

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Mauro Emilio Alfredo Vargas

**AVALIAÇÃO DA TORTA DE SOJA COMO FONTE PROTEICA PARA
RUMINANTES: DIGESTIBILIDADE E OFERTA DE PROTEÍNA
METABOLIZÁVEL EM OVINOS**

Santa Maria, RS, Brasil
2023

Mauro Emilio Alfredo Vargas

**AVALIAÇÃO DA TORTA DE SOJA COMO FONTE PROTEICA PARA
RUMINANTES: DIGESTIBILIDADE E OFERTA DE PROTEÍNA
METABOLIZÁVEL EM OVINOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Vilmar Kozloski

Santa Maria, RS
2023

VARGAS, MAURO EMILIO ALFREDO
AVALIAÇÃO DA TORTA DE SOJA COMO FONTE PROTEICA PARA
RUMINANTES: DIGESTIBILIDADE E OFERTA DE PROTEÍNA
METABOLIZÁVEL EM OVINOS / MAURO EMILIO ALFREDO VARGAS.-
2023.

49 p.; 30 cm

Orientador: GILBERTO VILMAR KOZLOSKI
Coorientador: FERNANDO LUIZ QUADROS
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Zootecnia, RS, 2023

1. PROTEINA I. KOZLOSKI, GILBERTO VILMAR II.
QUADROS, FERNANDO LUIZ III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e irmãos, Mirtha, Oscar, Rodrigo e Fabricio.

À minha namorada Ana Martinez pelo apoio incondicional.

Ao Claudio Pozo por me ajudar e me mostrar o caminho desde o primeiro dia.

Ao Gilberto Kozloski por me guiar, orientar e ensinar durante todo esse período.

Às colegas Ana Miranda e Mariana Mezzomo pelo árduo trabalho realizado.

Aos estagiarios, colegas e tecnicos do laboratorio Labrumen que fizeram parte do equipe.

Ao equipe de Alberto Prieto SA pelo apoio prestado.


Muito obrigado a todos!

Mauro Emilio Alfredo Vargas

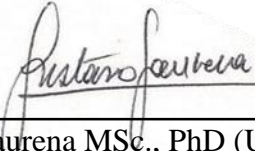
**AVALIAÇÃO DA TORTA DE SOJA COMO FONTE PROTEICA PARA
RUMINANTES: DIGESTIBILIDADE E OFERTA DE PROTEÍNA
METABOLIZÁVEL EM OVINOS**


Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Aprovada em 29 de maio de 2023

Documento assinado digitalmente
 GILBERTO VILMAR KOZLOSKI
Data: 25/07/2023 11:01:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Gilberto Vilmar Kozloski (UFSM)
(Presidente/Orientador)


Gustavo Jaurena MSc., PhD (UBA/Arg.)

Documento assinado digitalmente
 HENRIQUE MENDONCA NUNES RIBEIRO FIL
Data: 24/07/2023 10:53:26-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Henrique M.N. Ribeiro Filho, Dr. (UDESC/Lages)

Santa Maria, RS
2023

RESUMO

AValiação da torta de soja como fonte proteica para ruminantes: digestibilidade e oferta de proteína metabolizável em ovinos

AUTOR: MAURO EMILIO ALFREDO VARGAS

ORIENTADOR: GILBERTO VILMAR KOZLOSKI

Local e data da defesa: Santa Maria, 20 de abril de 2023.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o impacto da inclusão de torta de soja (TS) em dietas completas (TMR) oferecidas para ovinos sobre parâmetros digestivos e metabólicos em comparação a fontes protéicas comumente utilizadas na alimentação dos ruminantes e com propriedades nutricionais conhecidas: farelo de soja (FS), de alta degradabilidade ruminal, e resíduo seco de destilaria com solúveis (DDG), de baixa degradabilidade ruminal. Cinco cordeiros machos castrados da raça Hampshire Down (de 35 ± 5 kg de peso vivo), implantados cirurgicamente com sondas ruminais e cânulas do tipo "T" no duodeno proximal, foram usados em um delineamento em duplo Quadrado Latino 3×3 incompleto, com um período adicional. As dietas experimentais foram isoproteicas e formuladas com 60% de volumoso e 40% de concentrado, base matéria seca (MS). Como volumoso foi utilizada a silagem de milho e para formulação dos concentrados foram utilizados milho moído, núcleo mineral, sal comum e uma das seguintes fontes proteicas: FS, TS ou DDGs. O maior consumo de FDN foi observado para dietas com DDGs ($P = 0,050$). A dieta com FS apresentou digestibilidade da MO aparente e verdadeira superior ao DDGs ($P < 0,05$) e, a dieta com TS, apresentou valores intermediários aos demais tratamentos. Foi observada uma tendência de menor digestibilidade aparente do N para o tratamento com DDGs ($P = 0,135$). Contudo, a inclusão de DDGs na TMR reduziu a excreção de N urinário ($P = 0,015$) e, como consequência, tendeu a aumentar a retenção de N ($P = 0,141$) e aumentou a eficiência de utilização de N ($P < 0,05$) em comparação com dietas com TS e FS. Todos os tratamentos causaram uma diminuição do pH ruminal após cada refeição pela manhã e pela tarde ($P < 0,001$). A TS e FS resultaram em maior concentração ruminal de amônia em comparação com DDGs ($P < 0,001$). O fluxo duodenal de MO, N total, N α -amino, Pmc e N residual foram similares em todos os tratamentos. Em conclusão, a maior parte das variáveis analisadas no presente estudo indicaram que as propriedades nutricionais da TS são semelhantes ao FS.

Palavras-chave: Amônia, degradação do rúmen, descarga duodenal, proteína metabolizável

ABSTRACT

EVALUATION OF SOYBEAN CAKE AS A PROTEIN SOURCE FOR RUMINANTS: DIGESTIBILITY AND METABOLIZABLE PROTEIN SUPPLY IN SHEEP

AUTHOR: MAURO EMILIO ALFREDO VARGAS
ADVISOR: GILBERTO VILMAR KOZLOSKI

Place and Date of evaluation: Santa Maria, March 01, 2023.

