021), porém os coprodutos oriundos da produção de etanol do milho têm despertado o interesse do setor produtivo, em virtude das suas características de preço e valores nutricionais (UNEM, 2018). Dentre os coprodutos da indústria de etanol de milho, um dos produtos mais utilizados é o grão destilado seco com solúveis (*dry distillers grains plus solubles* - DDGS). Mais recentemente, com a tecnologia de separação de fibras antes do processo fermentativo na produção de etanol (GARLAND et al., 2019a), tem sido produzida a fibra seca de destilaria com solúveis (*dry distillers bran plus solubles* - DDBS).

Além da utilização de ingredientes que possam favorecer o ambiente ruminal e o desempenho animal, a adição de enzimas em dietas com altos teores de concentrado pode contribuir para minimizar os efeitos depressores da digestão da fibra durante períodos de baixo pH (PITT, 1990, citado por LOURES et al., 2005). Em diversos estudos onde foram testados aditivos enzimáticos em dietas para ruminantes, tem sido relatado melhora na digestibilidade da fibra (JUDKINS e STOBART, 1988; BEAUCHEMIN et al., 1995; BEAUCHEMIN et al., 1997; RODE et al., 1999; CRUYWAGEN e GOOSEN, 2004).

O uso de carboidrases para melhorar a energia da ração tem se tornado prática comum em dietas para animais monogástricos. As carboidrases, predominantemente xilanase e β -glucanase respondem por mais de 80% do mercado global desse aditivo (ADEOLA & COWIESON, 2011). Tem sido demonstrado que a suplementação de xilanase, β -glucanase e arabinofuranosidase em dietas de aves de corte e podeiras pode melhorar a utilização de energia e de proteína e a digestibilidade de nutrientes, resultando em melhor desempenho (RAVINDRAN, 2013a; COZANNET et al., 2017; SALEH et al., 2019).

O principal mecanismo de ação das enzimas endógenas fibrolíticas é a atuação sobre a estrutura da parede celular presentes nos grãos. Estas enzimas atuam em sinergia com as xilanases para quebrar com eficiência as estruturas fibrosas complexas das paredes celulares vegetais, realizando a hidrólise dos polímeros de arabinoxilano dos cereais, como por exemplo, o milho.

O arabinoxilano é composto por estrutura de xiloses, interligadas por ligações β -(1,4), sendo um dos principais elementos da fração da hemicelulose. Os animais monogástricos não possuem a capacidade enzimática de digerir celulose, arabinoxilano, beta-glucanos, pectinas, ou seja, não digerem os polissacarídeos não amiláceos (FISCHER et al, 2002). Esses componentes da estrutura vegetal aumentam a viscosidade do quimo intestinal, influencia a velocidade de passagem dos alimentos ao longo do trato digestivo e dificulta a ação das enzimas endógenas, interferindo na difusão ou transporte dos nutrientes e, conseqüentemente, diminuem a digestibilidade desses nutrientes em monogástricos (DE BRITO et al., 2008).

Em ruminantes, também tem sido relatada elevação na taxa de passagem dos ingredientes, tendo como efeito uma menor degradação dessas frações. A menor digestibilidade está associada, principalmente a elevação do consumo de MS, devido ao menor tempo de retenção dos sólidos no rúmen (FENG et al., 1996).

Assim, a adição de EF (enzimas fibrolíticas) nas dietas aumenta a capacidade das enzimas endógenas acessarem os seus substratos (BEDFORD, 2000; LESLIE et al., 2007; TAHIR et al., 2008), podendo aumentar a digestibilidade dos nutrientes e o desempenho animal.

Atualmente, existe um número limitado de produtos enzimáticos para ruminantes (BRITO, 2010). Contudo, a variabilidade nas repostas obtidas é grande, de modo que, pesquisas ainda são importantes para diminuir a variação desses resultados (YANG et al., 2011). Dentre os fatores que pode causar essas inconsistências nos resultados e que precisam ser melhor estudados são a dosagem dessas enzimas, sendo um dos principais fatores responsáveis pela eficácia dos produtos enzimáticos (BRITO, 2010), a composição da dieta (por exemplo, relação volumoso: concentrado), a estabilidade da enzima e o método de aplicação (BEAUCHEMIN & RODE, 1996). Nos trabalhos com ruminantes, os níveis de enzimas normalmente utilizados variam entre 0,5 a 2 mg/g (ou g/kg) de MS da dieta total (BEAUCHEMIN et al., 2003).

O fornecimento de enzimas em quantidade adequada no ambiente ruminal pode modular a fermentação ruminal e, assim reduzir os riscos de distúrbios metabólicos (POLIZEL, 2017; BERCHIELLI & BERTIPAGLIA, 2010), reduzir o custo de produção (KRAUSE et al., 2003) e potencializar o aproveitamento dos nutrientes para a conversão em produto animal. Além disso, com o aumento das medidas restritivas ao uso de antibióticos para produção animal, é crescente o interesse pela utilização de enzimas na nutrição de ruminantes como estratégia para otimizar os sistemas de produção (BEAUCHEMIN et al., 2003).

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar o desempenho e o metabolismo de bovinos em confinamento, recebendo dietas com alta ou baixa inclusão de DDBS e doses de um complexo de carboidrases.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Digestão de amido em dietas para bovinos confinados

A inclusão de grãos e coprodutos tem crescido de forma consistente nas dietas para bovinos em terminação nos confinamentos brasileiros e o principal ingrediente energético é o milho tipo “flint” (SILVESTRE & MILLEN, 2021).

O milho tipo duro ou flint é predominantemente usado na América do Sul, sendo caracterizado por apresentar alta vitreosidade e conseqüentemente, menor digestibilidade do amido no trato total em comparação com cultivares de milho dentado (CORREA et al., 2002; MARQUES et al., 2011; GOUVÊA et al., 2012). A vitreosidade é definida como a proporção de endosperma vítreo com relação ao endosperma total (SHULL et al., 1990), sendo o fator responsável por 86% da variação na digestibilidade ruminal do amido (PHILLIPEAU & DOREAU, 1998). Existe forte correlação negativa entre vitreosidade e degradabilidade do amido, com menor degradabilidade no rúmen (TAYLON & ALLIEN, 2005; PHILIPPEAU & MICHALET-DOUREAU, 1998) e menor digestibilidade total do amido (CORREA et al., 2002) de cultivares de milho *flint* comparados com cultivares dentados.

Ao comparar a vitreosidade dos grãos híbridos americanos e brasileiros sobre a cinética de degradação ruminal da MS e do amido, Correa et al (2002) observaram que os híbridos brasileiros apresentaram vitreosidade média, no estágio maduro, de 73,1% do endosperma, já os híbridos americanos apresentaram valor médio de 48,2% (Figura 1).

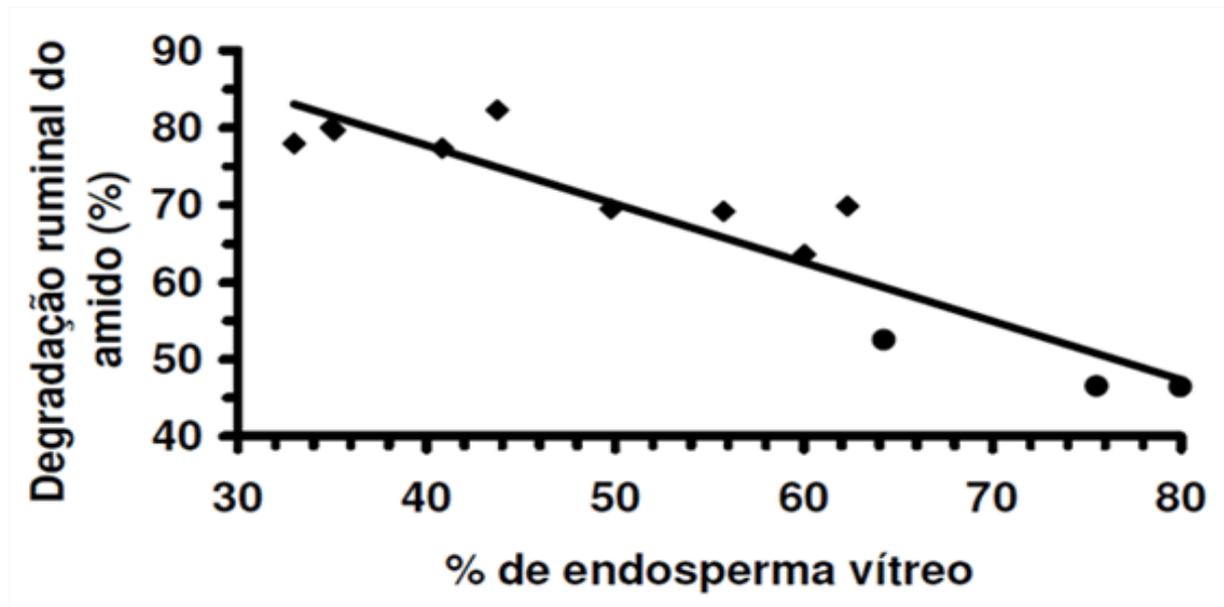


Figura 1. Relação entre vitreosidade do grão de milho e a disponibilidade ruminal do amido avaliados em híbridos dentados norte-americanos (■) e do tipo flint produzidos no Brasil (▲). Disponibilidade = $A + B [Kd / (Kd + Kp)]$. Disponibilidade = $108,2 - 0,7605 \cdot \text{Vitreosidade}$. $R^2=0,87$. $P < 0,001$.

Adaptado de Correa et al. (2002).

O endosperma vítreo caracteriza-se pelo auto adensamento dos grânulos de amido e principalmente, pela presença de uma densa matriz proteica que envolve esses grânulos. A presença da matriz proteica dificulta o acesso ao amido pelos microrganismos amilolíticos, pois esta é resistente à adesão e penetração dos microrganismos, assim como dificulta o acesso ao amido das enzimas pancreáticas e intestinais dos ruminantes (McALLISTER et al., 1993), reduzindo a hidrólise enzimática (HARMON & TAYLOR, 2005).

Dessa forma, estratégias para tornar o amido mais acessível são necessárias para potencializar os sistemas de produção, visto que, esse representa cerca de 70% da MS dos grãos de milho e de sorgo (ROONEY e PFLUGFELDER, 1986). Dentre as estratégias, o processamento intenso dos grãos de milho e de sorgo (THEURER, 1986), possibilitam que haja um aumento da disponibilidade do amido, aumentando a concentração de energia rapidamente fermentável no rúmen, com maior produção de ácidos graxos voláteis totais, além de maior digestibilidade do amido que chega ao intestino delgado, resultando em melhora no desempenho dos animais (OWENS et al., 1997; ZINN et al., 2002). Mais recentemente, o uso de enzimas tem sido estudado como ferramenta potencial para aumentar a digestão de nutrientes, dentre eles o amido, em dietas para bovinos (NEIVA, 2018).

2.2. Uso de co-produtos da indústria de etanol de milho na dieta de bovinos

A produção do etanol a partir da moagem do milho gera coprodutos que podem ser amplamente utilizados na alimentação animal, atuando como fontes de proteína e energia em dietas para ruminantes (CARLSON, 2017).

O etanol gerado a partir do milho pode ser obtido por diferentes processamentos. No método convencional, ocorre a moagem do grão inteiro, submetendo todo o conteúdo do grão ao processo fermentativo promovido pelas leveduras (componentes fermentáveis e não fermentáveis). No método fracionado, ocorre a extração da fibra antes da fermentação. Uma dessas tecnologias é denominada FiberSeparation Technology™ ([FST] ICM Inc., Colwich, KS), a qual consiste em separar a fração fibrosa do grão (pericarpo) dos demais componentes (gérmen e endosperma) antes do processo fermentativo (SINGH et al., 2005; WANG et al., 2005; KHULLAR et al., 2009). De acordo com Garland et al. (2019a) o processo compreende as etapas de cozimento do grão ao longo de horas em presença de complexos enzimáticos específicos de cada empresa, formando uma massa, conhecida como mosto. O mosto é então removido para o tanque de fermentação, porém anteriormente é realizada a separação da fração fibrosa dos grãos (pericarpo) dos demais componentes (gérmen e endosperma). Após a fermentação ocorre a destilação e a obtenção do etanol. O material grosseiro que sobra é centrifugado, dando origem à vinhaça, ao DDG de alta proteína (HPDG) e ao óleo (remoção parcial). A vinhaça é evaporada até formar os condensados solúveis (CDS) ou xarope, que é adicionado à fibra úmida, separada antes da fermentação do grão, resultando em um coproduto denominado como “Bran plus solubles” por Garland (2018) e Garland et al. (2019a), que pode ser fornecido na forma úmida ou seca (Figura 2). No presente estudo serão adotadas as denominações WDBS para a fibra úmida de destilaria com solúveis e DDBS para a fibra seca de destilaria com solúveis, conforme as denominações adotadas por Lima Jr. et al. (2022).

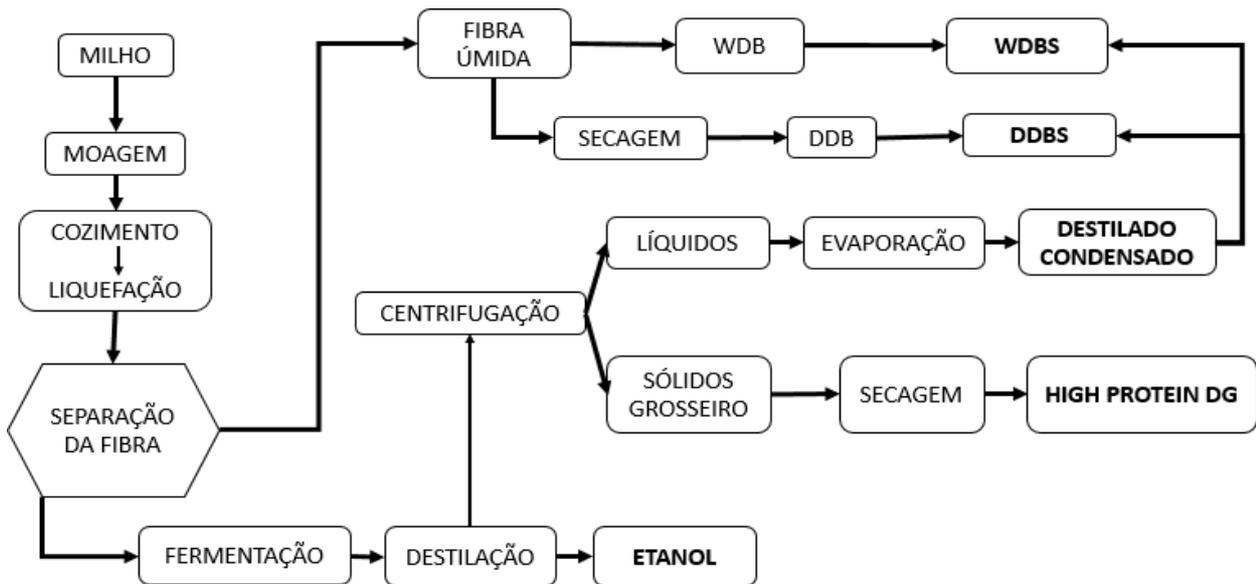


Figura 2. Processo de extração de etanol a partir do milho com a separação da fibra antes da etapa de fermentação (Fiber Separation Technology™). Adaptado de Garland (2018).

Do ponto de vista industrial, a remoção da fibra antes da fermentação possibilita uma maior eficiência durante o processo de fermentação, visto que, há maior concentração de amido no substrato passível de ser fermentado nos fermentadores, aumentando a capacidade de produção de etanol.

Do ponto de vista nutricional, devido ao processo fermentativo e conversão do amido em etanol, ocorre que a proteína e os carboidratos estruturais se concentram no HPDG (High Protein Dry Distillers Grains Plus Solubles), no WDBS e no DDDBS, originando coprodutos com teores mais altos de proteína, extrato etéreo e de carboidratos estruturais e mais baixos em amido que dos grãos de cereal utilizados (Garland et al. 2019a; 2019b). No Brasil, há 2 empresas adotam tecnologias distintas de separação de fibra, a FS Bioenergia (tecnologia ICM), localizada em Lucas do Rio Verde, no estado de Mato Grosso e a SJC (tecnologia Fluid Quip), localizada em Quirinópolis, no estado de GO, originando coprodutos diversos.

Trabalhos têm sido realizados pelo grupo de estudo NUTRIBOV da ESALQ/USP, com os diferentes coprodutos da indústria, no qual Lima Jr. et al. (2022) utilizaram o WDBS da empresa SJC, enquanto Antunes (2020) testou o WDBS e o DDDBS da FS Bioenergia (Tabela 1).

Tabela 1. Análise química do WDBS e DDBS em trabalhos da literatura

REFrência	Coproducto	Análise química (% MS)		
		PB	FDN	EE
Lima Jr. et al. (2022)	WDBS	39,00	52,50	6,79
Antunes (2020)	WDBS	18,20	50,50	10,90
Antunes (2020)	DDBS	18,20	48,60	10,30
Garland et al. (2019a)	DDBS	33,50	32,30	9,80

A literatura ainda é escassa quanto aos dados de composição química do WDBS e do DDBS, porém é abundante (NASEM, 2016) em dados do WDGS (grãos destilados úmidos com solúveis) e do DDGS (grãos destilados secos com solúveis). De acordo com o NASEM (2016) tanto o WDGS quanto o DDGS são fontes ricas em proteína, principalmente de proteína não degradável no rúmen (PNDR) e com valores energéticos mais altos que do milho moído seco. O teor de óleo desses coprodutos varia conforme o grau de extração aplicado pelas empresas. Os dados de composição apresentados pelo NASEM (2016) referem-se aos coprodutos sem extração de óleo, porém, mais recentemente as indústrias têm cada vez mais realizado a extração parcial do óleo dos grãos de cereais durante o processo de produção de etanol (BREMER et al., 2015; BREMER et al., 2014).