The objective of this study is to evaluate the impact of the inclusion of soybean cake (TS) in complete diets (TMR) offered to sheep on digestive and metabolic parameters in comparison to protein sources commonly used in the feeding of two ruminants and with known nutritional properties: farelo soybean (FS), with high rumen degradability, and distilled dry residue with solvents (DDG), with low rumen degradability. Five castrated male Hampshire Down lambs (35 ± 5 kg live weight), surgically implanted with ruminal probes and "T" type cannulas in the proximal duodenum, forams used in a double layout Latin Square 3×3 incomplete, with an additional period. The experimental diets were isoproteic and formulated with 60% by volume and 40% of concentrate, dry matter (DM) basis. As voluminous, mill silage was used and for formulation two concentrates were used ground mill, mineral core, common salt and one of the following protein sources: FS, TS or DDGs. The higher consumption of NDF was observed for diets with DDGs ($P = 0.050$). A diet with FS showed apparent and true OM digestibility higher than the DDGs ($P < 0.050$) and, a diet with TS, showed intermediate values to the other treatments. A tendency of lower apparent N digestibility was observed for the treatment with DDGs ($P = 0.135$). Overall, the inclusion of DDGs in TMR reduced urinary N excretion ($P = 0.015$) and, as a consequence, tended to increase N retention ($P = 0.141$) and increased N utilization efficiency ($P < 0.050$) in comparison with diets with TS and FS. All treatments will cause a decrease in ruminal pH after each morning and afternoon meal ($P < 0.001$). TS and FS resulted in higher rumen concentration of ammonia in comparison with DDGs ($P < 0.001$). The duodenal flow of MO, total N, α -amino N, Pmc and residual N were similar in all treatments. In conclusion, most of the variables analyzed in this study will indicate that the nutritional properties of TS are similar to those of FS.

Keywords: Ammonia, rumen degradation, duodenal flow, metabolizable protein.

FIGURA 1. Esquema do processo de extração do etanol e obtenção dos DDGs. Adaptado de ANTUNES, 2020) e (MONCEAUX et al, 2009).....	16
FIGURA 2. Esquema do processo de extração do óleo de soja pelo método de prensagem, solvente e prensagem de mais solvente.	19
FIGURA 3. - Efeito dos tratamentos sobre o pH do fluido ruminal em ovinos que consomem dieta com 60% de volumoso e 40% de concentrado contendo farelo de soja (FS), torta de soja (TS) ou resíduo de destilaria com soúveis (DDGs)As setas indicam o momento de alimentação. Barras = Erro padrão da media.....	30
FIGURA 4. - Efeito dos tratamentos sobre a concentração de amônia do fluido ruminal em ovinos que consomem dieta com 60% de volumoso e 40% de concentrado contendo farelo de soja (FS), torta de soja (TS) ou resíduo de destilaria com soúveis (DDGs)As setas indicam o momento de alimentação. Barras = Erro padrão da media.....	31
FIGURA 5. - Efeito dos tratamentos sobre o concentração de N α -amino proveniente de aminoácidos libres do fluido ruminal de ovinos (sem hidrólise ácida), que consomem dieta com 60% de volumoso e 40% de concentrado contendo farelo de soja (FS), torta de soja (TS) ou resíduo de destilaria com soúveis (DDGs)As setas indicam o momento de alimentação. As setas indicam o momento de alimentação. Barras = Erro padrão da media.....	31

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Composição química dos alimentos.....	25
TABELA 2 – Porcentagem de participação dos ingredientes nos diferentes tratamentos.....	25
TABELA 3 – Efeito dos tratamentos no consumo diário e digestibilidade no trato total de MO e FDN, em ovinos que consomem dieta com 60% em volume e 40% de concentrado (DDGs, FS, TS).....	32
TABELA 4 – Efeito dos tratamentos no consumo, digestibilidade no trato total, retenção e eficiência de uso de N em ovinos que consomem dieta com 60% volumoso e 40% concentrado (DDGs, FS, TS).....	34
TABELA 5 – Efeito dos tratamentos sobre o fluxo de MO, N e EMPS, em ovinos que consomem uma dieta com 60% em volume e 40% de concentrado (DDGs, FS, TS).....	35

SUMARIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 HIPÓTESE	9
3 ESTUDO BIBLIOGRÁFICO	10
3.1 Nutrição proteica de ruminantes:	10
3.2 Proteína Metabolizável:	10
3.3 Degradação ruminal de compostos nitrogenados:.....	11
3.4 Fatores que afetam a degradação de proteínas ruminais:.....	12
3.5 Resíduos Secos de Destilaria com Solúveis (DDGs):	13
3.6 Características nutricionais dos DDGs.....	13
3.7 Processo de preparação de DDGs:	15
3.7.1 Front-end processing:	15
3.7.2 Back-end processing :.....	16
3.8 Torta e farelo de Soja. Principais características	16
3.8.1 Extrusão e prensagem:.....	17
3.8.2 Extração por solvente	17
3.8.3 Subprodutos da soja na alimentação de ruminantes:	19
4 MATERIAL E METODOS	21
4.1 Local e época	21
4.2 Animais, dietas e delimitação experimental:	21
4.3 Condução do experimento:	22
4.4 Análises químicas:	24
4.5 Cálculos:	25
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA:.....	28
6 RESULTADOS	29
7 DISCUSSÃO.....	33
8 CONCLUSÃO	36
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

A produção de ruminantes constitui uma das principais atividades de produção de alimentos para a crescente população humana. (MOTTET et al, 2017), embora atualmente esteja sendo criticada devido à contaminação ambiental, competição por alimentos com humanos e aceleração das mudanças climáticas devido à liberação de gases de efeito estufa, entre outros. (HALMEMIES et al, 2018).

Dentre os principais gases de efeito estufa derivados da produção pecuária estão o metano (CH_4), o dióxido de carbono (CO_2) e o óxido nitroso (N_2O), demonstrando que o primeiro pode ser controlado quando a pecuária é desenvolvida de forma sustentável e tem abordagem sistêmica (ALIBÉS et al, 2020). Contudo, o uso ineficiente do N pode realmente representar um problema ambiental e econômico, pois o N_2O tem capacidade de captar 300 vezes mais calor que o CO_2 (COSKUN et al, 2017), além disso, o N geralmente é um dos componentes mais caros na dieta de ruminantes.

Devido às suas características digestivas e fisiológicas, os ruminantes têm a capacidade de utilizar tanto o N proveniente de proteínas verdadeiras quanto o N não protéico (NNP). Isso se deve ao fato de que os microrganismos habitam o rúmen são capazes de degradar a proteína verdadeira e também de utilizar o NNP para gerar sua própria proteína microbiana (Pmic), a qual estará posteriormente disponível no duodeno junto com a proteína que escapa da degradação ruminal para ser utilizada pelo animal. A soma de ambas as proteínas mais N endógeno é conhecida como proteína metabolizável (PM) (NRC, 1985). Essa particularidade faz com que os ruminantes possuam a habilidade de transformar dietas de baixa qualidade em produtos de alto valor biológico para consumo humano, como leite e carne. No entanto, dietas com excesso de proteína ou dietas mal balanceadas podem causar grandes perdas de N, principalmente através do leite e da urina (TAMMINGA, 1996).

Atualmente os subprodutos da indústria de álcool e óleo são amplamente utilizados como fontes de proteína em dietas para ruminantes (RUIZ, 2020; BUENAVISTA et al, 2021). O farelo de soja (FS), produzido em grande escala no mundo (FOX, 2011), apresenta um perfil adequado de AA (SONG et al, 2010) e é amplamente utilizado na formulação de dietas para ruminantes, principalmente em sistemas intensivos de produção. No entanto, o FS tem a particularidade de ter alta degradabilidade ruminal, altas taxas de liberação de amônia no rúmen, acima do que as bactérias conseguem captar, o excesso de amônia é absorvido e excretado na urina como uréia..

Em contrapartida, existem subprodutos que possuem baixa degradabilidade ruminal (30 a 45%), como o resíduo da produção de álcool a partir do milho grão, comercialmente conhecido como DDGs (dried distillers grains plus solubles) (KLEINSCHMIT et al, 2007), os quais tem o potencial de aumentar o fluxo de AA para o duodeno do ruminante. (SCHINGOETHE et al, 2006). Contudo, esse ingrediente tem baixa disponibilidade no Brasil e, quando disponível, tem alto custo ao produtor. A torta de soja, por sua vez, é um subproduto também obtido após a extração do óleo do grão mas, diferente do FS, não é submetido à tratamento com solvente. Além disso, o processo para obtenção deste subproduto requer menos tecnologia e menos equipamentos sendo, geralmente produzido em menor escala por empresas locais e de menor porte. Entretanto, para seu preparo, a soja é submetida a altas temperaturas por um período de tempo relativamente curto (NELSON et al, 1987), processo que pode reduzir a degradabilidade ruminal da sua proteína.

Vários estudos avaliaram o efeito da substituição de FS por TS em variáveis produtivas (PORDOMINGO et al, 2020; SPONCHIADO et al, 2019; DERESER PUYANA, 2018; LATIMORI et al, 2013). No entanto, não foi encontrado o estudo que tenha avaliado o impacto da TS sobre variáveis digestivas em ruminantes, em comparação com os concentrados protéicos convencionais, FS e DDG.

Em vista disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o impacto da inclusão de torta de soja TS em dietas completas TMR oferecidas para ovinos sobre parâmetros digestivos e metabólicos em comparação a fontes protéicas comumente utilizadas na alimentação dos ruminantes e com propriedades nutricionais conhecidas: farelo de soja FS, de alta degradabilidade ruminal, e resíduo seco de destilaria com solúveis DDGs, de baixa degradabilidade ruminal

2 HIPÓTESE

A substituição de FS por TS em dietas totalmente misturadas oferecida para ovinos reduz a degradabilidade ruminal da proteína, a excreção urinária de N e aumenta a oferta de proteína metabolizável, um efeito similar à substituição de FS por DDG.

3 ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

3.1 Nutrição proteica de ruminantes:

Os ruminantes têm a particularidade de aproveitar as proteínas verdadeiras, bem como o N de compostos não proteicos presente nos alimentos. Isso se deve ao fato de viverem em simbiose com microrganismos alojados no rúmen, que possuem a capacidade de degradar a proteína em pequenos peptídeos, aminoácidos livres e/ou amônia para se alimentar deles (RUSSELL et al, 1992). Esses microrganismos também utilizam NNP o qual pode ser exógeno (da dieta) ou endógeno (uréia reciclada, lise de células microbianas, excreção de metabólitos de microrganismos) (LAPIERRE, LOBLEY, 2001).

3.2 Proteína Metabolizável:

Os primeiros modelos nutricionais (NRC, 1978; ARC, 1980) usavam proteína bruta (PB) para fazer suas recomendações de nutrição protéica para ruminantes. Lembrando que PB é o resultado da multiplicação do nitrogênio total (Nt) contido no alimento por um fator de conversão de 6,25. Este fator é baseado na premissa de que todas as proteínas contêm 16% de nitrogênio (N). Naquela época, havia pouca informação disponível sobre a exigência de AA do gado e também pouco se sabia sobre a degradabilidade ruminal das fontes de proteína. Em um estudo realizado por Virtanen (1966), ele demonstrou que era possível obter um nível relativamente alto de produção de leite substituindo a proteína verdadeira da dieta por fontes de nitrogênio não protéico (NNP), assumindo que a proteína microbiana (Pmic) sintetizado no rúmen representa uma excelente fonte de AA para o ruminante e que seu fluxo para o duodeno compensaria a baixa qualidade de AA da dieta. Porém, com o passar dos anos, foram selecionados animais mais produtivos e conseqüentemente com maiores exigências nutricionais nos quais, o Pmic não consegue atender a essas exigências. De fato, a Pmic representa cerca de 60 a 85% da quantidade de proteína que chega ao intestino delgado (STORM e ØRSKOV, 1983) e AA dietético que escapa da degradação ruminal tornam-se necessários para complementar o Pmic.