De acordo com a meta-análise conduzida por Bremer et al. (2011) e citada pelo NASEM (2016), tanto o WDGS quanto o DDGS têm efeito positivo no ganho de peso e na eficiência alimentar de bovinos confinados, quando incluídos nas dietas de terminação em substituição parcial ao milho dentado laminado seco ou ao milho grão úmido e às combinações entre ambos. Com relação ao WDBS, Lima Jr. (2022), também relatou maior valor energético da dieta e melhor eficiência alimentar de bovinos confinados, quando esse coproduto substituiu misturas de milho flint moído, polpa cítrica e farelo de soja. Antunes (2020) relatou maior ganho de peso de bovinos quando o DDBS foi incluído em 30% da dieta em substituição à mistura de milho flint moído, caroço de algodão e farelo de soja.

2.3. Enzimas e complexos enzimáticos

2.3.1 Uso de enzimas para ruminantes

O primeiro estudo sobre suplementação enzimática para animais foi publicado em 1960 (BURROUGHS et al., 1960). Desde então, o mecanismo de ação das enzimas tem sido amplamente estudado (FENG et al., 1996). A utilização de enzimas para monogástricos já é bem difundida, sendo buscado resultados semelhantes para ruminantes (CHEN et al., 1979; BEAUCHEMIN et al., 1997 e McALLISTER et al., 2000). Nos últimos anos estudos com ruminantes foram publicados avaliando o uso de enzimas fibrolíticas (BEAUCHEMIN et al. 1995; MEALE et al., 2014), sendo que as mais estudadas são as xilanases, celulasas e as glucanases (DE BRITO et al., 2008).

As enzimas são produtos biotecnológicos utilizados como aditivo zootécnico e caracterizam-se pelo extrato enzimático concentrado produzido pela fermentação fúngica ou bacteriana (QUEIROZ et al., 2004). Os produtos comerciais à base de enzimas são extratos da fermentação de bactérias (*Bacillus sp.*) ou fungos (*Trichoderma* e *Aspergillus sp.*), principalmente (WEISS, 2020). O uso do fungo celulolítico *Trichoderma reesei* é mais difundido industrialmente para a produção de celulasas e hemicelulasas (BÉGUIN e AUBERT, 1994; KING et al.; 2009).

A comercialização de produtos à base de xilanase e β -glucanase representa mais de 80% do mercado global de enzimas carboidrases (ADEOLA & COWIESON, 2011), gerando uma receita de mais de US\$ 11,47 bilhões em 2021, com a projeção de alcançar um crescimento de 6,5%, com um faturamento maior que US\$ 14 bilhões em 2027 (GRAND VIEW RESEARCH, 2022).

O interesse crescente pelo uso dessas enzimas está relacionado à melhoria da eficiência de síntese e aproveitamento dos nutrientes dos alimentos por meio de sua adição na dieta (PAUCAR, 2017). Essas enzimas atuam sobre a degradação da parede celular vegetal e outros compostos químicos que impedem a adesão dos microrganismos nas células vegetais (BRITO, 2010). Assim, com o rompimento dessa barreira, os microrganismos conseguem degradar mais esse material, disponibilizando mais substratos, podendo aumentar a população microbiana ruminal, aumentar a digestibilidade dos nutrientes e aumentar a taxa de passagem dos alimentos (FENG et al., 1996).

2.3.2. Enzimas fibrolíticas

Enzimas são proteínas altamente específicas, produzidas por organismos vivos como bactérias, fungos ou leveduras. Apresentam a propriedade de catalisar reações possuindo alta afinidade por determinado substrato (sítio de ação) (GURUNG et al., 2013). Assim, a nomenclatura das mesmas está diretamente relacionada aos compostos que degradam, como por exemplo, as celulases, xilanases e ligninases atuam sobre celulose, xilana e lignina, respectivamente (McALLISTER et al., 2001).

O uso das enzimas fibrolíticas na nutrição de ruminantes tem como objetivo atuar conjuntamente com as enzimas produzidas pelos microrganismos ruminais, aumentando a eficiência fermentativa (PAUCAR, 2017), disponibilizando carboidratos solúveis provenientes da hidrólise da parede celular, ou seja, aumentar a digestibilidade da fração fibrosa (BEAUCHEMIN et al., 1995). A utilização dessas enzimas pode contribuir com até 15% da atividade fibrolíticas total do fluido ruminal, com inclusões entre 0,01 a 1% na MS total (SAMPAIO et al., 2021). Beauchemin et al. (2003) demonstraram que os níveis de inclusão das enzimas normalmente utilizadas como aditivos variam entre 0,5 a 2 mg/g (ou g/kg) de MS da dieta total.

Cozannet et al. (2017) testaram o complexo enzimático similar ao produto do presente estudo para aves de corte e de postura e Salvo et al. (2020) testaram para os efeitos no desempenho animal de bovinos confinados. O produto é composto por um complexo contendo xilanase, β -glucanase, celulase e arabinofurosidase (Rovabio® Advance P, Adisseo). Segundo as recomendações comerciais, o produto pode ser administrado em pó ou na forma líquida. A recomendação do uso do produto comercial é de 50 g/ton de MS de ração na forma em pó ou de 100 a 200 ml/ton na forma líquida para aves de corte e postura, sendo que o presente estudo possibilitará estimar as doses recomendadas para ruminantes mais especificamente para bovinos de corte.

Dessa forma, os estudos realizados em aves objetivaram avaliar os impactos desse complexo enzimático sobre a digestão da fibra. Em monogástricos a fração fibrosa da dieta pode ter efeito deletério na digestibilidade da fração total da dieta, resultando em menor aproveitamento dos nutrientes e energia, além de aumentar a viscosidade intestinal. Nesses estudos foram avaliadas suplementações com complexo de carboidrases, contendo xilanase, β -glucanase e arabinofuranosidase em dietas de aves com alta inclusão de polissacarídeos não amiláceos. A utilização

desses suplementos enzimáticos melhorou a utilização de energia e proteína, a digestibilidade de nutrientes e conseqüentemente melhorou o desempenho dos animais, como maior produção de ovos e melhor conversão alimentar (BEDFORD, 2000; RAVINDRAN, 2013a; COZANNET et al., 2017; SALEH et al., 2019).

A nomenclatura de polissacarídeos não-amiláceos normalmente é utilizada na nutrição de monogástricos. Esses compreendem diversos polissacarídeos como xilanas, celulose, hemicelulose e frutanos, que estão presentes na parede celular de alimentos vegetais (De PAULO et al., 2019). Na nutrição de ruminantes essa fração é representada pela fibra insolúvel em detergente neutro e fibra solúvel em detergente neutro (Figura 3).

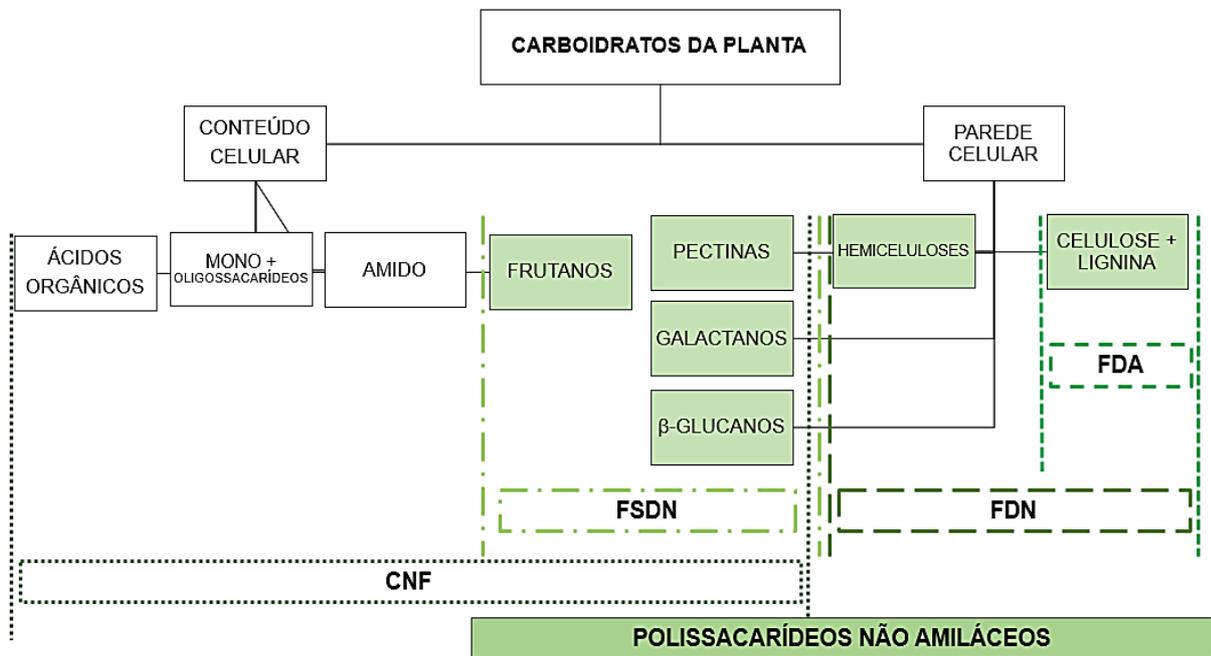


Figura 3. Esquema de classificação dos carboidratos na célula vegetal (Luchesi, 2013, adaptado de Hall, 2003) FDA = fibra em detergente ácido, FDN = fibra em detergente neutro, FSDN = fibra solúvel em detergente neutro (incluindo todos os polissacarídeos não-amiláceos ausentes na FDN). CNF = Carboidratos não fibrosos.

Os grãos de cereais, como o milho, possuem uma fração de polissacarídeos não-amiláceos (PNAs), sendo composta predominantemente por arabinoxilanos, constituído por arabinoses e xiloses (RIOS et al., 2014), que estão principalmente na camada externa do grão, como o pericarpo. Segundo Bonnin et al. (2022) os PNAs representam cerca de 5 a 10% da composição do grão de milho. Os arabinoxilanos

(AXs) representam a maior fração dos PNAs no grão de milho e do DDGS, representando mais de 48% (JAWORSKI et al., 2015) (Figura 4).

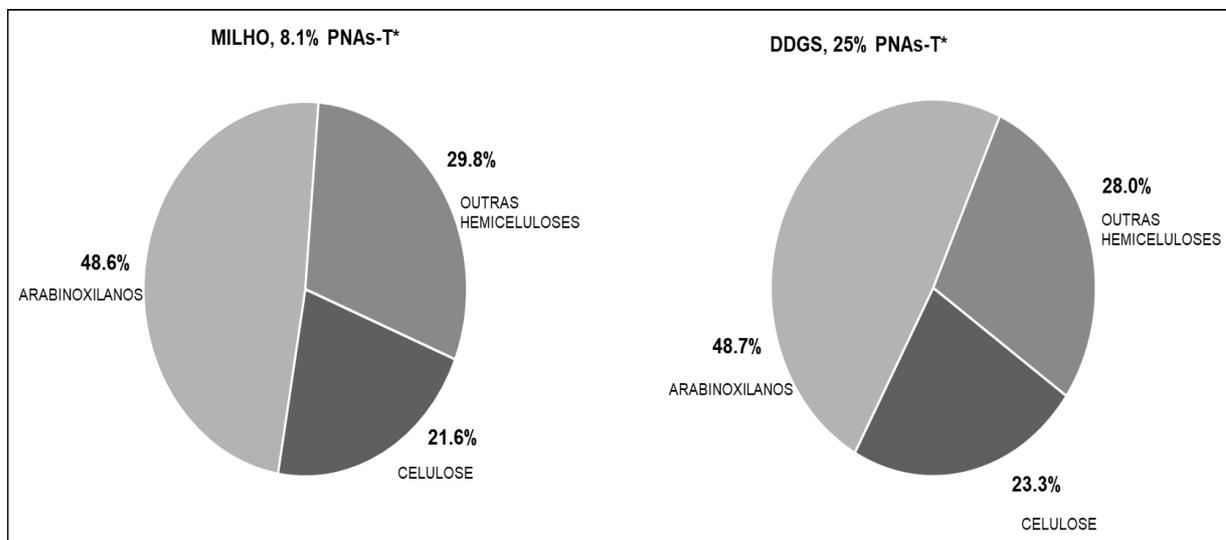


Figura 4. Representação dos polissacarídeos não amiláceos totais (PNAs-T*) do grão de milho e DDGS.

Segundo Knudsen (2014), a fração de arabinosilanos no milho é de 4,70% na MS, no qual 2% é composto por arabinoses e os outros 2,7% por xilose. Ademais, a celulose representa 2% na MS e os β -glucanos apenas 0,10% do grão de milho (Tabela 2).

Tabela 2. Teor em PNA totais, arabinosilanos totais (% em relação à matéria seca) e suas respectivas frações solúveis (% do total) de milho e DDGS

Composição	Milho	DDGS do Milho
PNAs-T	8,80	20,60
PNAs Solúvel	11,80	1,30
Arabinosilanos Totais	4,70	12,70
Arabinosilanos solúveis	5,00	9,30

Adaptado: Knudsen, 2014.

2.3.3. Xilanase e β -glucanase

As xilanases começaram a ser utilizadas nos anos 1980 na preparação de ração animal, sendo empregadas no setor de alimentos, têxtil e na indústria de papel e celulose com o passar dos anos, se tornando um mercado em expansão desde então (KALIM et al, 2015; CHEN et al., 2019). Essas enzimas são produzidas

principalmente por microrganismos, como bactérias, fungos, algas e protozoários (HALTRICH et al., 1996), sendo os mais comuns os fungos filamentosos, bactérias terrestres e marinhas. Em geral, a produção de xilanases é induzida pela maioria dos microrganismos durante o seu crescimento em substratos contendo xilana (PASTOR et al., 2007). O uso dos fungos filamentosos dentre as fontes microbiológicas é especialmente interessante para a produção dessas enzimas, em virtude da sua facilidade e maior quantidade de produção em relação a leveduras e bactérias (POLIZELI et al., 2005; GOSWAMI & RAWAT, 2015).

A xilanase é uma enzima do tipo glicosidase, que atua hidrolisando ligações β 1-4 das xilanas vegetais (POLIZELI et al., 2005). A xilana é um dos principais componentes da hemicelulose, constituindo 20 a 35% da parede celular, representando uma porcentagem menor apenas que a celulose (SCHELLER & ULVSKOV, 2010).

A hemicelulose é um heterossacarídeo formado por vários resíduos de açúcares. Esses açúcares são principalmente a xilose, arabinose e glicose. A hemicelulose é caracterizada por cadeias de arabinoxilanas (KOZLOSKI, 2016) (Figura 5). A sua degradação envolve enzimas endoxilases, arabinosidades e xilobiases (SCHELLER & ULVSKOV, 2010). A xilose é o principal produto gerado a partir da hidrólise bacteriana dessa degradação (KOZLOSKI, 2016).

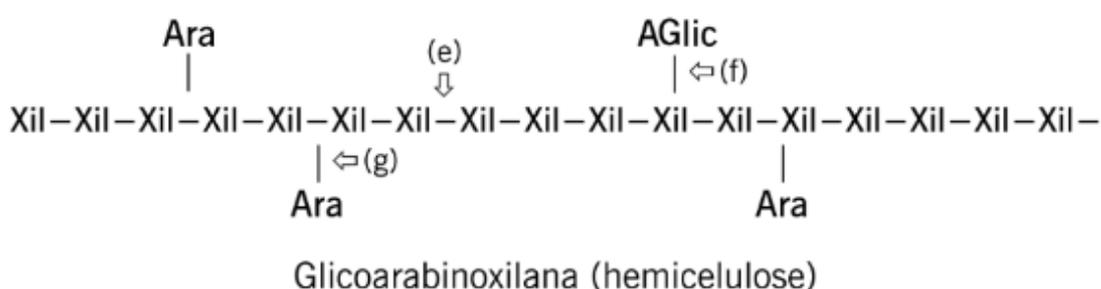


Figura 5. Representação a estrutura da arabinoxilana, principal polímero constituinte da hemicelulose.

Siglas: Ara= arabinoses; AGlic= ácido glicurônico; Xil= xilose; (e) = endoxilase; (f) = glicuronidase; (g) = arabinosidase. Adaptado: Kozloski, 2016.

A xilana está localizada entre o conjunto de fibras de celulose e a lignina, local de difícil ação enzimática. Porém, o complexo de enzimas endoxilase realizam a hidrólise da xilana em maior escala (BATTAN et al, 2007), atuando sobre essas barreiras físicas- químicas.

A β -glucanase é uma enzima constituinte da classe das carboidrases que atua especificamente hidrolisando polissacarídeos estruturais, como por exemplo, a celulose (ABREU, 2017). Beta-glucanos possuem esta nomenclatura por apresentar polímeros de glicose com ligações β -beta 1,4 e β -1,3. Henry & Blakeney (1988) em seus estudos pioneiros utilizando β -glucanase, observaram que a produção industrial dessa enzima também pode ser realizada através da fermentação fúngica, testando primeiramente na cevada, e posteriormente em outros cereais.

A atuação das endoglucanases ocorre na parte interna da fibra de celulose, liberando partículas pequenas de glicoses (LJUNGDAHL et al., 1998).

2.3.4. Modo de ação das celulases e arabinocelulases

Os complexos de carboidrases podem ser uma combinação singular de enzimas fibrolíticas, naturalmente compatíveis que atuam sinergicamente sobre os substratos complexos das rações, sendo produzidas a partir de diferentes microrganismos, sendo que no presente estudo a produção do complexo enzimático foi a partir dos microrganismos *Talaromyces versatilis*.

As EF auxiliam a população microbiana na digestão da fibra, fazendo com que as bactérias poupem energia que normalmente iria para o trabalho de degradação e para sua própria atividade metabólica. Uma vez que essas enzimas atuam na degradação da parede celular vegetal há liberação de açúcares (monossacarídeos) facilitando a assimilação pelos microrganismos e, com isso, permitindo a liberação mais rápida dos AGCC para o animal. (ZILIO ET AL., 2019).