Posteriormente, os submodelos evoluíram de PB para sistemas mais complexos que consideram a degradabilidade ruminal da proteína PDR (INRA, 1988; NRC, 1985; AFRC, 1992; NRC, 2001; NASEM, 2016). Então, a proteína da dieta composta de NNP e proteína verdadeira, é dividida em proteína degradável no rumen (PDR) e proteína não degradável no rumen

(PNDR). A PDR é a proteína que tem potencial para ser degradada por microrganismos ruminais a pequenos peptídeos, AA e/ou amônia para a síntese de Pmic. O PNDR é a fração da proteína da dieta que escapa da degradação ruminal, atinge o intestino e tem o potencial de fornecer AA da dieta ao animal. O conceito de proteína metabolizável (PM) refere-se aos AA absorvidos no intestino delgado do animal, e é constituída pela Pmic, a PNDR e a proteína endógena (DAS et al, 2014).

3.3 Degradação ruminal de compostos nitrogenados:

A degradação da proteína é realizada por meio de enzimas que são secretadas pelas bactérias, portanto a adesão bacteriana às partículas de alimento é uma etapa fundamental para iniciar o processo (BROCK et al, 1982).

Uma vez que os microrganismos se ligam às partículas (proteínas), as enzimas presentes nas membranas bacterianas quebram as cadeias peptídicas da proteína até reduzirem a pequenos peptídeos e AA livres que serão imediatamente incorporados pela bactéria a ser utilizada como tal, ou ser posteriormente desaminados a ácidos gráxos voláteis (AGV) CO₂ e amônia (KOZLOSKI, 2011). Devido ao exposto, a concentração de peptídeos livres e AA no fluido ruminal é geralmente baixa (NUGET e MANGAN 1981), embora concentrações mais altas possam ser observadas imediatamente após a alimentação, o que pode ser uma indicação de que a peptidólise e a desaminação são processos-chave na degradação da proteína (BRODERICK et al, 1991). Por sua vez, Choi et al (2002), observaram maior concentração de peptídeos no canal omasal em relação aos AA livres e proteínas, concluindo que a etapa mais limitante da degradação ruminal das proteínas é a peptidiólise. Portanto, aqueles peptídeos e AA que não são utilizados pelos microrganismos poderiam sair do rúmen, chegar ao duodeno e ficar à disposição do animal. (NRC, 2001).

O destino do peptídeo ou AA absorvido pela bactéria dependerá da disponibilidade de energia. Quando a energia presente na dieta for suficiente, o AA será transaminado ou incorporado diretamente para a síntese de proteína microbiana. Caso contrário, quando a energia for limitante, o AA será desaminado e o grupo amino será transformado em amônia para ser excretada fora da célula (PARKER et al, 1995). Segundo Tamminga (1979), as bactérias não possuem mecanismos de transporte para expulsar os AA que entraram em excesso para fora da célula, portanto a forma mais adequada de eliminar o N quando a energia é insuficiente é a partir da produção de amônia.

3.4 Fatores que afetam a degradação de proteínas ruminais:

Entre os principais fatores que afetam a extensão da degradação da proteína bruta (PB) estão: os físico químicos (relação NNP e proteína verdadeira, a estrutura tridimensional e tipos de ligação presentes na proteína), a atividade proteolítica e acesso da microflora ruminal as ligações peptídicas, a taxa de passagem ruminal, o pH ruminal, o processamento e temperatura a qual os alimentos foram tratados previamente. (BERCHIELLI, et al 2011).

Como pode ser observado, existem muitos fatores que afetam a degradação da proteína. Por exemplo: a relação entre o NNP e a proteína verdadeira da ração pode fornecer uma ideia da degradabilidade que a proteína terá, uma vez que o NNP tem uma taxa de degradação maior que 300%/h e supõe-se que seja 100% degradado em o rúmen (SNIFFEN et al, 1992).

O tipo de proteína é outro fator que afeta a degradação ruminal. As proteínas solúveis são quebradas mais rapidamente do que as insolúveis. O grão de soja apresenta principalmente proteínas do tipo globulina e albumina em proporções relativas de 70 e 30% respectivamente (VENTUREIRA, 2010). Portanto, espera-se que os subprodutos derivados da soja tenham alta degradabilidade ruminal. Por outro lado, o milho possui proteínas do tipo insolúveis como as prolaminas que protegem os grânulos de amido que possuem uma degradação ruminal mais lenta. É por isso que os derivados do milho, como o DDG, têm baixa degradabilidade ruminal. No entanto, existem proteínas solúveis que possuem certas ligações químicas (dissulfetos) entre as cadeias peptídicas que formam as estruturas terciárias e quaternárias, que dificultam o acesso dos microrganismos e, portanto, possuem degradabilidade ruminal lenta. (BACH et al, 2005). Assim, a proteína solúvel não é um bom indicador de maior degradabilidade ruminal, quando se busca comparar diferentes rações.

A taxa de passagem afeta inversamente a degradação ruminal da proteína e esta pode variar de acordo com o nível de consumo. Quando o nível de consumo é alto, a taxa de passagem aumenta e conseqüentemente o alimento permanece por menos tempo no rúmen, diminuindo a taxa de degradação protéica. (ØRSKOV e MCDONALD, 1997).

A aplicação de temperatura aos alimentos é frequentemente usada para diminuir a degradação ruminal de proteínas e aumentar o fluxo PNDR para o duodeno. Entretanto, o superaquecimento do material gera uma interação química entre os aminoácidos terminais da proteína e os açúcares redutores em uma reação conhecida como reação de Maillard (ELLIS, 1959). A reação de Maillard não só aumenta o nível de PNDR, também no estágio avançado da reação, diminui a digestibilidade da proteína no trato digestivo total. (LJOKJEL et al, 2000).

3.5 Resíduos Secos de Destilaria com Solúveis (DDGs):

Os DDGs são subprodutos da indústria do bioetanol que geralmente apresentam uma coloração dourada clara a dourada escura e geralmente são comercializados secos na forma de farinha ou úmidos com 90 ou 30% de matéria seca respectivamente. Para seu preparo são necessários grãos que contenham amido para fermentação (milho, sorgo, cevada, trigo, etc.), sendo o milho o principal grão utilizado (WANG et al, 2007). Considera-se que cerca de 90% da produção total mundial de DDGs é destinada à alimentação de bovinos e suínos, 7% à avicultura e o restante a outras atividades (BUENAVISTA et al, 2021).

Nos DDGs os nutrientes são três vezes mais concentrados que o grão original porque a maior parte do amido é fermentado no processo de fabricação, (LEE et al, 1991), (WIDYARATNE, et al 2007). Existe grande variabilidade na concentração de nutrientes e função do grão utilizado (milho, trigo, cevada, etc.), podendo ocorrer também haja variações dentro dos grãos da mesma cultura/espécie. Este fato pode ser atribuído ao processamento, secagem e condições de mistura do DDG com solúveis condensados de destilaria (CDS). (BELYEA et al, 2010). Em relação a este último, à medida que aumenta a quantidade de CDS incorporada à mistura, diminui a concentração de fibra em detergente neutro (FDN) e proteína bruta (PB), enquanto aumenta a concentração de lipídios, energia, enxofre e fósforo (CORRIGAN et al, 2009)

3.6 Características nutricionais dos DDGs

Os DDGs são excelentes fontes de proteína (NUEZ, 2009). No entanto, existe uma grande variabilidade na concentração de proteína que vai de 26 a 38%. Além disso, os DDGs têm a característica de apresentar altos níveis de PNDR, cerca de 55% da PB total é considerada PNDR, (SCHINGOETHE et al, 2009). Os DDGs são caracterizados por possuírem baixa concentração de proteínas solúveis devido ao fato desse tipo de proteína ser consumida na fermentação que ocorre no processo de fabricação. Adicionalmente, a proteína do grão de milho (prolaminas ou zeínas) que reveste o grânulo de amido tem a particularidade de ser altamente hidrofóbica, conseqüentemente possui baixa degradabilidade ruminal (QUINTERO; NOGUERA; OLIVERA, 2017). O grau de PNDR contido nos DDGs vai depender da quantidade de CDS que é adicionado no momento da mistura com o DDG, então, quanto mais CDS for adicionado, menor será o teor de PNDR nos DDGs, (CAO et al, 2009).

Outro fator que afeta a degradabilidade ruminal da proteína é o grau de aquecimento que o material sofre no momento da secagem. A proteína do milho possui baixa concentração

de lisina, a qual também é o principal aminoácido afetado pelo tratamento térmico por ser muito sensível ao calor (LEE e GARLICH, 1992). A cor dos DDGs pode ser usada como padrão para estimar o grau de dano térmico que o material sofreu. Tons mais escuros estão associados a maiores danos lisina, (FASTIGER et al, 2006). A proteína do grão original tem pouca alteração porque as leveduras adicionadas carecem de enzimas proteolíticas (ROSA; HARRISON 2012), de fato é necessário adicionar alguma fonte adicional de N para as leveduras realizarem a fermentação, como sulfato de amônio ou uréia . No entanto, o perfil de aminoácidos dos DDGs varia em relação ao grão e isso pode ser devido ao fato do CDS agregado possuir grande quantidade de levedura. Foi demonstrado que as leveduras podem representar até 50% do conteúdo de proteína dos DDGs (BALYEA et al 2004).

A presença de carboidratos não fibrosos nos DDGs é mínima, pois a maior parte do amido e dos açúcares são fermentados no processo de fabricação. Níveis de amido inferiores a 5% foram relatados quando a moagem é a seco, embora possa variar dependendo do tipo de moagem (BALYEA et al 2004). Por outro lado, carboidratos fibrosos e lipídios tendem a triplicar sua concentração em relação ao grão original, pois não são consumidos durante a fermentação (HAN e LIU, 2010). O teor lipídico dos DDGs pode oscilar entre 7 a 14% com base na matéria seca, o que o torna um alimento com alto teor energético, inclusive superior ao do grão de milho original (SPIEHS et al, 2002).

Macrominerais como K, P, S, Mg, Na e Ca estão presentes em concentrações médias de 1,03; 0,82; 0,64; 0,32; 0,22 e 0,1%, respectivamente. Em relação aos microminerais Fe, Zn, Mn e Cu em concentrações médias de 149, 84, 17 e 6 ppm respectivamente (LIU, 2011). Semelhante ao que foi comentado anteriormente, a maioria dos minerais presentes nos DDGs tende a triplicar a concentração original presente no grão antes da fermentação. Porém, em alguns minerais pode haver grande variabilidade, como o Na devido ao fato do hidróxido de sódio ser frequentemente utilizado para limpeza, depositando este mineral como subproduto. Outro mineral presente em concentrações importantes é o S, devido ao fato de que no processo de obtenção do etanol é adicionado ácido sulfúrico para manter o pH do meio e favorecer a hidrólise enzimática do amido. O S em níveis adequados na dieta de ruminantes favorece a síntese de Pmic, especialmente em dietas que substituem parcialmente a proteína verdadeira por NNP (MCDONALD 2011). Admite-se a concentração de até 0,4% de S na matéria seca da dieta de ruminantes (NRC, 2001), concentrações maiores podem causar doenças como a poliencefalomalácia (NICHOLS, et al 2012). Além disso, um alto consumo de S pode formar no rúmen complexos conhecidos como tiomolibdatos que interagem com o Cu causando a deficiência deste mineral (GOULD e KENDALL 2011). Outro mineral que está presente em

concentração relativamente alta é o P, sendo a presença desse mineral de grande importância, pois o custo do mesmo em uma dieta é alto.

3.7 Processo de preparação de DDGs:

Segundo Monceaux et al (2009), a produção de DDGs pode ser dividida em 2 etapas com várias subetapas:

- 1) *Front-end processing* (Moagem, Maceração, Cozimento, Liquefação, Sacarificação, Fermentação). Destilação.
- 2) *Back-end processing* (centrifugação, evaporação e secagem).