O animal ao ingerir o alimento mobiliza a ação das bactérias livres no fluido ruminal que colonizam as partículas do alimento recém-ingeridas, realizando a adesão ao substrato e início da degradação por meio da ação de enzimas extracelulares presentes na membrana das células bacterianas. Na superfície da membrana da célula bacteriana existe uma estrutura glicoproteica denominada de celulossoma (KOZLOSKI, 2016). A celulossoma é constituída por subunidades catalíticas (enzimas) e unidades não catalíticas, que são responsáveis pela ligação do complexo enzimático com a parede celular da bactéria. Essa união permite uma aderência específica ao substrato permitindo a aproximação das enzimas bacterianas às partículas do alimento (KOZLOSKI, 2016). Dessa forma, inicia-se a degradação extracelular através de enzimas bacterianas que irão hidrolisar celulose e hemicelulose até monossacarídeos (BEAUCHEMIN et al., 2003).

As endoglucanases hidrolisam a celulose produzindo oligossacarídeos. As exoglucanases agem na extremidade das fibras e liberam celobiose, dissacarídeo formado por duas moléculas de glicose. A celobiose é clivada pela ação da β -glucosidase liberando as duas moléculas de glicose (PALOHEIMO et al., 2010; BHAT & HAZLEWOOD, 2001) (Figura 6).

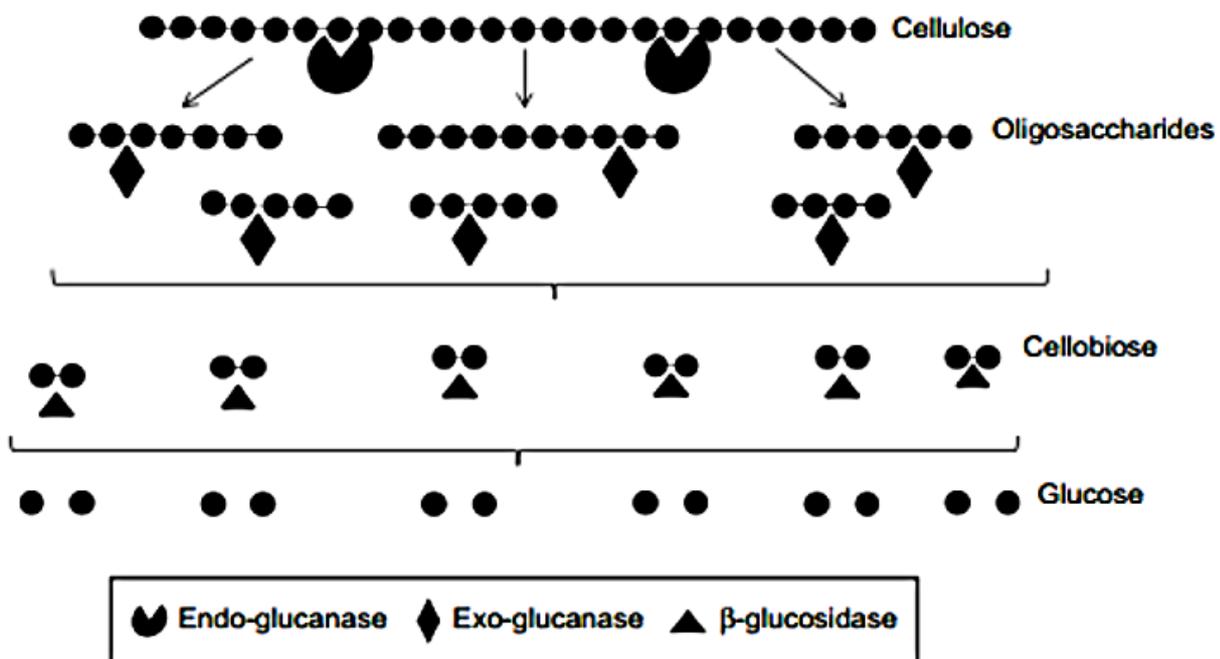


Figura 6. Mecanismo de ação da celulase.

Adaptado: A. Pandey et al., 2011.

A atuação das enzimas sobre a hemicelulose é semelhante. As β -1,4-xilanases atuam despolimerizando inicialmente as xilanas. A quebra dos polímeros de xilanas por xilanase gera diversos produtos, distinguindo-se quantitativamente pela xilose, xilobioses e xilotrioses, assim como, pela composição dos açúcares substituídos (BIELY, 1985). A hidrólise da xilana é realizada principalmente pelo complexo de enzimas das endoxilanases (BATTAN et al, 2007), no qual as principais enzimas atuantes são as endo1,4- β -xilanases e β -xilosidades (GOSWAMI & RAWAT, 2015). Entretanto, os sítios de ligação são extremamente específicos, sendo necessária a ação de enzimas de acessórias, como as esterases e as glucuronidasas, para completar a clivagem até a xilose (DODD & CANN, 2009) (Figura 7).

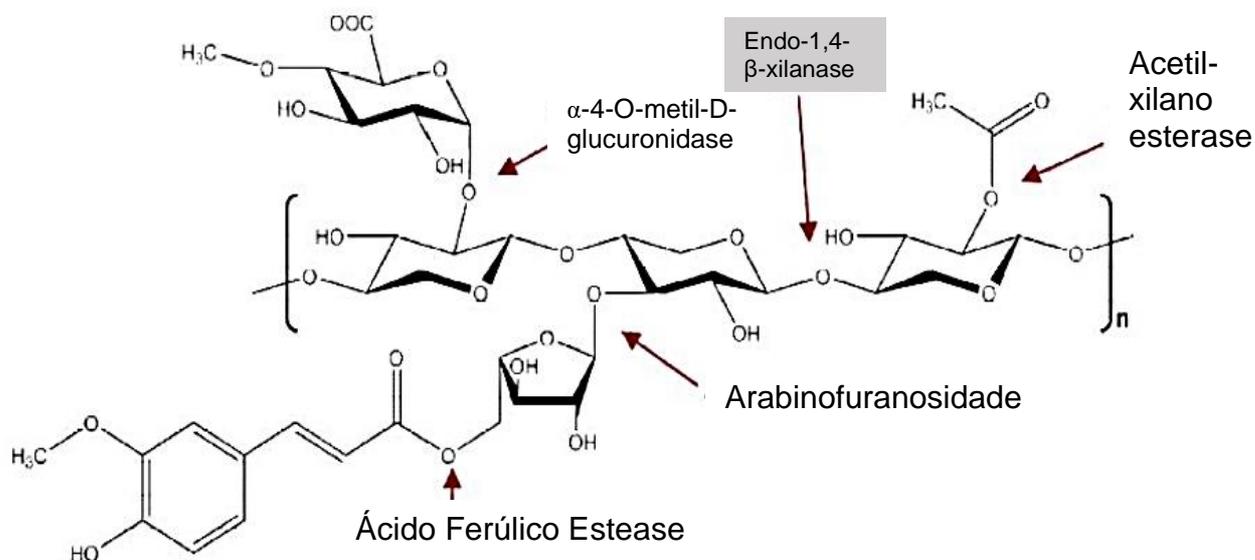


Figura 7. Estrutura da xilana e sítios de ação das enzimas xilanolíticas e acessórias.

Adaptado: Kalim et al, 2015.

As xilanases hidrolisam a cadeia principal, gerando oligossacarídeos. As glucosidases hidrolisam os oligossacarídeos liberando como produto xilose, arabinose, ácido glicurônico, acético ou fenólico (BEAUCHEMIN et al., 2003) (Figura 8).

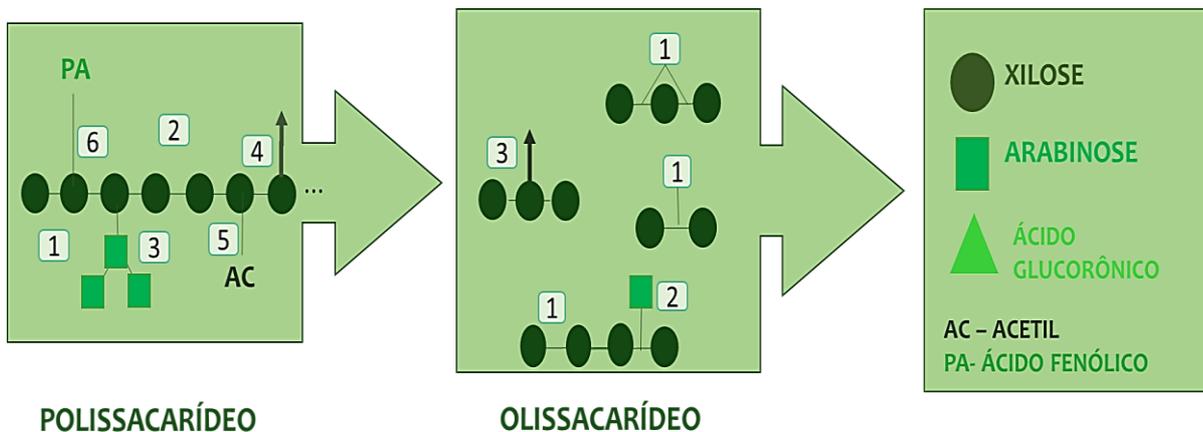


Figura 8. Representação esquemática da ação enzimática na degradação do arabinoxilano.

[1- Exo- β -Xilanase; 2- Endo- β -Xilanase; 3- A-L- Arabinofuranosidade; 4- A-D- Glucoronidase; 5- Acetil Esterase; 6- Ácido Fenólico Esterase; AC= Acetil; PA = Ácido Fenólico].

Adaptado: Chesson, 1993; Kozloski, 2016.

Uma completa ação despolimerizante de arabinoxilanos pela xilanase é potencializada pela ação sinérgica da arabinofuranosidase removendo a arabinose dos arabinoxilanos, facilitando assim o acesso de xilanase ao esqueleto de xilano (MARQUARDT, 1997; LEI et al., 2016) (Figura 9).

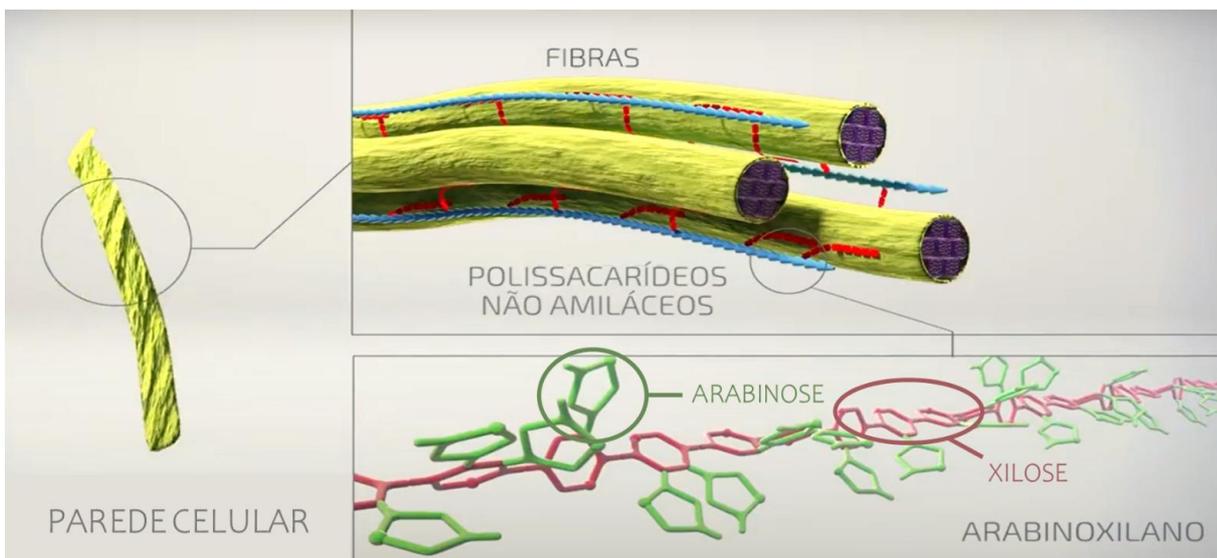


Figura 9. Representação esquemática da atuação do complexo enzimático sobre os PNAs.

Adaptado: Adisseo Company.

As xilanases permitem maior acesso das enzimas às estruturas da celulose. A adição de xilanases pode alterar as atividades fisiológicas da microbiota ruminal (COLOMBATTO et al., 2003). A inclusão dessa enzima possibilita um aumento na produção de propionato e butirato, enquanto há redução na produção de acetato e metano (EUN & BEAUCHEMIN, 2007).

Hristov et al. (1998) observaram que as enzimas exógenas podem ser resistentes à digestão no rúmen e abomaso, visto que houve um aumento da atividade enzimática no intestino, principalmente atividade de xilanase, indicando que elas podem afetar a utilização de nutrientes além dos estômagos do animal. Isso tem sido demonstrado com monogástricos, onde foi observado que esses complexos enzimáticos atuam diminuindo a viscosidade da digesta no duodeno, o que também contribui para maior digestão e absorção de nutrientes pelos animais (FREITAS et al., 2010).

2.3.6. Impactos dos complexos enzimáticos no desempenho e metabolismo de bovinos de corte

Os estudos publicados envolvendo enzimas fibrolíticas (EF) para bovinos de corte são predominantemente estudos de metabolismo animal. As EF desenvolvidas ao longo dos últimos anos para ruminantes têm como objetivo melhorar a digestão da fibra no rúmen (HOLTSHAUSEN et al., 2011) a partir da atividade conjunta da xilanase e da celulase, assim o foco dos trabalhos científicos vem sendo estudar a associação dessas enzimas formando complexos enzimáticos.

Os resultados dos trabalhos tanto de desempenho, como também de metabolismo ainda apresentam inconsistências, que são atribuídas a diferentes fatores, como a dosagem, modo de inclusão (pó ou líquida), tipo de dieta, retenção da dieta no TGI animal, dentre outros (BEAUCHEMIN, 2004; CRUYWAGEN e GOOSEN, 2004).

Sampaio et al. (2021) conduziram estudos de metabolismo e relataram não haver diferença quanto ao consumo de nutrientes, porém a digestibilidade total de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) e celulose (CEL) foram aumentadas com a inclusão de EF. Acedo et al. (2015) reportaram que a adição de EF aumentou em 5,30% a digestibilidade da matéria seca e aumentou a digestibilidade da FDN em 10,61% para bovinos de corte em terminação. Ao testar uma mistura enzimática (endoglucanase, xilanase, protease e α -amilase) Salem et

al. (2013) reportaram a melhora da digestibilidade da MS para bovinos confinados. O aumento na digestibilidade da MS pode ser atribuído a melhora da digestibilidade de outros componentes da dieta, como a própria FDN (BEAUCHEMIN et al., 2000; FENG et al., 1996; GENCOGLU et al., 2010). Salvo et al. (2020) também reportaram que o uso das EF com a melhora da digestibilidade dos nutrientes e diminui as perdas de amido fecal.

Em relação a digestibilidade da proteína bruta, tem sido relatado um incremento desse parâmetro com a inclusão de EF. Esse fato, pode estar relacionado a uma maior síntese microbiana no rúmen (BEAUCHEMIN et al., 2003).

Do ponto de vista dos parâmetros ruminais, a maior parte dos trabalhos retratam que as EF têm potencial para aumentar a concentração dos AGCC, diminuir as variações bruscas no pH ruminal e evitar distúrbios metabólicos (BEAUCHEMIN et al., 2003; KONDRATOVICH et al., 2019). A adição de xilanases pode alterar as atividades fisiológicas da microbiota ruminal (COLOMBATTO et al., 2003) e a inclusão dessa enzima possibilita um aumento na produção de propionato e butirato, enquanto há redução na produção de acetato e metano (EUN & BEAUCHEMIN, 2007).

Os resultados dos complexos enzimáticos sobre a concentração ruminal de N-NH₃ ainda são controversos, variando com o tipo de dieta e dose enzimática utilizada. Nos estudos onde houve redução da concentração ruminal de nitrogênio amoniacal, esta pode estar relacionada ao aumento da digestibilidade da FDN e FDA, e por consequência, com o aumento da síntese microbiana (SONG et al., 2018; SAKITA et al., 2022). Entretanto, em alguns estudos foi observado aumento na concentração ruminal de N-NH₃. Esse fato, pode estar relacionado a maior atividade de proteases que estão inclusas nas misturas dos complexos enzimáticos (GADO et al., 2009; SALEM et al., 2013). Em outros estudos não foi observada haver influência das EF para essa variável (CHUNG et al., 2012; HE et al., 2015).

McAllister et al. (1999) avaliaram o desempenho de novilhos em confinamento e relataram aumento de 12,3% na ingestão de MS e de 23,4% no ganho médio diário com a suplementação enzimática de celulase e xilanase. Os mesmos autores, em outro estudo com novilhos confinados, observaram resultados semelhantes no qual houve o aumento de 12,17% ingestão de MS e aumento de 23,40% no ganho médio diário com a suplementação enzimática (celulase e xilanase) (McALLISTER et al., 2001).

Queiroz et al (2004), em ensaio realizado com novilhos de corte em sistema de confinamento, observaram que a quantidade de enzima fornecida (xilanase, 5 ou 10 g/dia de enzima) não afetou ($P>0.05$) os parâmetros de desempenho. O fornecimento da enzima melhorou o GPD e o CMS em 5,2 e 4,0%.

Monteiro (2018) reportaram que a inclusão de EF (endoglucanase e xilanase) não afetaram as variáveis de desempenho e de características de carcaça de bovinos terminados em confinamento.

Salvo et al. (2020) avaliaram a inclusão de EF durante a ensilagem de grão úmido de milho, posteriormente incluído em dietas para machos Nelore não castrados em terminação. No geral a inclusão de EF reduziu o CMS dos animais e o teor de amido fecal, não afetou o GPD e aumentou em 5,91% a eficiência alimentar dos animais.