3.7.1 Front-end processing:

3.7.1.1 *Moagem:*

A primeira etapa para a produção do etanol é a moagem do grão, que pode ser úmido ou seco, sendo este último o mais utilizado (KWIATKOWSKI, et al 2006). Na moagem a seco, o grão é moído com moinhos de martelo até atingir granulometria média de 1 mm de diâmetro (RAUSH et al, 2005), com o objetivo de expor os grânulos de amido e facilitar a hidrólise do amido que ocorre na etapa seguinte.

3.7.1.2 *Maceração, cozimento e liquefação:*

Na sequência a farinha é misturada com água para formar uma pasta (*mash*), imediatamente o material é cozido por várias horas em temperaturas próximas a 80°C. (ANTUNES; 2020) formando uma suspensão viscosa. Nesse processo, enzimas alfa-amilase também são adicionadas para quebrar as longas cadeias de amido e produzir cadeias mais curtas chamadas dextrinas (liquefação do amido). As condições ideais para que ocorra a liquefação é em pH variando de 5,8 a 6,2, sendo necessário adicionar ácido sulfúrico à mistura para manter o referido pH.

3.7.1.3 *Sacarificação e Fermentação:*

Após a liquefação do amido, as enzimas glucoamilase são adicionadas à suspensão para hidrolisar as dextrinas em açúcares livres. Este processo de sacarificação ocorre em um pH de 4,5 e temperatura de 60°C por um período de 2 horas (MORALES and CORDOBA, 2015). Em seguida, no processo de fermentação, a suspensão aquosa é resfriada e fermentada a 30 °C por 48 h adicionando células de levedura, convertendo açúcares simples em álcool. Nesse processo

é comum a adição de ureia.

3.7.1.4 Destilação:

Após a fermentação, a mistura acima passa por uma coluna de destilação onde o álcool e os componentes voláteis são separados, devido ao etanol apresentar um ponto de ebulição mais baixo.

3.7.2 Back-end processing :

O resíduo do processo de destilação contém resíduos sólidos do grão de milho, células de levedura e água e é chamado de vinhaça integral. Toda essa vinhaça é submetida a um processo de centrifugação a fim de separar a fração líquida (vinhaça fina) sendo uma parte geralmente reciclada no início do processo, e a outra parte é condensada, tendo como resíduo um xarope chamado de solúvel condensado (CDS). Além da vinhaça fina, obtém-se também uma fração sólida denominada (torta úmida ou grãos de destilaria). Esses grãos de destilaria são misturados ao CDS e passam por um processo de secagem, formando o que se conhece como Grãos Secos de Destilaria com Solúveis (DDGs). (Figura 1)

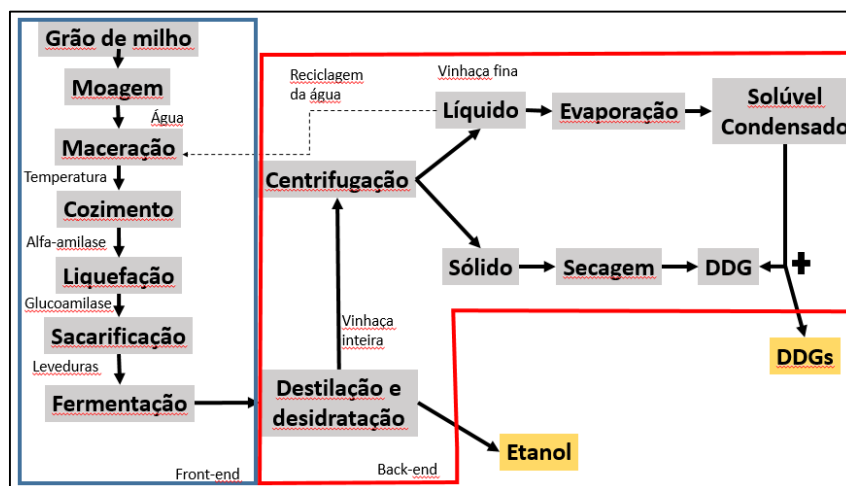


FIGURA 1. Esquema do processo de extração do etanol e obtenção dos DDGs. Adaptado de ANTUNES, 2020) e (MONCEAUX et al, 2009).

3.8 Torta e farelo de Soja. Principais características

Os subprodutos derivados da extração do óleo de soja são amplamente utilizados na alimentação animal, tanto em monogástricos quanto em ruminantes. Os métodos mais utilizados para a extração do óleo são: mecânico (prensa ou extrusão mais prensa) obtendo-se

um resíduo conhecido como Torta de Soja (TS) ou por meio de solventes cujo resíduo é Farelo de Soja (FS). Existem também plantas que combinam os métodos acima mencionados.

3.8.1 Extrusão e prensagem:

A extração por extrusão e/ou prensagem inicia-se com a recepção do grão, secagem, limpeza, descasque (opcional), extrusão e prensagem. A limpeza do grão é realizada para separar qualquer corpo estranho como borracha, galhos, pedras, etc. Em geral, o grão é seco para reduzir a umidade em até 10%, com o objetivo principal de padronizar a umidade do grão que entra no sistema, pois valores de umidade acima de 10% podem afetar a temperatura de extrusão do grão, caso não forem corrigidos. (JUAN, et al 2015). Se o objetivo ao final do processo for ter um bolo mais concentrado em proteína, a etapa do descasque é uma boa opção que pode ser aplicada nesse processo.

Outro processo comumente realizado é a extrusão antes da prensagem. O processo de extrusão se inicia quando a soja entra na extrusora e começa a circular pelo barril da extrusora, no qual é aquecida pelo atrito exercido pela rosca da extrusora com os freios do barril, atingindo temperaturas de 130 a 150°C ao final do percurso, que dura entre 20 a 30 segundos aproximadamente. Ao mesmo tempo, a pressão aumenta para em torno de 40 atmosferas (NELSON et al 1987; JUAN et al, 2015). Ao final do percurso pelo barril da extrusora, o material sai por um pequeno orifício onde se muda drasticamente a pressão atmosférica. Essa mudança abrupta gera uma evaporação parcial da água contida no grão, causando assim a ruptura das células que contém o óleo e facilitando sua extração.

Em seguida, o material extrusado com que apresenta um aspecto de pasta semilíquida é direcionado para as prensas para separar a parte líquida (óleo) da parte sólida (torta). O mecanismo utilizado para o método de prensagem é baseado em um parafuso sem fim que gira dentro de um cilindro. O eixo da rosca é paralelo ao cilindro, desta forma o material a ser prensado entra por uma extremidade do cilindro e graças ao movimento giratório da rosca, o material avança progressivamente até a outra extremidade onde ocorre a descarga. Nesse trajeto, a rosca comprime o material contra as paredes do cilindro que possuem ranhuras por onde é separado o óleo, deixando assim ao final do trajeto uma torta que tem cerca de 3 mm de espessura, chamada de torta de soja ou expeller de soja

3.8.2 Extração por solvente

Da mesma forma que a extração por prensagem, a extração do óleo de soja por solvente

envolve várias etapas.

3.8.2.1 *Preparação de grãos:*

1) Primeiramente, o grão é seco, principalmente se for realizar a descascado devido à maior facilidade de separação da casca do grão. 2) Em seguida é realizada a limpeza e classificação do grão (opcional). 3) A quebra do grão é outra etapa importante para facilitar a separação da casca e aumentar a superfície de contato do material com o solvente. Essa etapa é realizada por meio de um par de rolos corrugados que giram no sentido contrário por onde o grão passa e é quebrado, idealmente em 4 a 6 pedaços. Ao final do craqueamento existe uma plataforma vibratória onde as partículas do grão são separadas da casca, que é aspirada para posterior processamento. 4) O condicionamento é feito para melhorar a plasticidade do material para posterior descamação. Nesse processo, são aplicadas temperaturas próximas de 65 a 70 °C e o teor de umidade sobe 1 ou 2%. 5) Laminado: que consiste em passar o material previamente acondicionado por dois rolos planos que giram em sentido contrário, desta forma, o material adota uma superfície plana e aumenta a superfície de contato para facilitar a extração posterior com o solvente. 6) Expansor: É a última etapa do preparo, na qual as laminas são aquecidas com vapor direto e aumentam seu teor de umidade em 2%. O calor e a umidade adicionados nesse processo amolecem as lamias e conferem uma certa plasticidade. Essa massa elástica gerada que sai da matriz expansora devido à pressão atmosférica incha e adquire poros esponjosos por onde o solvente pode entrar e aumentar o nível de extração.

3.8.2.2 *Extração de solvente:*

A extração é realizada com solventes apolares, e sendo um processo de extração sólido-líquido. O solvente normalmente utilizado é o hexano que tem um ponto de ebulição próximo de 65 – 70 °C. Em primeiro lugar, ocorre uma difusão do solvente no sólido, facilitada pela superfície plana do material (laminas). Outro ponto importante é a difusão do óleo da partícula sólida para o líquido circulante. Nesta última consideração, o que determina a força motriz da difusão é o gradiente de concentração do óleo, ou seja, o equilíbrio é alcançado quando a concentração de óleo dentro dos poros do sólido é igual à concentração da micela livre fora do sólido. Pelo exposto, é importante manter um alto gradiente de concentração e isso pode ser conseguido com extrações múltiplas, ou seja, repetir o processo várias vezes.

Os métodos de extração mais comumente usados são: Percolação e Inundação. No primeiro método, o solvente flui rapidamente pelas partículas sólidas e gradualmente extrai o óleo que se difunde do interior do sólido em direção à superfície. Este método é mais eficaz

quando os flocos sólidos são muito finos. O segundo método consiste em inundar completamente o material no solvente com agitação lenta.

3.8.2.3 Pós extração:

Após a extração, são obtidos dois compostos: a micela, que é a fração líquida composta por óleo e solventes, e a fração sólida formada pelo material gasto que contém solventes entre os poros. A seguir, são descritos os processos para realizar a separação do solvente em ambas as frações.

Destilação da micela: A micela contém cerca de um terço do óleo (BERK, et al 1992), e o restante é o solvente que será destilado por vários métodos, como flash, destilação a vácuo ou extração a vapor.

Desoletização e torrefação da Farinha: o resíduo sólido contém em torno de 35% de solvente (BERK, et al 1992) que deve ser extraído. Nesse processo, são aplicadas temperatura e vapor para extrair e recuperar o máximo de solvente possível, além disso, essa etapa é fundamental para desativar os compostos antinutricionais termolábeis da soja e melhorar a palatabilidade para os animais.

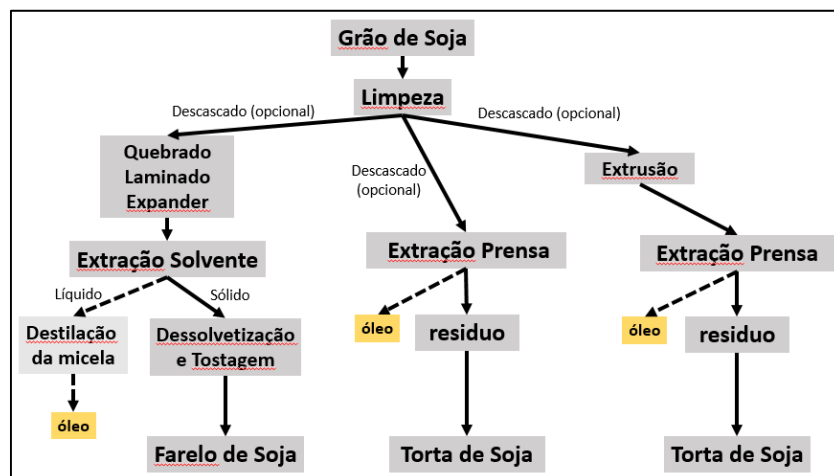


FIGURA 2. Esquema do processo de extração do óleo de soja pelo método de prensagem, solvente e prensagem de mais solvente.