Acedo et al. (2015) realizaram uma meta-análise de 13 estudos avaliando o uso de enzimas fibrolíticas e amilolíticas para bovinos de corte. Nos 10 estudos com EF os autores relataram que o uso de enzimas fibrolíticas aumentou em 7,60% o GPD (1,27 vs. 1,118). O CMS não foi afetado com a inclusão da enzima, mas houve aumento de 10,6% na digestibilidade da FND e 5,3% na digestibilidade da MS.

As controversias em relação aos resultados com o fornecimento de EF foram discutidas na meta-análise conduzida por Tirado-González et al. (2018) com vacas em lactação, bovinos de corte e ovinos. Foram compilados trabalhos que utilizaram dietas com a inclusão de volumoso abaixo ou acima de 50% com o uso de enzimas celulasas, xilanases ou a combinação das duas. De acordo com os autores, as respostas de desempenho animal dependeram do tipo de animal e tipo de dieta a que este era submetido. Em dietas para bovinos de corte com inclusão maior que 50% de volumoso, a inclusão de EF na dieta aumentou o CMS em 13,25% (9,4 vs. 8,3 kg/ d MS) e o GPD em 0,3%. Todavia, nas dietas com a inclusão de volumoso abaixo de 50%, o CMS de foi reduzido (8,1 vs. 8,3) e o GPD aumentado em 1,97%.

Segundo Romero et al. (2015) o aumento do CMS pode estar relacionado ao aumento da hidrólise da fibra pelas enzimas, ocorrendo uma redução no enchimento do TGI e conseqüentemente, um aumento no consumo da dieta.

Em geral, nos trabalhos revisados a adição de EF demonstrou potencial de aumentar a eficiência alimentar dos animais em terminação.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Experimento de desempenho animal

3.1.1. Local do experimento e animais

O experimento foi conduzido nas instalações do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Universidade de São Paulo (ESALQ- USP), localizada no município de Piracicaba- SP, no período de 13 de novembro de 2020 a 15 de março de 2021, totalizando 122 dias de período experimental.

Foram utilizados 359 machos inteiros cruzados F1 Angus x Nelore e 30 machos inteiros Nelore com peso médio inicial de 314 kg \pm 40,20 e 12 a 18 meses de idade. No dia do início do estudo, os animais foram pesados individualmente, identificados com brinco na orelha, vacinados contra *clostridiose* (Resguard Multi-Biovet®), seguindo a dosagem recomendada pela empresa de 5 mL e realizado o reforço da mesma no 70º dia experimental e vermifugados (Ricobendazole 13,6% 500ml - Chemitec®), sendo aplicado a recomendação de 1,0 mL para cada 40 kg de peso vivo.

Foram utilizadas 60 baias com piso de concreto e parcialmente cobertas com telhado e comedouro de concreto e bebedouro com boia automática. Foram utilizadas 40 baias de 32m² e 20 baias de 60m².

3.1.2. Delineamento experimental

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados com arranjo fatorial 3x2, com o intuito de comparar 3 doses de CE (complexo enzimático) e 2 níveis de inclusão de DDBS (fibra seca de destilaria com solúveis). Os animais foram alocados nos blocos de acordo com a raça (Nelore ou cruzamento) e o peso corporal inicial, visando compor as unidades experimentais (baias) de forma semelhante dentro de cada bloco. A cada 6 baias, formou-se 1 bloco, totalizando 10 blocos e 60 baias, sendo 1 bloco de animais da raça Nelore e 9 blocos de animais cruzados. Os animais foram distribuídos em 40 baias com 6 animais e 20 baias com 8 animais, com espaçamento por animal de 5,3m² e 7,5m², respectivamente.

3.1.3. Tratamentos

Foram testados dois níveis de inclusão do DDBS (15% x 45% na base seca) e três doses (0, 75 ou 100 mg/kg de MS da dieta) do complexo de carboidrases.

- T1 = 15% DDBS + 0 mg CE/kg de MS da dieta
- T2 = 15% DDBS + 75 mg CE/kg de MS da dieta
- T3 = 15% DDBS + 100 mg CE/kg de MS da dieta
- T4 = 45% DDBS + 0 mg CE/kg de MS da dieta
- T5 = 45% DDBS + 75 mg CE/kg de MS da dieta
- T6 = 45% DDBS + 100 mg CE/kg de MS da dieta

As doses testadas do CE (75 e 100 mg/kg de MS da dieta) foram superiores à recomendação (aves) da indústria que comercializa o produto de 50 mg/kg. O complexo enzimático foi composto por endo-1,4- β -xylanase (EC 3.2.1.8) e endo-1,3(4)- β -glucanase (EC 3.2.1.6), com nome comercial Rovabio® Advance P (Adisseo, Brasil) derivado da produção a partir do microrganismo *Talaromyces versatilis* sp. nov. As dosagens de inclusão da betaglucanase foram de 64,50 e 86,00 UV/g para os tratamentos 75 e 100 mg/kg MS, respectivamente. A inclusão de xilanase foi de 93,70 e 125 UV/g correspondendo nessa ordem aos tratamentos 75 e 100 mg/ kg MS.

O milho moído utilizado foi oriundo da Cooperativa do Plantadores de Cana, localizado no município de Piracicaba/ SP, sendo entregue semanalmente cerca de 15 toneladas e armazenado em galpão graneleiro.

O coproduto de etanol de milho utilizado foi o DDBS (fibra seca de destilaria com solúveis), oriundo da indústria FS Bioenergia, localizada no município de Lucas do Rio Verde, no estado do Mato Grosso. O DDBS foi entregue a cada 30 a 45 dias e armazenado em galpão graneleiro. O DDBS utilizado é proveniente do processo de separação de fibra antecedente à fermentação, com tecnologia da ICM e é um produto distinto do DDGS (grãos destilados secos com solúveis), que não sofre a separação da fibra antes da fermentação.

O bagaço de cana-de-açúcar foi adquirido de usina regional. A entrega do ingrediente ocorreu a cada 30 a 45 dias. O material era depositado em piso de concreto e coberto quando houvesse previsão de chuva.

3.1.4. Manejo alimentar

Os animais foram recriados em pasto em fazenda comercial, no qual receberam suplementação proteico-energética no período de recria até a entrada no confinamento. Os animais foram transportados para o confinamento experimental do Departamento de Zootecnia da ESALQ, Universidade de São Paulo, mantidos em confinamento e alimentados por 30 dias com uma dieta comum com 30% de volumoso (bagaço de cana) e 70% de concentrado.

Os animais foram pesados após jejum alimentar e hídrico de 16 horas, distribuídos em blocos casualizados com base no peso em jejum e teve início o período experimental de 122 dias. Nos primeiros 15 dias do período experimental foi adotado o protocolo de adaptação em escada (*step-up*), utilizando 3 dietas de transição (30% de volumoso por 5 dias, 20% de volumoso por 5 dias, 10% de volumoso por 5 dias) (Tabela 3) seguidas pelas dietas finais introduzidas no dia 16 (Tabela 4). Os tratamentos (nível de DDBS e doses de CE) foram oferecidos desde o primeiro dia do período experimental, no qual o período de adaptação está incluso.

Tabela 3. Composição das dietas experimentais de adaptação*

Ingrediente	Adaptação 1		Adaptação 2		Adaptação 3	
Dieta (Nível de DDBS)	15%	45%	15%	45%	15%	45%
Bagaço	30%	30%	20%	20%	10%	10%
Milho	52%	23%	62%	33%	72%	43%
DDBS	15%	45%	15%	45%	15%	45%
Ureia	1%	0%	1%	0%	1%	0%
Mistura min/vit*	2%	2%	2%	2%	2%	2%

*As 3 doses do complexo enzimático foram incluídas nos respectivos núcleos minerais e vitamínicos.

As dietas experimentais finais foram formuladas para atender às exigências nutricionais dos animais, com ganho médio ao redor de 1,5 kg/dia, segundo as recomendações do NASEM (2016) e conter 30 ppm de monensina sódica (produto comercial Rumensin®).

As composições das dietas finais são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Composição das dietas experimentais

Ingredientes (% MS)	Tratamentos					
	15% DDBS			45% DDBS		
	0	75	100	0	75	100
	Dose CE (mg/kg MS)					
Bagaço	8,5%	8,5%	8,5%	8,5%	8,5%	8,5%
Milho	73,0%	73,0%	73,0%	44,0%	44,0%	44,0%
¹ DDBS	15,0%	15,0%	15,0%	45,0%	45,0%	45,0%
Ureia	1,5%	1,5%	1,5%	0,5%	0,5%	0,5%
Mistura min./vitam	2,0%	2,0%	2,0%	2,0%	2,0%	2,0%

¹DDBS: Dry distillers bran plus solubles

A matéria seca das dietas foi fixada em 70%, garantida com a inclusão de água em quantidades variáveis em função do teor de matéria seca dos ingredientes, principalmente do bagaço de cana, que era determinado duas vezes por semana em estufa a 105° por 12 horas.

O fornecimento da dieta foi realizado uma vez ao dia, às 6:00h, após a leitura de escore de cocho às 5:30h, com o uso de vagão misturador com capacidade de 1.500 kg, equipado com balança eletrônica com precisão de 2 kg e sistema de mistura por tombamento (CASALE Rotormix Express 40).

Os ingredientes da dieta eram pesados diretamente no vagão misturador, exceto a ureia e a mistura mineral que eram pesados em balança com capacidade para 100 kg com precisão de 0,1 kg (MARTE®).

Diariamente eram realizadas seis misturas diferentes, correspondente aos tratamentos, no qual o tempo de batida foi de 5 minutos após a adição da água. Ao final de cada tratamento, o vagão misturador era limpo.

A monensina sódica e o complexo de carboidrases foram incluídos nas misturas minerais com vitaminas nas respectivas doses do CE (Tabela 5) em indústria comercial de nutrição animal.

Tabela 5. *Composição das misturas minerais e vitamínicas*

Componente	Doses do CE (mg/kg MS)		
	0	75	100
Cálcio (mín- máx)(g/kg)	140-200	140- 200	140- 200
Magnésio (mín) (g/ kg)	20	20	20
Sódio (mín) (g/ kg)	150	150	150
Potássio (mín) (g/ kg)	80	80	80
Vitamina A (mín) (UI/ kg)	65.000	65.000	65.000
Vitamina D3 (mín) (UI/ kg)	14.000	14.000	14.000
Vitamina E (mín) (UI/ kg)	500	500	500
Cobre (mín) (mg/ kg)	330	330	330
Manganês (mín) (mg/ kg)	1.300	1.300	1.300
Zinco (mín) (mg/ kg)	3.000	3.000	3.000
Cobalto (mín) (mg kg)	16,6	16,6	16,6
Iodo (mín) (mg/ kg)	30	30	30
Selênio (mín) (mg/ kg)	5	5	5
Monensina (mg/ kg)	1.500	1.500	1.500
Betaglucanase (UV/ g)	0	64,50	86,00
Xilanase (UV/ g)	0	93,70	125

Houve um erro na digitação da fórmula das misturas minerais enviadas para a indústria de nutrição e que resultou em dose de sódio 3 vezes acima do planejado.

A quantidade de dieta fornecida foi ajustada diariamente, a fim de garantir a sobra máxima de 3%. As sobras eram retiradas três vezes por semana, pesadas e realizada a análise de matéria seca a 105° por 24 horas para o cálculo do consumo efetivo por baía.

3.1.5. Amostragem e análise bromatológica dos ingredientes

As amostras dos ingredientes foram coletadas semanalmente, identificadas, congeladas e armazenadas em freezer a -20°C, para posteriormente serem analisadas quimicamente.

Amostras do bagaço de cana de açúcar foram colhidas duas vezes por semana para determinação do teor de matéria seca em estufa a 105° por 24 horas, com o intuito de ajustar o teor de matéria seca das dietas

Amostras do milho moído eram coletadas semanalmente e conforme o produto era entregue era realizada a avaliação para determinação do tamanho médio de partícula, por meio de um conjunto de peneira com medidas de 6,0 mm; 3,5 mm; 2,0 mm; 1,25 mm e fundo. O tamanho médio e distribuição do tamanho de partícula do milho moído estão descritos na Tabela 6. O tamanho médio de partícula do milho moído utilizado no experimento foi de 2,21mm.

Tabela 6. Tamanho médio e distribuição do tamanho de partícula do milho moído¹

Tamanho de peneira	% total
>6,0 mm	0%
≤ 6,0 mm e >3,5 mm	0,6%
≤ 3,5 mm e > 2,0 mm	55,2%
≤ 2,0 e >1,25 mm	39,5%
≤1,25 mm	4,7%
Tamanho médio de partícula, mm	2,21

¹ O TMP foi determinado pela somatória dos produtos da multiplicação da porcentagem retida e do tamanho médio das partículas de cada peneira (média do diâmetro dos furos da peneira em questão e do diâmetro dos furos da peneira de cima). Foi assumido que os resíduos retidos no fundo (<1,25 mm) tinham tamanho médio de partículas de 0,625 mm. O TMP do milho retido na peneira de 6,0 mm foi determinado em 20 partículas aleatórias usando paquímetro.

O bagaço de cana apresentou tamanho médio de partícula (TMP) de 10,93 mm (Tabela 7), com 13% das partículas maiores que 8 mm. As medidas foram feitas utilizando o sistema de peneiras da Penn State.

Tabela 7. Tamanho médio e distribuição do tamanho de partícula do bagaço de cana e da dieta total (TMR)

Tamanho de peneira (% total)	Bagaço de Cana	Dieta total 45% DDBS	Dieta total 15% DDBS
> 19 mm	13,00	0,00	0,00
8 – 19 mm	52,00	4,00	3,00
< 8 mm	35,00	96,00	97,00
Tamanho médio de partícula, mm ¹	12,31	1,50	1,37

¹Distribuição e tamanho médio de partícula determinado pelo método de separação de tamanho de partícula Penn State (LAMMERS et al., 1996).

Ao final do experimento as amostras foram descongeladas, secas em estufa de ventilação forçada a 55° por 72 horas e moídas usando moinho tipo “Wiley” (MA-680 Marconi Ltda, Piracicaba, SP, Brasil) por meio de peneira de 1 mm formando amostras homogêneas que foram analisadas quimicamente.

As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP (ESALQ LAB). Para a determinação dos teores de matéria seca (MS) dos ingredientes, as amostras pré-secas, foram pesadas em 1 grama em estufa de ventilação forçada a 105°C por 24 horas. O teor de MS foi calculado como: $(MS_{55^{\circ}C} \times MS_{105^{\circ}C}) / 100$. A matéria mineral (MM) foi determinada pela incineração das amostras em mufla a 600°C por 4 horas (AOAC, 1990). As amostras dos ingredientes foram analisadas para matéria orgânica (MO) e extrato etéreo (EE) conforme a Association of Official Agricultural Chemists- AOC (1995). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido pelo método Dumas, utilizando o analisador de nitrogênio Leco FP-573, Leco Corp., St. Joseph, MI. O teor da fibra em detergente neutro (FDN) foi realizada de forma sequencial, utilizando alfa-amilase termoestável e sulfito de sódio de acordo com o método descrito por Van Soest et al. (1991). A análise de fibra em detergente ácido (FDA) e de lignina foi realizada segundo o método proposto por Goering e Van Soest (1970). A hemicelulose foi calculada a partir da diferença entre a FDA e FDN. A celulose foi obtida pela diferença entre a FDA e a lignina.

A composição química dos ingredientes é apresentada na Tabela 8 e das dietas experimentais na Tabela 9.

Tabela 8. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais

Item	Bagaço de Cana	Milho	DDBS
MS, %	47,64	86,56	88,16
MM, % MS	9,68	2,01	7,10
MO, % MS	90,32	97,99	92,90
PB, % MS	2,20	8,40	22,80
FDN, % MS	71,00	7,10	42,20
FDA, % MS	-	-	13,70
HEMICELULOSE	-	-	28,50
CELULOSE	-	-	10,50
LIGNINA	-	-	3,20
EE, % MS	0,70	6,60	6,60
CNF*, % MS*	16,42	75,89	21,30

*CNF (%) = 100 % - (% FDN + % PB + % EE + % cinzas) (MERTENS, 1997)

Tabela 9. Composição química das dietas experimentais no período após a adaptação

Item	15% DDBS	45% DDBS
MM, %	3,36	3,27
PB ¹ , %	13,95	15,55
FDN ¹ , %	17,55	28,15
EE ¹ , %	5,87	5,93
CNF ² , %	59,99	44,37

¹Valores de MS, PB, FDN e EE baseados na composição química dos ingredientes. ²CNF (%) = 100 % - (% FDN + % PB + % EE + % cinzas) (MERTENS, 1997).

3.1.6. Determinação do amido fecal

Para a determinação do amido fecal, nos dias 30, 60 e 90 foram coletadas amostras de fezes diretamente do piso de concreto de 3 animais por baia, imediatamente após a defecação às 7h da manhã, tomando-se o cuidado de coletar apenas a parte superior da almofada fecal. As amostras foram acondicionadas em isopor com gelo, a fim de evitar a atividade microbiana. Imediatamente após a coleta, as amostras foram armazenadas a -20°C em freezer.

Para a análise, as amostras foram descongeladas, compostas por baia, secas em estufa de ar forçado a 55°C por 72 h e moídas usando moinho tipo “Wiley” (MA-680 Marconi Ltda, Piracicaba, SP, Brasil) por meio de peneira de 1 mm.

A análise foi realizada usando um KIT Total Starch K-TSTA (Megazyme, Chicago IL; método 996.11 AOAC, 1986 e método 76-13.01 AACC, 1976).

3.1.7. Determinação do desempenho animal

As variáveis de desempenho animal avaliadas foram: peso corporal inicial (PCI), peso corporal final (PCF), ingestão de matéria seca das rações kg/dia, ganho de peso diário (GPD), eficiência alimentar e dados de carcaça (descritos no tópico 3.1.8.).

Para a determinação do ganho de peso diário (GPD), os animais foram pesados nos dias 0 e 122. O PC individual foi registrado após um período de 16h de privação de ração e água.

O consumo de matéria seca (CMS) foi calculado como a diferença entre o ofertado aos animais e as sobras.

A eficiência alimentar foi calculada dividindo-se os valores médios de GPD pelo consumo de matéria seca (CMS) média de cada baia, obtendo-se a relação GPD/ CMS.

3.1.8. Análises de carcaça

Após a pesagem final dos animais (122d), os animais foram encaminhados para o frigorífico comercial no município de Sertãozinho/ SP, com descanso regulamentar de 12 horas.

Após o abate foram determinados o peso de carcaça quente (PCQ) e o rendimento de carcaça quente. O rendimento da carcaça quente (RCQ) foi obtido pela razão de $(PCQ/PC \text{ final}) * 100$.

A espessura da gordura subcutânea e da área de olho de lombo foram obtidas no dia da pesagem final dos animais, aos 122 dias de experimento, por meio de uma imagem de ultrassonografia no sentido transversal do músculo *Longissimus* entre a 12ª e a 13ª costelas (Figura 9).

Após a obtenção das imagens, as mesmas foram interpretadas no Laboratório de Avaliação Animal e Qualidade de Carne da FZEA/USP. A área de olho de lombo

foi determinada pela delimitação manual das bordas do músculo *Longissimus* (Figura 10).

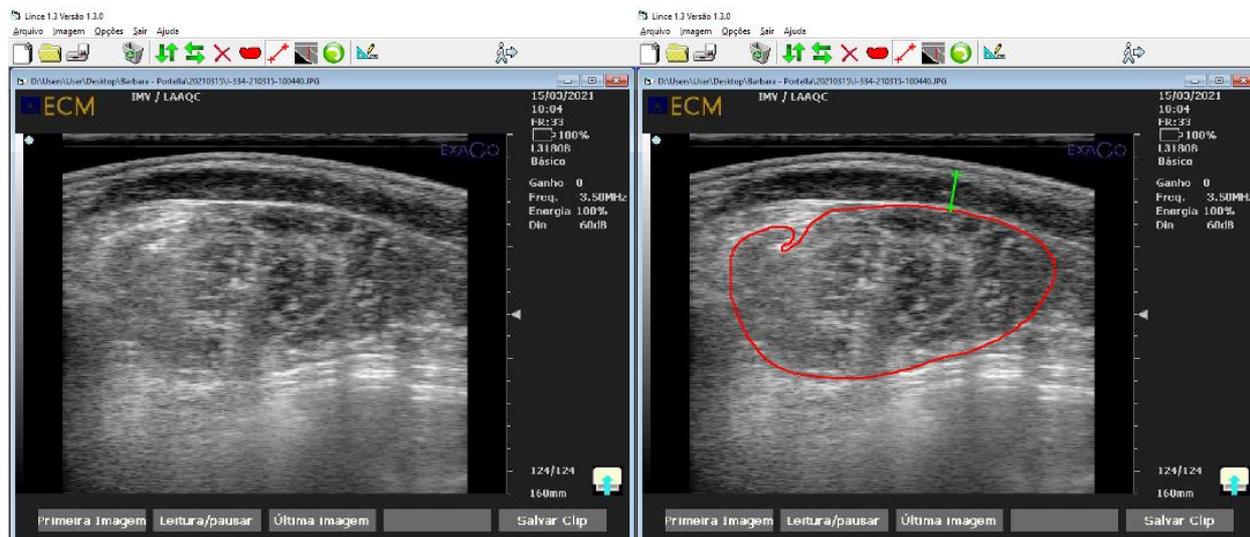


Figura 10. Imagem de ultrassom coletada e interpretada (AOL-95cm²; EGS=15,4mm).

A espessura de gordura subcutânea, foi avaliada a 2/3 da borda medial do músculo *Longissimus*, na mesma imagem, também pela delimitação manual desse tecido. A medida da área de olho de lombo é apresentada em cm² e da espessura de gordura em mm.

3.1.9. Cálculo de energia líquida das rações

O cálculo de energia foi baseado nos dados médios das baias para as variáveis de peso corporal, IMS e GPD. Foram calculados os valores observados de energia líquida das rações segundo a metodologia proposta por Zinn e Shen (1998).

Foram calculadas as exigências de energia de ganho (Eg) e de manutenção (Em) dos animais por meio das fórmulas 1 e 2, respectivamente. Calculadas as exigências energéticas relacionadas aos ganhos de peso corporal (kg/ dia) e aos pesos metabólicos (kg) dos animais durante o período experimental, foram calculados então os valores de energia líquida das rações (Mcal/ kg MS) para manutenção (ELm) e ganho (ELg) por meio das fórmulas 3 e 4.

$$(1) E_g = (0,0557 \times PC^{0,75}) \times GPD^{1,097}; \text{ (NRC, 1984)}$$

$$(2) E_m = 0,077 \times PC^{0,75}; \text{ (LOFGREEN; GARRET, 1968)}$$

$$(3) EL_m = (-b - ((b^2) - (4ac))^{0,5}) / (2c); \text{ (Zinn e Shen, 1998)}$$

Em que:

$$a = -0,41 \times EM$$

$$b = 0,877 \times EM + 0,41 \times IMS + E_g$$

$$c = -0,877 \times IMS$$

$$(4) EL_g = 0,877 \times NEM - 0,41; \text{ (ZINN; SHEN, 1998)}$$

Onde:

E_g = exigência em energia para ganho (Mcal/ dia)

E_m = exigência em energia para manutenção (Mcal/dia)

EL_m = energia líquida de manutenção (Mcal/ kg de MS)

EL_g = energia líquida de ganho (Mcal/ kg de MS)

Os valores observados de energia líquida foram comparados com valores esperados. Os valores esperados de energia das dietas foram estimados utilizando os valores de NDT da tabela do NASEM (2016) para os ingredientes e as equações propostas pelo NASEM (2016), modelo empírico, para os cálculos de EL_m e de EL_g com adição de monensina sódica. Para o DDGS foi assumido o valor de NDT do DDGS.

3.1.10. Análise estatística

Os dados foram analisados pelo PROC MIXED do pacote estatístico Statistical Analysis System – SAS 9.4 (SAS Inc, Cary, NC). Os resultados foram relatados como médias dos quadrados mínimos e a significância foi definida como $P \leq 0,05$. As tendências foram relatadas quando $0,05 < P \leq 0,10$ usando o Teste de Tukey. Os resultados foram analisados por contrastes ortogonais para os efeitos das doses do complexo enzimático, considerando-se $P \leq 0,05$ como significativo.

Impreterivelmente, todos os conjuntos de dados foram testados antes da análise geral final, afim de assegurar que todas as premissas da análise de variância (aditividade do modelo, independência dos erros, normalidade dos dados e

homocedasticidade) fossem respeitadas.

Para todas as variáveis analisadas do experimento de desempenho animal, a baia foi utilizada como unidade experimental. Para a avaliação de amido fecal, o efeito de tempo foi definido com base no teste F da análise de variância.

3.2. Experimento de metabolismo

3.2.1. Local do experimento

Foram utilizados 30 machos Nelore castrados e canulados no rúmen com peso médio $264 \pm 35,39$ kg distribuídos nas mesmas dietas e tratamentos descritos no experimento 1.

Os animais foram mantidos em baias individuais (8m^2) em galpão coberto, com piso de concreto e acesso livre a água e alimento durante o experimento. Foram avaliados os parâmetros de fermentação ruminal e a digestibilidade dos nutrientes no trato total.

3.2.2. Delineamento experimental

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados com arranjo fatorial 3×2 , com o intuito de comparar o efeito das 3 doses do complexo enzimático (0, 75 ou 100 mg/kg de MS) e 2 níveis (15 x 45% da MS das dietas) de inclusão do DDBS (fibra seca de destilaria com solúveis). Os animais foram alocados nos blocos de acordo com o peso inicial, contendo 5 repetições por tratamento. A unidade experimental foi a baia (individualizadas por animal).

3.2.3. Manejo alimentar

Os animais foram adaptados à dieta final ao longo de 14 dias, seguindo o mesmo protocolo de adaptação do experimento de desempenho. A leitura de cocho era realizada diariamente pela manhã, a fim de realizar os ajustes do consumo.

Os animais canulados receberam a mesma dieta final do experimento de desempenho, especificamente com a composição dos ingredientes relativa ao período do experimento de metabolismo. As dietas eram obtidas diretamente do vagão misturador quando da confecção para o experimento de desempenho animal. Na tabela 10 é apresentada a composição química dos ingredientes utilizados ao longo do período de coleta de dados.

Tabela 10. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais do experimento de metabolismo animal

Item	Bagaço de Cana	Milho	DDBS
MS, %	47,64	86,56	86,90
MM, % MS	9,68	2,01	5,90
MO, % MS	90,32	97,99	94,10
PB, % MS	2,20	8,40	17,00
FDN, % MS	71,00	7,10	46,80
FDA, % MS	-	-	13,70
EE, % MS	0,70	6,60	7,90

3.2.4. Análises experimental

O período experimental foi de 24 dias, sendo 3 dias de adaptação às instalações, 14 dias de adaptação às dietas experimentais e 7 dias de coleta de dados.

Durante os primeiros 17 dias, as dietas foram oferecidas *ad libitum* uma vez ao dia às 12:00 h. Durante os 6 dias do período de coleta, o horário de fornecimento permaneceu às 12:00, mas a oferta diária de ração foi restrita a 90% da média de consumo dos 5 dias anteriores a coleta, a fim de assegurar que toda quantidade ofertada fosse ingerida pelo animal.

A limpeza das baias foi realizada diariamente pela manhã ao longo do período de adaptação. Durante os 5 primeiros dias do período de coleta (dia 18 ao 22 do período experimental), as baias foram raspadas a cada duas horas, a fim de determinar a produção total de fezes. As amostras fecais foram armazenadas em baldes identificados individualmente por animal, pesadas e amostradas duas vezes ao dia, às 08:00 da manhã e 17:00 da tarde. As amostras foram homogeneizadas e amostradas em 10% da quantidade total produzida para determinação da matéria seca para cada animal nos 5 dias de coleta. As amostras fecais foram secas a 105 °C em estufa de ventilação forçada por 24h para a determinação do teor de matéria seca.

Com o intuito de determinar a composição e digestibilidade aparente das frações da MS, PB, EE e FDN, as amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal dos animais nos dois últimos dias do período de coleta, no qual os

animais foram contidos em tronco de manejo, e as coletas realizadas simultaneamente a todos os horários de coleta de líquido ruminal. As amostras fecais foram secas a 55 °C em estufa de ventilação forçada por 72h e trituradas em peneira a 1 mm em moinho tipo Wiley (MA-680 Marconi Ltda, Piracicaba, SP, Brasil).

Amostras de ingredientes e sobras remanescentes da ração foram coletadas diariamente ao longo do período de coleta e armazenadas a -20°C. Ao final do experimento, as amostras de ingredientes e de sobras foram compostas por animal e por período total. As amostras foram descongeladas e secas em estufa de ar forçado a 55 ° C por 72 h e moídas a 1 mm em moinho tipo Wiley (MA-680 Marconi Ltda, Piracicaba, SP, Brasil). Todas as amostras de ingredientes, de sobras e de fezes seguiram os mesmos procedimentos de análises descritos no experimento de desempenho.

Durante os últimos dois dias de coleta (d 23 e 24), aproximadamente 50 mL da alíquota de líquido ruminal foram obtidos manualmente de cada animal por meio da cânula ruminal 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 24 h após o fornecimento da dieta. As amostras foram obtidas manualmente retirando o conteúdo líquido e sólido de diferentes pontos do rúmen, amostrando no “match ruminal” na porção cranial, na porção medial e na porção caudal do ambiente ruminal.

As amostras foram coletadas de 15 animais por horário, sendo intercalado os animais no horário posterior para evitar o excesso de manejo com os animais. No dia seguinte, as coletas foram realizadas invertendo os horários de coleta dos animais, a fim de ter amostras dos animais em todos os períodos de coleta. O trato dos animais que não foram coletados na primeira coleta era fornecido conforme ocorria a coleta do tempo 0, a fim de garantir o intervalo correto para a próxima coleta, sendo respeitada sempre a mesma ordem dos animais em cada horário.

As amostras de fluido ruminal foram espremidas em 4 camadas de pano de algodão e o pH ruminal foi medido imediatamente em pHmetro portátil (Digimed Model DM22, Digicrom Analítica Ltda., São Paulo, SP, Brasil). De cada amostra coletada, foram retiradas três alíquotas de 15 mL, as quais foram armazenadas a -18°C para análises posteriores de AGCC e N-NH₃.

Para determinação de AGCC 2,0 mL do fluido ruminal foram centrifugados a 15.000g, durante 15 minutos e a 4°C. Subsequentemente, 0,8 mL do sobrenadante foi transferido para o vial cromatográfico e adicionado 0,4 mL de solução 3:1 de metafosfórico (25%) com ácido fórmico (98-100%) e 0,2 mL de solução de ácido 2-

etil-butírico 100 mM (padrão interno). Desse extrato, 1µL foi injetado em cromatógrafo gasoso (CG HP 7890A; Injetor HP 7683B, Agilent Technologies) equipado com coluna capilar HP-FFAP (1909F-112; 25 m; 0,32 mm; 0,5 µm; JeW Agilent Technologies). A injeção foi realizada automaticamente pelo sistema injetor acoplado ao cromatógrafo. O gás de arraste utilizado foi o H₂, mantido em fluxo de 31,35 mL/min. A temperatura do injetor e do detector foi de 260°C. O tempo total de análise cromatográfica foi de 16,5 minutos, dividido em três rampas de aquecimento: 80°C (1 min), 120°C (20°C/min; 3 min) e 205°C (10°C/min; 2 min) (FERREIRA et al., 2016). A concentração dos AGCC (mM/L) foi determinada com base em uma curva cromatográfica de calibração externa.

A concentração de N-NH₃ foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Chaney e Marbach (1962), adaptado para leitor de microplaca (EON, BioTech Instruments, Winooski, VT, EUA), utilizando filtro de absorvância de 550 nm.

3.2.4. Análise estatística

Os dados foram analisados pelo PROC MIXED do pacote estatístico Statistical Analysis System – SAS 9.4 (SAS Inc, Cary, NC). Os resultados foram relatados como médias dos quadrados mínimos e a significância foi definida como $P \leq 0,05$ e as tendências foram relatadas quando $0,05 < P \leq 0,10$ usando o Teste de Tukey. Os resultados foram analisados por contrastes ortogonais para os efeitos das doses do complexo enzimático, considerando-se $P \leq 0,05$ como significativo.

Obrigatoriamente, todos os conjuntos de dados foram testados antes da análise geral final, a fim de assegurar que todas as premissas da análise de variância (aditividade do modelo, independência dos erros, normalidade dos dados e homoelasticidade) fossem respeitadas.

Para todas as variáveis analisadas do experimento de metabolismo animal, o animal foi utilizado como unidade experimental.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Experimento de desempenho animal

Os dados de CMS, peso inicial e final, GPD, eficiência alimentar e amido fecal dos bovinos alimentados com as dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 11. Não houve interação entre os níveis de DDBS das dietas e as doses de complexo enzimático (CE) para as variáveis de desempenho ($P > 0,56$).

A suplementação com CE não afetou as variáveis de desempenho, mas houve interação significativa ($P = 0,0477$) entre doses de CE e os diferentes períodos de coleta de amido fecal (Figura 11).

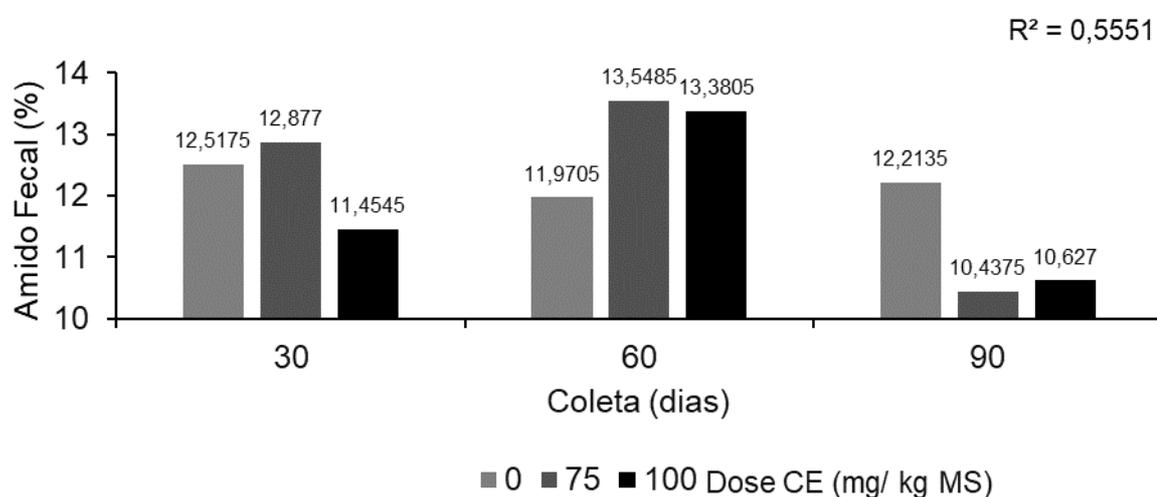


Figura 11. Efeito das doses enzimáticas, nos diferentes períodos de coleta sobre o amido fecal.

O CMS não foi afetado pelos níveis de DDBS das dietas ($P > 0,05$). Todavia, ao avaliar a inclusão de 0%, 15%, 30% e 45% de DDBS em dietas contendo milho moído seco, Moraes (2022) relatou aumento linear no CMS, enquanto Garland (2019b) ao avaliar a inclusão de 0, 20 e 40% da MS de WDBS em dietas contendo milho laminado e silagem de grão úmido, observaram o aumento quadrático do CMS (12,25, 13,15 e 13,33 kg MS/dia respectivamente). Em geral, a literatura demonstra haver um efeito quadrático no CMS quando o DDGS é incluído em dietas altas em milho, atingindo o consumo máximo com 30% de inclusão (KLOPFENSTEIN; ERICKSON; BREMER, 2008; BREMER et al., 2011; NASEM, 2016). O menor teor de amido da dieta com maiores inclusões de DGs pode estar relacionado com o aumento no CMS. A menor concentração de amido na dieta pode ter modificado os

mecanismos de regulação do consumo do animal. Os animais possuem mecanismos de controle do consumo, tendo como reguladores agentes quimioestático ou físico (MERTENS, 1983). Assim, a redução do teor de amido na dieta, pode ter resultado do menor sinal de saciedade pela oxidação do propionato e consequentemente maior CMS (ALLEN et al., 2009).

A inclusão de 45% de DDBS aumentou o GPD ($P = 0,02$), a eficiência alimentar ($P = 0,0365$) dos animais e reduziu o teor de amido fecal ($P < 0,0001$) (Tabela 11).

Os animais que receberam 45% de DDBS apresentaram 7,97% maior GPD que os animais que foram alimentados com 15% de DDBS. Moraes (2022) obteve um aumento de 9,5% no GPD dos animais quando incluiu 45% de DDBS em comparação com a dieta controle sem DDBS (1,58 x 1,73 kg) e aumento de 8,81% em comparação com a dieta contendo 15% de DDBS (1,59 x 1,73 kg). O mesmo incremento de 9,5% no GPD dos animais foi obtido por Antunes (2020) com a inclusão de 30% de DDBS para bovinos em terminação em comparação com a dieta controle sem DDBS (1,48 kg x 1,62 kg). Garland et al. (2019b) relataram tendência de aumento quadrático no GPD de animais alimentados com WDDBS (fibra úmida de destilaria com solúveis). Os animais que consumiram a dieta com 40% de WDDBS ganharam 15,4% mais peso que os que consumiram a dieta controle com 0% de WDDBS, mas apenas 1,56% mais que os que consumiram a dieta com 20% de WDDBS. Assim como relatado no NASEM (2016), onde o WDGS (grãos destilados úmidos com solúveis) possui maior valor energético que o DDGS, espera-se que o WDDBS também contenha maior valor energético que o DDDBS (Lima Jr. et al., 2022). Bremer et al. (2011) sumarizaram 4 trabalhos sobre a inclusão de DDGS (0, 10, 20, 30 e 40%) em dietas para bovinos em terminação e relataram aumento linear do GPD com concentrações crescentes de DDGS (1,60 x 1,66 x 1,72 x 1,77 x 1,83 kg, respectivamente).

Em virtude do aumento do GPD ter sido maior que do CMS, a inclusão de DDDBS aumentou em 5,52% (0,145 x 0,153) a eficiência alimentar com a inclusão de 45% de DDDBS em comparação com a inclusão de 15%. Moraes (2022) relatou aumento de 4,38% na eficiência alimentar de animais que consumiram dietas com 45 x 15% de DDDBS, enquanto Garland et al. (2019b) relatou tendência de aumento linear na eficiência alimentar de 7,3% entre animais consumindo 40 x 0% de WDDBS, mas apenas 1,38% entre animais consumindo 40 x 20% de WDDBS. Bremer et al.

(2011) relataram aumento de 3,85% na eficiência alimentar de animais que consumiram dietas com 40 x 10% de DDGS.

O maior GPD e aumento da EA de animais alimentados com DDBS em relação aos alimentados com milho mais farelo proteico ou milho mais caroço de algodão, pode ser explicada pelo maior teor energético desse coproduto (MORAES, 2022).

Ao realizar a meta-análise avaliando o uso de DGs para taurinos e zebuínos, Torres et al. (2022) observaram que animais taurinos apresentaram uma maior EA quando alimentados com DGs. Esses animais tendem manter o CMS e aumentam o GPD. Essa melhoria em desempenho pode estar relacionada com uma maior eficiência de uso da energia metabolizável para manutenção e ganho em resposta a inclusão desses coprodutos (TORRES et al, 2022).

Não houve efeito do nível de inclusão de DDBS no peso final dos animais ($P \geq 0,05$) apesar do aumento numérico de 11,37 kg quando a inclusão de DDBS na dieta aumentou de 15 para 45%, apesar do aumento significativo no GPD.

Na Tabela 12 são apresentados os dados de características de carcaça, PCQ, RCQ, AOL e EGS, as quais não foram afetadas pelos tratamentos ($P \geq 0,1349$) e não houve interação entre os fatores ($P \geq 0,3161$). Apesar da ausência de significância estatística, o PCQ foi 8,2 kg numericamente maior no tratamento 45% de DDBS que no tratamento 15%, compatível com os 11,37 kg maior valor numérico para peso corporal final dos animais. Essa diferença representa um acréscimo expressivo na receita final com a venda do animal com base nos valores históricos da carcaça praticados no Brasil (CEPEA). O resultado deste trabalho foi semelhante ao obtido por Moraes (2022) e Antunes (2020), nos quais houve um aumento de 7 kg (45 x 15% DDBS) e 10,21 kg (30 x 0% DDBS) no PCQ, respectivamente. Garland et al. (2019b) relataram aumento linear no PCQ (391, 406 e 412 kg) para as dietas com 0, 20 e 40% de DDBS, respectivamente. Com relação às demais características de carcaça, Antunes (2020) e Moraes (2022) também não observaram efeito da inclusão de DDBS nas dietas.

Não houve interação ($P \geq 0,7096$) entre nível de DDBS e de CE, assim como não houve efeito ($P \geq 0,833$) da adição de CE nos valores de energia observada das dietas (Tabela 13).

A inclusão de 45% de DDBS aumentou a Elm ($P = 0,032$) e a Elg ($P = 0,0381$) das dietas em comparação com a inclusão de 15%. Observou-se que a maior

inclusão de DDBS aumentou em 3,52% o teor de NEm (1,875 vs 1,941 Mcal/kg MS) e 4,53% o teor de NEg (1,235 vs 1,291 Mcal/kg MS). Moraes (2022) também observou aumento na Elm (2,46%) e na Elg (3,65%) com a inclusão de 45% de DDBS em comparação a 15% de DDBS.

As relações entre energias observadas e esperadas não foram afetadas pelos tratamentos ($P \geq 0,1952$) e todos os valores obtidos foram inferiores a 1,0. Como não houve alteração na eficiência de uso da energia com a inclusão de 45% de DDBS comparado ao uso de 15% de DDBS, provavelmente os valores observados de energia das dietas abaixo do esperado, podem ser consequência do valor de energia tabular do NASEM (2016) para milho dentado superestimar o valor real de energia do milho *flint* utilizado neste estudo.

Tabela 11. Desempenho de bovinos de corte cruzados alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDBS (fibra seca de destilaria de etanol de milho) e doses de CE (complexo enzimático)

Item	DDBS (% MS)		Dose de CE (mg/ kg)			EPM	P-VALUE		
	15%	45%	0	75	100		DDBS	CE	DDBS X CE
CMS, kg/d	8,826	8,984	8,977	8,771	8,966	0,1672	0,4515	0,6640	0,6167
Peso Inicial, kg	314,08	314,14	314,18	314,13	314,02	8,4518	0,9954	0,9999	0,9999
Peso Final, kg	471,29	482,66	477,20	475,98	477,74	9,4184	0,3373	0,9921	0,9287
GPD, kg/dia	1,279	1,371	1,328	1,314	1,332	0,0307	0,0202	0,9190	0,5619
Eficiência Alimentar	0,145	0,153	0,148	0,150	0,149	0,0030	0,0365	0,9338	0,7188
Amido Fecal*	13,798	10,430	12,234	12,288	11,821	0,4428	<0,0001	0,7326	0,9505

*Houve interação significativa ($P= 0,0477$) entre as doses enzimáticas e os diferentes períodos de coleta do amido fecal. Sem efeito significativo ($P>0,05$) para os contrastes ortogonais das doses.

Tabela 12. Características de carcaça de bovinos de corte cruzados alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDBS (fibra seca de destilaria de etanol de milho) e doses de CE (complexo enzimático)

Item	DDBS (% MS)		Doses de CE (mg/ kg)			EPM ¹	P-VALUE		
	15%	45%	0	75	100		DDBS	CE	DDBS X CE
PCQ, kg	262,09	270,32	266,35	265,91	266,35	5,8332	0,2610	0,9983	0,8650
RCQ, %	55,78	55,95	55,89	55,84	55,88	0,0021	0,5132	0,9833	0,6349
AOL (cm ²)	81,249	83,445	82,995	81,685	82,362	1,1608	0,1349	0,7618	0,5190
EGS (mm)	6,348	6,542	6,655	6,322	6,3570	0,2331	0,5078	0,5927	0,3161

¹EPM = Erro padrão da média

Tabela 13. Concentração de energia líquida de manutenção (ELm) e de ganho (ELg) em dietas contendo níveis diferentes de DDBS (fibra seca de destilaria de etanol de milho) e de doses de CE (complexo enzimático) para bovinos em terminação

Item ¹	DDBS (% MS)		Dose de CE (mg/ kg)			EPM	P-VALUE		
	15%	45%	0	75	100		DDBS	CE	DDBS X CE
EL Observada ¹ ,									
Mcal/ kg									
Mantença	1,875	1,941	1,898	1,920	1,905	0,0363	0,0320	0,8340	0,7223
Ganho	1,235	1,291	1,254	1,273	1,260	0,0321	0,0381	0,8330	0,7449
EL Observada: esperada ²									
Mantença	0,920	0,936	0,924	0,934	0,926	0,0179	0,3237	0,8343	0,7218
Ganho	0,891	0,916	0,898	0,910	0,901	0,0230	0,1952	0,8748	0,7096

¹Calculada de acordo com Zinn & Shen (1998).

²Os valores esperados de ELm e de ELg das dietas foram calculados a partir dos valores tabulares de NDT do modelo empírico do NASEM (2016) para cada ingrediente e das equações de EL do NASEM (2016) com uso de monensina sódica

4.2. Experimento de metabolismo animal

Os dados de consumo de nutrientes no experimento de metabolismo animal estão apresentados na Tabela 14. Não houve interação entre os níveis de DDBS e de CE para as variáveis avaliadas ($P \geq 0,6609$), assim como não houve efeito da adição de CE ($P \geq 0,2462$). A inclusão de 45% de DDBS aumentou os consumos de MM ($P = 0,0333$), de FDN ($P = 0,01$) e de EE ($P = 0,0048$) em comparação com 15%, em virtude da maior concentração desses nutrientes no DDBS em comparação com o milho.

Na Tabela 15 são apresentados os dados de digestibilidade dos nutrientes. Houve interação entre nível de DDBS e de CE para a digestibilidade de proteína bruta ($P = 0,0211$). Nas dietas com 45% de DDGS houve efeito linear positivo ($P = 0,041$) da inclusão de CE nas dietas. Nas dietas com 15% de DDBS não houve efeito da adição de CE (Figura 12).

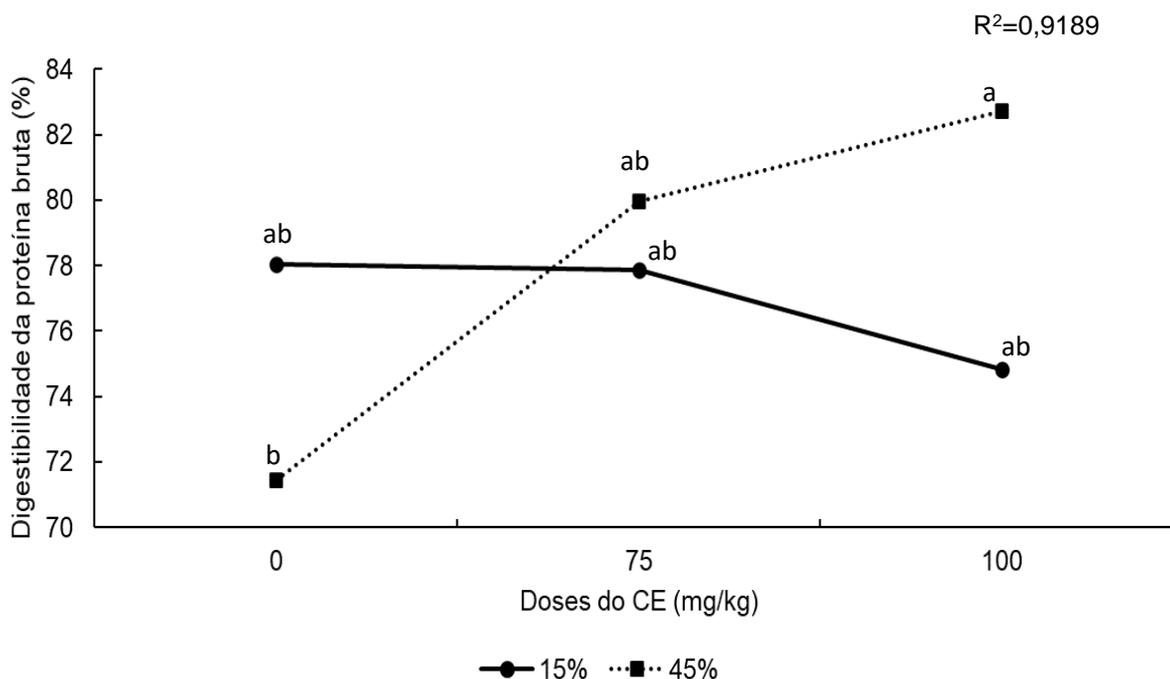


Figura 12. Efeito da dose de CE na digestibilidade da proteína bruta.

Moraes (2022) ao avaliar a inclusão de 0,15, 30 e 45% de DDBS nas dietas reportou tendência de efeito quadrático na digestibilidade da proteína bruta, obtendo valor máximo de digestibilidade com 15% de DDBS (83 x 85 x 83 x 81%, respectivamente).

Ao avaliar a inclusão de 0, 1 ou 2 mL/kg MS de complexo enzimático para bovinos castrados em dietas com alta forragem (50% de silagem de cevada) e a inclusão de 0% ou 15% de DDGS de trigo, HE et al. (2015) reportaram positivo do DDGS na digestibilidade da PB e efeito linear crescente com a inclusão de CE ($P = 0,06$), porém não houve interação ($P = 0,70$) entre DDGS e CE.

Monteiro (2018) estudaram as mesmas enzimas reportada por He et al. (2015) com a inclusão de 0,75 mL/kg MS em dietas com a inclusão de bagaço de cana ou feno de gramínea. A inclusão de CE tendeu a aumentar a digestibilidade da PB nas dietas com feno de gramínea, mas não nas dietas com bagaço de cana.

O nível de inclusão de DDGS não afetou a digestibilidade dos nutrientes e o NDT das dietas ($P \geq 0,1560$). Apesar dos efeitos positivos consistentes no GPD, na eficiência alimentar e conseqüentemente no valor de energia das dietas, a inclusão de grãos destilados e das fibras de destilaria têm frequentemente resultado em redução na digestibilidade da MS e de nutrientes em estudos de metabolismo (NASEM, 2016; GARLAND et al., 2019c; ANTUNES, 2020; MORAES, 2022).

Houve efeito linear crescente na digestibilidade do EE com o aumento da dose de CE ($P = 0,0269$). Em geral, os trabalhos com o uso de EF não abordam a digestibilidade do EE para ruminantes. Para monogástricos os resultados demonstram que a maior inclusão de DGs tende a diminuir linearmente a digestibilidade do EE quando adicionadas EF.

Ao avaliar o uso de 160.000 BXU/g de xilanase para cães alimentados com níveis crescentes de DDGS na dieta, observou-se que o aumento da inclusão do DDGS na dieta diminui linearmente a digestibilidade do EE, independente do uso da xilanase (SILVA, 2015). O mesmo efeito foi reportado ao testar DDGS de sorgo e milho para suínos terminados em dietas com a adição da xilanase (CORASSA et al., 2019).

Tabela 14. Efeitos de níveis de DDBS e de CE no consumo em bovinos canulados confinados

Consumo (kg animal ⁻¹ .d ⁻¹)	DDBS (% MS)		Dose da CE (mg/kg)			EPM	P-VALUE		
	15%	45%	0	75	100		DDBS	CE	DDBS x CE
MS	4,8727	5,4309	4,8214	5,2115	5,4225	0,4041	0,2787	0,6192	0,8388
MO	4,4099	4,8056	4,2361	4,7127	4,8745	0,3607	0,3875	0,4939	0,8049
MM	0,4973	0,6685	0,6252	0,5350	0,5885	0,0608	0,0333	0,6263	0,8955
FDN	1,1219	1,5481	1,2550	1,3573	1,3928	0,1227	0,0102	0,7493	0,7624
PB	0,6007	0,7058	0,6055	0,6663	0,6880	0,0583	0,1611	0,6355	0,6609
EE	0,2064	0,3005	0,2170	0,2666	0,2768	0,0243	0,0048	0,2462	0,7288
CHOT	3,5683	3,7561	3,3735	3,7438	3,8693	0,2816	0,5754	0,5878	0,7845
CNF	2,4464	2,2080	2,1187	2,3863	2,4766	0,1721	0,2771	0,3809	0,8868
NDT	3,8995	4,2929	3,7443	4,2196	4,3247	0,3564	0,3844	0,5328	0,7683

Tabela 15. Efeitos de níveis de DDBS e de CE na digestibilidade aparente total em bovinos canulados confinados

Digestibilidade aparente no trato total, %	DDBS (% MS)		Dose da CE (mg/kg)			EPM	P-VALUE		
	15%	45%	0	75	100		DDBS	CE	DDBS x CE
MSd	84,155	82,980	83,252	83,119	84,331	1,1420	0,4178	0,7585	0,1336
MOd	84,363	82,888	83,105	83,248	84,524	1,1461	0,3125	0,6859	0,1092
MMd	80,865	82,756	82,900	81,150	81,291	1,8074	0,4099	0,7565	0,9475
FDNd	70,101	68,431	68,383	68,006	71,408	2,6413	0,6168	0,6674	0,2542
PBd	78,041	76,910	74,739	78,920	78,767	1,5947	0,5752	0,1630	0,0211
EEd	90,680	90,115	88,248	90,594	92,350	1,1252	0,6910	0,0793*	0,2033
CHOTd	85,225	83,381	84,141	83,853	84,914	1,1316	0,2040	0,8241	0,1734
CNFd	91,518	92,171	92,012	91,658	91,864	0,6903	0,4557	0,9427	0,2416
NDTd	80,905	78,511	77,279	80,313	81,533	1,3092	0,1560	0,1129	0,1254

¹MSd = Matéria Seca digestível, PBd = Proteína Bruta digestível, EEd = Extrato Etéreo digestível, FDNd = Fibra insolúvel em Detergente Neutro digestível

*Efeito Linear (P = 0,0269).

Na Tabela 16 são apresentados os dados de fermentação ruminal. Não houve interação entre nível de DDBS e de CE para os parâmetros de fermentação ruminal ($P \geq 0,1847$) e entre nível de DDBS, CE e horário de coleta ($P \geq 0,1773$), mas houve interação entre nível de DDBS e horário de coleta para pH ruminal ($P = 0,0487$), nível de CE e horário de coleta para a concentração de isobutirato ($P = 0,0125$).

A inclusão de 45% de DDBS nas dietas aumentou ($P = 0,0264$) o pH ruminal (6,23 x 6,40). Realizando o desdobramento da interação ($P = 0,0487$) entre DDBS e horário de coleta para pH ruminal (Figura 13) foi observado que nos horários de coleta 6, 12 e 18 o pH ruminal foi maior com a inclusão de 45% de DDBS e nos horários 0, 3, 9, 15, 21 e 24 horas foram iguais a inclusão de 15% de DDBS.

Conforme apresentado no Figura 13, ao longo das 24 horas do dia, os valores mais baixos de pH ruminal ocorreram às 3, 6 e 9 horas após o trato dos animais, entretanto, além do pH ruminal médio ter sido superior à 6,2, o pH ruminal nunca caiu abaixo de 5,6, considerado o valor limite para a indicação de acidose ruminal subclínica na maioria dos trabalhos revisados pelo NASEM (2016).

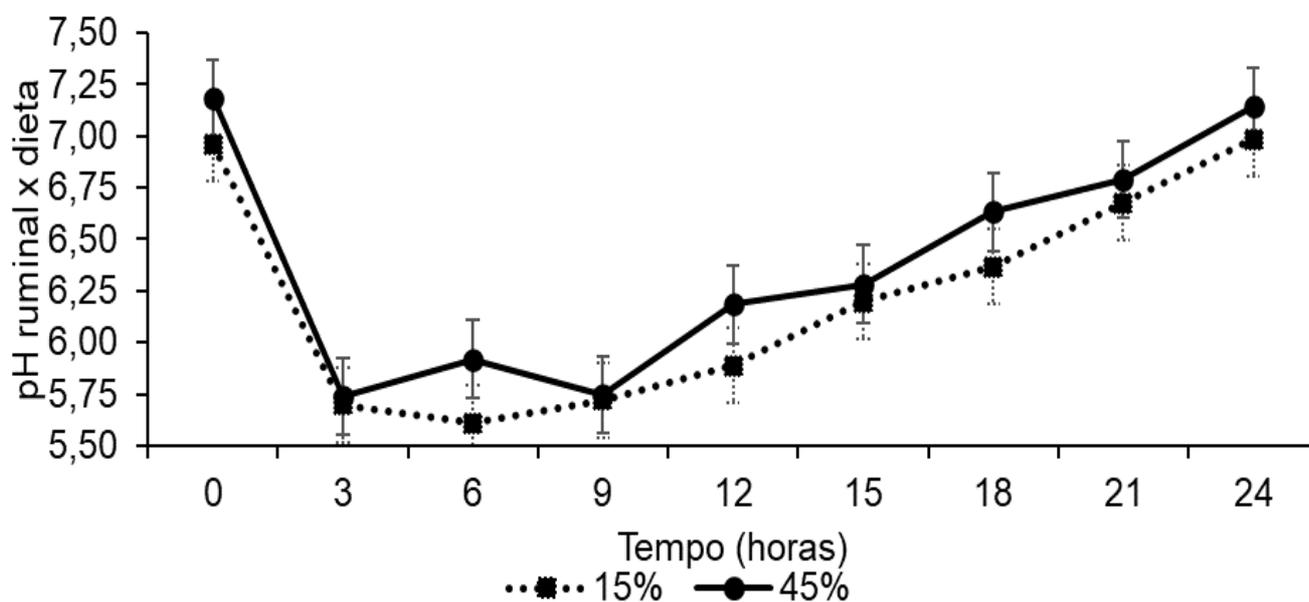


Figura 13. Variação do pH ruminal, em função do tempo, nas diferentes inclusões de DDBS da dieta.

Contrário ao observado no presente estudo, em diversos estudos com grãos destilados, o pH ruminal não foi afetado pela inclusão destes coprodutos na dieta (Bremer et al., 2010; Corrigan et al., 2009; Vander Pol et al., 2009; Garland, 2018; Antunes, 2020).

O uso de CE tendeu a aumentar a concentração molar de propionato ($P = 0,095$) e reduzir a relação C2:C3 linearmente ($P = 0,0551$). Houve redução linear da relação C2:C3 ($P = 0,0373$) para os contrastes do CE com as diferentes inclusões de DDBS na dieta. A relação C2:C3 diminuiu 18,95% e 20,95% com o uso das doses 75 e 100 mg/kg de MS respectivamente. A tendência da relação acetato: propionato diminuir com o uso de enzimas fibrolíticas na dieta também foi reportada por Krause et al. (1998). Entretanto Monteiro (2018) relatou aumento na proporção de acetato com a adição da enzima, aumentando conseqüentemente a proporção C2:C3.

O aumento do propionato ruminal indica uma fermentação ruminal mais eficiente, com menos metano produzido e mais energia disponível para o animal (KOSLOSKI, 2016).

Considerando os dados do experimento de desempenho animal, apesar da ausência de efeito do CE nos parâmetros de desempenho, a redução da relação C2: C3 pode ter contribuído para a maior sustentabilidade do processo de terminação dos bovinos, com menor produção de metano por kg de carne produzida.

A concentração ruminal de $\text{NH}_3\text{-N}$ não foi afetada pelo nível de DDBS ($P = 0,8653$) e nem pela suplementação com CE ($P = 0,3626$).

Tabela 16. Efeitos de níveis de DDBS e de CE nos parâmetros ruminiais em bovinos canulados confinados

Item	DDBS (% MS)		Dose CE (mg/ kg)			EPM	P-VALUE					
	15%	45%	0	75	100		DDBS	CE	DDBS X CE	DDBSX Tempo	CE X Tempo	DDBS X CE X Tempo
AGCC mol/dL	71,541	67,722	66,658	73,634	68,602	3,1170	0,3353	0,3357	0,5341	0,1111	0,4586	0,3670
Acetato	38,255	36,378	37,411	38,356	36,183	1,5712	0,3475	0,6662	0,3087	0,1063	0,5485	0,4148
Propionato	22,337	20,906	18,388	24,278	22,198	1,5245	0,5254	0,0950*	0,7297	0,5099	0,3280	0,3962
Butirato	7,811	7,156	7,708	7,551	7,1912	0,4345	0,2762	0,7498	0,4765	0,5663	0,8763	0,9566
¹ Isobutirato	1,201	1,209	1,707	1,207	1,2378	1,3124	0,7616	0,1672	0,7389	0,0647	0,0125*	0,6215
Valerato	0,877	0,853	0,781	0,911	0,9035	0,0555	0,5370	0,3107	0,6644	0,5713	0,5459	0,8201
Isovalerato	1,310	1,248	1,345	1,308	1,1838	0,1032	0,6305	0,4281	0,3293	0,5234	0,2386	0,3770
² Acetato:												
Propionato	2,023	1,972	2,247	1,889	1,8578	0,1059	0,8100	0,0551*	0,6905	0,2291	0,6905	0,5958
pH Ruminal	6,233	6,401	6,366	6,335	6,2508	0,0572	0,0264	0,4102	0,4612	0,0487	0,4612	0,2234
³ NH ₃ -N												
Ruminal, mg/dL	11,487	11,493	11,883	10,581	12,007	0,5785	0,8653	0,3626	0,1847	0,2717	0,3525	0,1773

¹Tendência linear (P= 0,0615) para os contrastes.

²Efeito significativo para tempo (P<0,001). Efeito linear (P= 0,0373).

³NH₃-N = Nitrogênio Amoniacal.

5. CONCLUSÕES

O DDBS tem maior valor energético que o milho duro ou “flint” cultivado no Brasil e sua maior inclusão (45%) aumenta o teor de energia da dieta, melhora o ganho de peso e a eficiência alimentar de bovinos em terminação.

A inclusão de CE em dietas para bovinos em terminação contendo DDBS melhora o perfil da fermentação ruminal, com redução da relação C2:C3.

REFERÊNCIAS

- ABREU, Jorge Augusto Dias da Costa et al. Adição combinada de carboidrases e óleos essenciais em dietas de novilhos confinados ssp. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2017.
- ACEDO T.S., DÓREA J.R.R. CORTINHAS, C.S. O uso de enzimas exógenas na dieta de ruminantes. **Anais do V Simpósio de Nutrição de Ruminantes**. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. 2015.
- ADEOLA O, COWIESON A. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **J Anim Sci**, 2011.
- ALLEN, M. S.; BRADFORD, B. J.; OBA, M. Board-invited review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 10, p. 3317–3334, 2009.
- ANTUNES, Silvio Luis. **Inclusão de novos coprodutos derivados do processo de produção de etanol de milho em dietas de terminação de bovinos**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. 2020.
- AOAC (Association Official Analytical Chemists) - AOAC. **Official methods of analysis**. 15. ed. Arlington: AOAC. 1995.
- AOAC-ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15. ed. Arlington: AOAC. 1990.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 15 ed. Virginia, p.1141, 1986.
- BATTAN, BINDU et al. Enhanced production of cellulase-free thermostable xylanase by *Bacillus pumilus* ASH and its potential application in paper industry. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, n. 6-7, p. 733-739, 2007. doi:10.1016/j.enzmictec.2007.06.006.
- BEAUCHEMIN KA, RODE LM AND SEWALT VJH. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 75, p.641–644, 1995.
- BEAUCHEMIN, K. A; COLOMBATO, D.; MORGAVI, D. P.; YANG, W. Z. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve animal feed utilization by ruminants. **Journal Animal of Science**, v. 81., p. 37-47, 2003.
- BEAUCHEMIN, K. A. et al. Effects of fibrolytic enzymes in corn or barley diets on performance and carcass characteristics of feedlot cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 77, n. 4, p. 645-653, 1997.
- BEAUCHEMIN, K. A. et al. Mode of action of exogenous cell wall degrading enzymes for ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 84, n. 1, p. 13-22, 2004.

- BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M.; MAEKAWA, M.; MORGAVI, D. P.; KAMPEN, R. Evaluation of a non-starch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 543–553, 2000.
- BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L. M. The potential use of feed enzymes for ruminants. In: **CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS**, 58. Proceedings... Ithaca: Cornell University, 1996. p.131-141, 1996.
- BEDFORD MR. Exogenous enzymes in monogastric nutrition their current value and future benefits. **Anim Feed Sci Technol**, 2000.
- BÉGUIN, PIERRE; AUBERT, JEAN-PAUL. The biological degradation of cellulose. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 13, n. 1, p. 25-58, 1994.
- BERCHIELLI, T.T.; BERTIPAGLIA, L.M.A. Utilização de aditivos na produção de bovinos de corte. In: PIRES, A. V. (Ed). **Bovinocultura de Corte**. Piracicaba: FEALQ, v.1, p. 295-330, 2010.
- BHAT, M. K. et al. Enzymes in farm animal nutrition. Bedford MR, and Partridge CC, ed. Wallingford UK: CAB International, p. 11-60, 2001.
- BIELY, Peter. Microbial xylanolytic systems. **Trends in biotechnology**, v. 3, n. 11, p. 286-290, 1985.
- BONNIN, Estelle et al. Structure of heteroxylans from vitreous and flourey endosperms of maize grain and impact on the enzymatic degradation. **Carbohydrate Polymers**, v. 278, p. 118942, 2022.
- BREMER, M. L. Energy value of de-oiled distillers grains plus solubles in beef cattle diets. University of Nebraska **Theses and dissertations in Animal Science**. p.103, 2014.
- BREMER, Meredith L. et al. Feeding value of de-oiled wet distillers grains plus solubles relative to normal when fed with either dry-rolled corn or steam-flaked corn in beef finishing diets. University of Nebraska **Theses and dissertations in Animal Science**. 2015.
- BREMER, V. R., A. J. LISKA, G. E. ERICKSON, K. G. CASSMAN, K. J. HANFORD, AND T. J.KLOPFENSTEIN. Effect of distiller's grains moisture and inclusion on green house gas emissions in the corn-ethanol-livestock life cycle. **The Professional Animal Scientist**. v.,27, p. 449-455, 2011.
- BREMER, Virgil R. **Distillers grains with solubles for feedlot cattle—Finishing performance, lipid metabolism, and ethanol greenhouse gas balance**. The University of Nebraska-Lincoln. 2010.
- BRITO, Fernando de Oliveira. **Níveis de complexo enzimático em dietas para ruminantes**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2010.
- BURROUGHS, W.; WOODS, W.; EWING, S. A.; GREIG, J.; THEURER, B. Enzyme additions to fattening cattle rations. **Journal of Animal Science**. v.19, p.458-464, 1960. <https://doi.org/10.2527/jas1960.192458x>

- CARLSON, Z. E. Evaluation, 2012 of protein and fiber from distillers grains plus solubles in finishing beef cattle diets. **Masters theses**. Univ. of Nebraska-Lincoln. 2017.
- CEPEA. **Cotações – Boi Gordo**. Disponível em: <<https://www.scotconsultoria.com.br/cotacoes/boi-gordo/>> Acesso em: 28 fev. 2023.
- CHANEY, A. L. E. P. MARBACH. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *J. Clin. Chem*, v. 8, p. 130-132, 1962.
- CHEN, M.; WOLIN, M. J. Effect of monensin and lasalocid-sodium on the growth of methanogenic and rumen saccharolytic bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 72-77, 1979.
- CHEN, Zhou et al. Purification and characterization of a new xylanase with excellent stability from *Aspergillus flavus* and its application in hydrolyzing pretreated corncobs. **Protein expression and purification**, v. 154, p. 91-97, 2019. doi.org/10.1016/j.pep.2018.10.006.
- CHUNG, Y.-H. et al. A fibrolytic enzyme additive for lactating Holstein cow diets: ruminal fermentation, rumen microbial populations, and enteric methane emissions. *Journal of dairy science*, v. 95, n. 3, p. 1419-1427, 2012. doi.org/10.3168/jds.2011-4552.
- COLOMBATTO, D.; MOULD, F.L.; BHAT, M.K.; MORGAVI, D.P.; BEAUCHEMIN, K.A.; OWEN, E. Influence of fibrolytic enzyme on the hydrolysis and fermentation of pure cellulose and xylan by mixed ruminal microorganisms in vitro. **Journal of Animal Science**, v.81, p.1040-1050, 2003.
- CORASSA, ANDERSON et al. Nutritional value of distillers dried grains with solubles from corn and sorghum and xylanase in diets for pigs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 48, p. 48, 2019. <https://doi.org/10.1590/rbz4820190012>.
- CORREA, C. E., R. D. SHAVER, M. N. PEREIRA, J. G. LAUER, AND K. KOHN. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. **Journal of Dairy Science**, 85:3008–3012, 2002. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74386-5.
- CORRIGAN, M. E., G. E. ERICKSON, T. J. KLOPFENSTEIN, M. K. LUEBBE, K. J. VANDER POL, N. F. MEYER, C. D. BUCKNER, S. J. VANNESS, AND K. J. HANFORD. Effect of corn processing method and corn wet distillers' grains plus solubles inclusion level in finishing steers. **Journal Animal Science**, 87:3351-3362, 2009.
- COZANNET, P.; KIDD, M.T.; MONTANHINI NETO,R.; GERAERT, P.A. Next-generation non-starch polysaccharide-degrading, multi-carbohydrase complex rich in xylanase and arabinofuranosidase to enhance broiler feed digestibility. **Poult. Sci.** v.96, p.2743–2750, 2017.

- 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 Science**, v. 34, n. Suppl 2, p. 71-73, 2004.
- DE BRITO, Mariany Souza et al. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos–revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2, n. 4, p. 111-117, 2008.
- DE PAULO, Lorrayne Moraes et al. Coprodutos de frutas e carboidratos na alimentação de aves: Revisão. **Pubvet**, v. 13, p. 176, 2019.
- DODD, Dylan; CANN, Isaac KO. Enzymatic deconstruction of xylan for biofuel production. **Gcb Bioenergy**, v. 1, n. 1, p. 2-17, 2009. doi.org/10.1111/j.1757-1707.2009.01004.x.
- EUN, J.S. & BEAUCHEMIN, K.A. Enhancing in vitro degradation of alfalfa hay and corn silage using feed enzyme. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.6, p.2839-2851, 2007.
- FENG, P. et al. 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. **J. Anim. Sci.**, v. 74, n. 6, p. 1349-57, 1996.
- FERREIRA, E. M.; PIRES, A. V.; SUSIN, I.; BIEHL, M. V.; GENTIL, R. S.; PARENTE, M. M. O.; POLIZEL, D. M.; RIBEIRO, C. V. D. M.; ALMEIDA, E. Nutrient digestibility and ruminal fatty acid metabolism in lambs supplemented with soybean oil partially replaced by fish oil blend. **Animal Feed Science and Technology**, v.216, p. 30-39, 2016.
- FISCHER, G, MAIER JC., RUTZ F, BERMUDEZ, VL. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, com ou sem adição de enzimas. **Ver Bras Zootec.** v. 31, p.402 - 410, 2002. doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982002000200015>
- FREITAS, Teresa Cristina de et al. Uso de enzimas exógenas na alimentação de frangos de corte. **Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal**, 2010.
- GADO, H. M. et al. 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. 1-2, p. 36-46, 2009. doi:10.1016/j.anifeedsci.2009.07.006
- GARLAND, S. **Impact of ethanol process changes on distillers grains for beef cattle**. [s.l.] University of Nebraska - Lincoln, 2018.
- GARLAND, S.A., BOYD, B.M., HILSCHER, F.H., ERICKSON, G.E., MACDONALD, J.C., and MASS, R.A. Evaluation of fractionated distillers' grains (high protein and bran plus solubles) on performance and carcass characteristics in finishing diets. **Nebraska Beef Cattle Report**. MP106:88-90, 2019a.

- GARLAND, S.A., JOLLY-BREITHAUPT, M.L., WILSON, H.C., G.E., MACDONALD, J.C., and MASS, R.A. Evaluation of the energy value and nutrient digestibility of distiller's grains that have undergone a fiber separation process in finishing diets. **Nebraska Beef Cattle Report**. 2019c.
- GARLAND, S.A.; BOYD, B. M.; HILSCHER, F. HENRY HILSCHER; ERICKSON, G.E.; MACDONALD, J. C.; and MASS, R.A. Evaluation of Corn Bran Plus Solubles on Performance and Carcass Characteristics in Finishing Diets **Nebraska Beef Cattle. Reports**. 1020, 2019b.
- GENCOGLU, H. et al. Effect of feeding a reduced-starch diet with or without amylase addition on lactation performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 723-732, 2010. doi.org/10.3168/jds.2009-2673.
- GOERING, H. K.; P. J. VAN SOEST. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications). **Agriculture Handbook**. No. 379. Agric. Res. Serv., US Dept. Agric., Washington, DC. 1970.
- GOSWAMI, Girish K.; RAWAT, Seema. Microbial Xylanase and their applications-A review. **Int J Curr Res Aca Rev**, v. 3, n. 6, p. 436-450, 2015.
- GOUVEA, V. N.; CHAGAS, L. J.; SOUZA, J.; BATISTEL, F.; SITTA, C.; CAMPANILLI, P. R. B.; GALVANI, D. B.; SANTOS, F. A. P. Flint corn grain processing and increasing levels of citrus pulp in finishing diets for Nellore bulls. **Proceedings...Phoenix**, 2012.
- GRAND VIEW RESEARCH. Enzymes Market Size 2022 - 2030. Market Analysis Report. 2022.
- GURUNG, Neelam et al. A broader view: microbial enzymes and their relevance in industries, medicine, and beyond. **BioMed research international**, v. 2013, 2013. doi.org/10.1155/2013/329121
- HALL, M. B. Challenges with nonfiber carbohydrate methods. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 12, p. 3226-3232, 2003. doi.org/10.2527/2003.81123226x
- HALTRICH, Dietmar et al. Production of fungal xylanases. **Bioresource Technology**, v. 58, n. 2, p. 137-161, 1996. doi.org/10.1016/S0960-8524(96)00094-6
- HARMON, D. L.; TAYLOR, C. C. Factors influencing assimilation of dietary starch in beef and dairy cattle. In: Proc. Southwest Nutr. Conf. p. 55-66. 2005.
- HE ZX, WALKER ND, MCALLISTER TA, YANG WZ. Effect of wheat dried distillers grains with solubles and fibrolytic enzymes on ruminal fermentation, digestibility, growth performance, and feeding behavior of beef cattle. **J Anim Sci**. 2015.
- HENRY, Robert J.; BLAKENEY, Anthony B. Evaluation of a general method for measurement of (1-3),(1-4)- β -Glucans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 44, n. 1, p. 75-87, 1988. doi.org/10.1002/jsfa.27404440109

- HOLTSHAUSEN, L. et al. 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. doi.org/10.3168/jds.2010-3573
- HRISTOV, Alexander N.; MCALLISTER, Tim A.; CHENG, Kuo-Joan. Effect of dietary or abomasal supplementation of exogenous polysaccharide-degrading enzymes on rumen fermentation and nutrient digestibility. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 12, p. 3146-3156, 1998.
- JAWORSKI, N. W., H. N. LÆRKE, K. E. BACH KNUDSEN, AND H. H. STEIN. Carbohydrate composition and in vitro digestibility of dry matter and nonstarch polysaccharides in corn, sorghum, and wheat and coproducts from these grains. **J. Anim. Sci.** 93:1103–1113. doi:10.2527/jas.2014-8147. 2015.
- 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**, v. 66, n. 4, p. 1010-1015, 1988.
- KALIM, Bushra et al. Xylanases—from microbial origin to industrial application. **Br Biotechnol J**, v. 7, n. 1, p. 1-20, 2015.
- KHULLAR, Esha et al. Ethanol production from modified and conventional dry-grind processes using different corn types. **Cereal Chemistry**, v. 86, n. 6, p. 616-622, 2009. doi.org/10.1094/CCHEM-86-6-0616
- KING, BRIAN C. et al. An optimized microplate assay system for quantitative evaluation of plant cell wall–degrading enzyme activity of fungal culture extracts. **Biotechnology and bioengineering**, v. 102, n. 4, p. 1033-1044, 2009. doi.org/10.1002/bit.22151
- KLOPFENSTEIN, T. J., G. E. ERICKSON, AND V. R. BREMER. Board-Invited Review: use of distiller's by- products in the beef cattle feeding industry. **Journal Animal Science**. 86:1223-1231, 2008.
- KNUDSEN, K.E.B. Fiber and non starch polysaccharide content and variation in common crops used in broiler diets. **Poult. Sci.** 93, 2380–2393, 2014.
- KONDRATOVICH, Lucas B. et al. Effects of dietary exogenous fibrolytic enzymes on ruminal fermentation characteristics of beef steers fed high-and low-quality growing diets. **Journal of animal science**, v. 97, n. 7, p. 3089-3102, 2019.
- KOZLOSKI GV. Bioquímica dos ruminantes. Fundação de Apoio a Tecnologia e Ciência-Editora UFSM, 2016, 216p.
- KRAUSE, DENIS O. et al. Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. **FEMS microbiology reviews**, v. 27, n. 5, p. 663-693, 2003.

- LEI, Zhao et al. Combination of xylanase and debranching enzymes specific to wheat arabinoxylan improve the growth performance and gut health of broilers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 24, p. 4932-4942, 2016. doi.org/10.1021/acs.jafc.6b01272
- LESLIE, M. A.; MORAN JR, E. T.; BEDFORD, M. R. The effect of phytase and glucanase on the ileal digestible energy of corn and soybean meal fed to broilers. **Poultry Science**, v. 86, n. 11, p. 2350-2357, 2007. doi.org/10.3382/ps.2007-00115
- LIMA JUNIOR, A. DE S.; MESCHIATTI, M. A. P.; GOUVÊA, V. N.; MACDONALD, J. A.; ERICKSON, G. E.; DANTAS, V. G. V.; SANTOS, F. A. P. Effects of wet distillers bran plus solubles and corn oil in diets containing flint corn grain and citrus pulp for finishing Nelore bulls. **Livestock Science**, v. 255, n. October 2020, 2022.
- LJUNGDAHL, L.G., BLUM, D.L., CHEN, H., He, Y., KATAEVA, I., LI, X. AND XIMENES, E.A. The cellulase/hemicellulase system of the anaerobic fungus *Orpinomyces* and aspects of further cellulase research. **MIE Bioforum**, Genetics, Biochemistry and Ecology of Cellulose Degradation, v. p. 19, 1998.
- LOFGREEN, G. P.; GARRETT, W. N. A system for expressing net energy requirements and feed values for growing and finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 27, n. 3, p. 793-806, 1968. doi.org/10.2527/jas1968.273793x
- LOURES, Daniele Rebouças Santana et al. Efeito de enzimas fibrolíticas e do teor de matéria seca em silagens de capim-tanzânia sobre os parâmetros ruminais, o comportamento ingestivo e a digestão de nutrientes, em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 736-745, 2005.
- MARQUARDT RR. Enzyme enhancement of the nutritional value of cereals: role of viscous, water-soluble, nonstarch polysaccharides in chick performance. In: Marquardt RR, Han Z, editors. **Enzymes in poultry and swine nutrition**. Proc. 1st chin. Symp. Feed Enzymes. p. 5e18. 1997.
- MARQUES, R. S.; DÓREA, J. R. R.; PEDROSO, A. M.; BISPO, A. W.; MARTINS, C. G.; ANGOLINI, W. F.; SANTOS, F. A. P. Effects of varying forage levels in diets containing whole flint corn and benefits of steam flaking the corn on finishing Nelore bulls performance, carcass characteristics, and liver abscesses. **Proceedings**...New Orleans, 2011.
- 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.
- McALLISTER, T. a. e colab. **Enzymes in ruminant diets**. Enzymes in Farm Animal Nutrition, p. 273–298, 2001.

- McALLISTER, T. A. et al. Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms. **Journal of Animal Science**, v. 71, n. 1, p. 205-212, 1993.
- MEALE, S. J.; BEAUCHEMIN, K. A.; HRISTOV, A. N.; CHAVES, A. V., McALLISTER, T. A. Board-invited review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve ruminant production. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 427-442, 2014.
- MERTENS, D. R. Usando fibra em detergente neutro para formular rações eiteiras e estimar o teor energético líquido de alimentos. In: **Cornell nutr. Conf.** Cornell, EUA, p.60- 68, 1983.
- MONTEIRO, Ludmila de Souza. **The use of fibrolytic enzymes on the performance, metabolism and feeding behavior of feedlot cattle fed diets which differ in terms of level and source of roughage.** Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. 2018.
- MORAES, João Marcos Meneghel de. **Níveis de inclusão de fibra seca com solúveis de destilaria de etanol de milho em dietas para bovinos terminados em confinamento.** Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. 2022.
- NASEM. 2016. **Nutrient Requirements for Beef Cattle**, 8th Rev. Ed. Washington, DC. National Academy Press. doi.org/10.17226/19014.
- NEIVA, Maira Costa et al. Avaliação de enzimas exógenas na nutrição de ovinos. 2018.
- NRC. Nutrient Requirements of Beef Cattle (6th Ed.). National Academy Press, Washington, DC. 2001.
- NRC. **Nutrient requirements of beef cattle.** National Academy of Science. Washington, DC.1984.
- NUNEZ, A.J.C.; CAETANO, M.; BERNDT, A.; DEMARCHI, J.J.A.; LEME, P.R.; LANNA, D.P.D. Uso combinado de ionóforo e virginiamicina em Novilhos Nelore confinados com dietas de alto concentrado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45., 2008. Lavras. **Anais...** Lavras: Aptor Softwerw, 2008. 1 CD-ROM.
- OWENS, F.N., SECRIST, D.S., HILL, W.J., GILL, D.R. The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle: A review. **Journal of Animal Science**. . 75: 868, 1997. DOI: 10.2527/1997.753868x
- PALOHEIMO, M. et al. Xylanases and cellulases as feed additives. **Enzymes in farm animal nutrition**, p. 12-53, 2010.
- PASTOR, J et al. Xylanases: molecular properties and applications. In: **Industrial Enzymes: Structure, Function and Applications**. p. 65-82, 2007.

- PAUCAR, L.L. Quantificação de metano entérico e metabolismo ruminal de bovinos alimentados com enzimas fibrolíticas e amilolíticas. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2017.
- PHILIPPEAU, C.; MICHALET-DOUREAU, B. Influence of genotype and ensiling of corn grain on in situ degradation of starch in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.81, p.2178-2184, 1998.
- PITT, R. E. Additives for silage and hay preservation. In: SILAGE AND HAY PRESERVATION, New York, 1990. **NRAES-5**. New York: Ithaca, 1990. p.28-44.
- POLIZEL, D. M. et al. The addition of narasin into a mineral mixture improves performance of grazing Nellore steers. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. suppl_4, p. 267-267, 2017.
- POLIZELI, M. L. T., RIZZATTI, A. C. S., MONTI, R., TERENCEZI, H. F., JORGE, H. F., AMORIM, D. S. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, Berlin, v. 67, p. 577-591, 2005.
- PRESTON, R.L. Management of high concentrate diets in feedlot. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE GADO DE CORTE. 1998. Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA. p.82-91, 1998.
- QUEIROZ, Ralf Cezar de et al. Uso de produto à base de enzima e levedura na dieta de bovinos: digestibilidade dos nutrientes e desempenho em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 1548-1556, 2004.
- RAVINDRAN, V. Feed enzymes: The science, practice, and metabolic realities. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 3, p. 628-636, 2013.
- RIOS, Heitor Vieira. Suplementação de um complexo enzimático de carboidrases em dietas milho-soja para frangos de corte. Dissertação de mestrado. UFRGS. 2017.
- 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.; GONZALES, C.F.; SANCHEZ, C.S.; 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, p. 2555-2567, 2015.
- ROONEY, L.W.; PLUGFELDER, R.L. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 63, p. 1607-1623, 1986.

- SAKITA, Gabriel Zanuto et al. Treating tropical grass with fibrolytic enzymes from the fungus *Trichoderma reesei*: effects on animal performance, digestibility and enteric methane emissions of growing lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 286, p. 115253, 2022.
- SALEH, Ahmed A. et al. Effects of dietary xylanase and arabinofuranosidase combination on the growth performance, lipid peroxidation, blood constituents, and immune response of broilers fed low-energy diets. **Animals**, v. 9, n. 7, p. 467, 2019.
- SALEM, A. Z. M. et al. 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.
- SALVO, Pedro Augusto Ribeiro et al. Fibrolytic enzymes improve the nutritive value of high-moisture corn for finishing bulls. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 2, p. skaa007, 2020.
- SAMPAIO C. B. et al. Aditivos alimentares alternativos para bovinos. Boletim de extensão. UFV. 2020.
- SCHELLER, Henrik Vibe; ULVSKOV, Peter. Hemicelluloses. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, p. 263-289, 2010.
- SHULL, J. M. et al. Development of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) endosperm in varieties of varying hardness. **Food Structure**, v. 9, n. 3, p. 8, 1990.
- SILVA, Juliana Regina da. Uso de resíduo seco de destilaria contendo solúveis (DDGS), com e sem xilanase, na alimentação de cães. 2015.
- SILVESTRE, A. M. AND MILLEN, D. D. 2021. The 2019 Brazilian survey on nutritional practices provided by feedlot cattle consulting nutritionists. **Revista Brasileira de Zootecnia** 50:e20200189. <https://doi.org/10.37496/rbz5020200189>
- SINGH, Vijay et al. Comparison of modified dry-grind corn processes for fermentation characteristics and DDGS composition. **Cereal chemistry**, v. 82, n. 2, p. 187-190, 2005.
- SONG, S. D. et al., Effects of exogenous fibrolytic enzyme supplementation to diets with different NFC/ NDF rations on the growth performance, nutrient digestibility and ruminal fermentation in Chinese domestical black goats. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 256, p. 170 – 177, 2018.
- TAHIR M, SALEH F, OHTSUKA A, HAYASHI K. An effective combination of carbohydrase that enables reduction of dietary protein in broilers: importance of hemi- cellulase. **Poultry Sci** 2008;87:713e8.

- TAYLOR, C. C.; ALLEN, M. S. Corn grain endosperm type and brown midrib 3 corn silage: site of digestion and ruminal digestion kinetics in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 1413-1424, 2005.
- THEURER, C. B. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 1649-1662, 1986.
- TIRADO-GONZÁLEZ, Deli Nazmín et al. Meta-analysis: effects of exogenous fibrolytic enzymes in ruminant diets. **Journal of Applied Animal Research**, v. 46, n. 1, p. 771-783, 2018.
- TORRES, Rodrigo de Nazaré Santos et al. Does distillers' grains supplementation affect beef cattle performance, carcass characteristics, and meat quality? A meta-analysis study. **Research in Veterinary Science**, v. 149, p. 21-35, 2022.
- UNEM. União Nacional de Etanol de Milho. Desafios do etanol de milho no Mato Grosso - e no Brasil. 2018. <<https://www.novacana.com/n/eventos/ricardo-tomczyk-unem-desafios-etanol-milho-mato-grosso-brasil-030719>> Acessado 15/02/2022.
- VAN SOEST, PJ van; ROBERTSON, JAMES B.; LEWIS, BETTY A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.
- VANDER POL, K. J. et al. Performance and digestibility characteristics of finishing diets containing distillers grains, composites of corn processing coproducts, or supplemental corn oil. **Journal Animal Science**, v. 87, n. 2, p. 639-652, 2009.
- WANG, Ping et al. Comparison of enzymatic (E-Mill) and conventional dry-grind corn processes using a granular starch hydrolyzing enzyme. **Cereal chemistry**, v. 82, n. 6, p. 734-738, 2005.
- WANG, Y. et al. 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**, v. 85, n. 3, p. 325-332, 2001.
- WEISS, R.; EISCHER, A.; TADIC, T.; GRITSCH, S. M.; ORTNER, M.; PRALL, K.; NEUNTEUFEL, E.; F. PUTZ, R. F.; GUEBITZ, G. M.; NYANHONGO, G. S. Valorization of slaughter house and deinking paper waste streams for the production of enzyme by *Trichoderma reesei*. **Journal of Cleaner Production**. v. 275, 122882, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122882>.
- YANG, H.E.; SON, Y.S.; BEAUCHEMIN, K.A. Effects of exogenous enzymes on ruminal fermentation and degradability of alfalfa hay and rice straw. Asian-Australas. **J. Anim. Sci.**, v.24, p.56-64, 2011.

- ZILIO, Elissandra Maiara de Castro. **Enzimas fibrolítica e amilolítica exógenas na alimentação de vacas em lactação**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. 2018.
- ZINN, R.A.; OWENS, F.N.; WARE, R.A. Flaking corn: processing mechanics, quality standards, and impacts on energy availability and performance of feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v.80, p. 1145-1156, 2002.
- ZINN, R.A.; SHEN, Y. An evaluation of ruminally degradable intake protein and metabolizable amino acid requirements of feedlot calves. **Journal of Animal Science**, v.76, p.1280-1289, 1998.