3.8.3 Subprodutos da soja na alimentação de ruminantes:

Ambos os subprodutos são considerados concentrados proteicos. No entanto, a concentração de PB varia de 39 a 44% para TS e de 48 a 52% para FS. Essa diferença de concentração de proteína entre os subprodutos está relacionada à eficiência de extração de óleo

de cada método (PATINO, 2022). De fato, a concentração de EE está em torno de 6 a 8% para TS e dificilmente ultrapassa 2% para FS. O alto teor lipídico do TS confere-lhe um alto teor energético. No entanto, níveis acima de 9% podem levar a rancificação do material, o que pode afetar a palatabilidade e causar a sua rejeição pelos animais (JUAN et al, 2015).

A soja crua contém fatores antinutricionais, como urease e lectina, que podem afetar o desempenho e a saúde de ruminantes jovens e animais monogástricos. Esses fatores antinutricionais estão envolvidos no funcionamento normal da tripsina, enzimas que participam do processo de digestão (ERDAW; PEREZ-MALDONADO, 2018). No entanto, esses fatores são termolábeis, portanto, é possível atenuar seus efeitos aplicando temperatura à soja (TAKÁCS et al, 2022). Existem vários métodos analíticos para avaliar a qualidade do farelo de soja ou da torta de soja, incluindo o Índice de Solubilidade de Nitrogênio (INS), o Índice de Dispersibilidade de Proteína (IDP) e a Atividade de Urease (AU). (TOOMER et al, 2023). A urease é uma enzima termolábil presente na soja crua responsável pela conversão da uréia em amônia e é destruída durante o processamento térmico, sua destruição pode ser correlacionada com a destruição dos inibidores de tripsina e lectina. Outro método utilizado para medir a qualidade do FS e TS é o teste de solubilidade da proteína em hidróxido de KOH, que dá uma ideia do grau de aquecimento que o material sofreu, sendo os valores muito altos indicativos de sub-processamento do material. Em geral, a solubilidade da proteína em KOH diminui à medida que os pontos de tratamento térmico aumentam (valor alvo <73% de solubilidade) (PATINO; JOSEPH, 2022) .

A combinação de tempos de cocção adequados e temperatura do material poderia ser benéfica para a formulação de dietas para ruminantes, pois seria possível reduzir a degradação ruminal da proteína e conseqüentemente diminuir as perdas de N pela urina e leite, melhorar a eficiência de utilização do N e aumentar o fluxo de AA da dieta para o duodeno. Nesse sentido, espera-se que o TS tenha uma degradabilidade ruminal menor que o FS por ser exposto a temperaturas mais elevadas durante seu processo de fabricação. Já o FS pode apresentar fatores antinutricionais se a temperatura a qual for exposto for baixo. No entanto, o FS também pode ser produzido com uma extrusão antes da extração com solvente e, conseqüentemente, ser submetido a uma temperatura mais alta do que o normal.

Broderick, (1986) demonstrou que a proteína da TS elaborada à temperatura de 165°C apresentou menor degradação ruminal que a proteína do FS e conseqüentemente aumentou em 64% o aporte de proteína de origem alimentar. Com relação à produção de leite, não foram observadas diferenças quando as dietas isoproteicas foram formuladas com concentração de PB de 16%. No entanto, quando o nível de proteína das dietas formuladas foi menor, foram

observadas melhorias na produção de leite para dietas com TS em comparação com FS.

Recentemente Silvera et al., (2019), propõe o uso da TS como uma alternativa interessante para substituir o FS em dietas para vacas leiteiras. Este estudo demonstrou que a substituição parcial de FS por TS reduziu a produção de gás metano sem afetar o consumo de MS e a digestibilidade dos nutrientes.

4 MATERIAL E METODOS

4.1 Local e época

Foi conduzido um ensaio de digestibilidade *in vivo* nas instalações do laboratório de Bromatologia e Nutrição de Ruminantes pertencente ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Rio Grande do Sul, Brasil. O ensaio foi realizado no período de abril a setembro do ano de 2022.

4.2 Animais, dietas e delineamento experimental:

O protocolo de pesquisa seguiu as recomendações da comissão de ética da Universidade Federal de Santa Maria. Cinco cordeiros machos castrados da raça Hampshire Down de 35 (\pm 5 kg de peso corporal, (PC)), implantados cirurgicamente com sondas ruminais e cânulas do tipo "T" no duodeno proximal, foram usados em um delineamento em duplo Quadrado Latino 3×3 incompleto. O período um começou com cinco animais. No entanto, o período 2 e 3 por questões de adaptabilidade, um animal foi retirado, continuando o ensaio com 4 animais. Por esta razão, com o objetivo de aumentar o número de n, foi realizado um quarto período (adicional), que mais uma vez contou com a participação dos 5 animais como no período um, obtendo-se 6, 7, e 5 repetições para os tratamentos FS, TS e DDGs, respectivamente.

Foram ofertadas três dietas experimentais, isoproteicas, na proporção de 60% volumoso e 40% concentrado. Como volumoso foi utilizada a silagem de milho e para formulação dos concentrados isoproteicos foram utilizados milho moído, núcleo mineral sal comum e uma das seguintes fontes proteicas: farelo de soja (FS), torta de soja (TS) ou resíduo seco de destilaria com solúveis (DDGs). A composição química dos alimentos e as proporções dos ingredientes nos concentrados são apresentadas nas tabelas 1 e 2 respectivamente a oferta diária de ração foi restrita a 90% do consumo voluntário dos animais, o que foi avaliado antes de iniciar o primeiro período experimental, a fim de gerar um consumo uniforme e evitar a ingestão

seletiva pelos animais.

Tabela 1: Composição química dos alimentos

Item	Silagem de Milho	Farelo de Soja	Torta de Soja	DDGs	Milho grao
MS (g/Kg)	457	868	878	890	865
Composição (g/Kg da MS)					
MO	960	925	941	975	991
FDN	458	102	147	364	108
FDA	233	70	74	137	70
EE	8,6	14,1	25,5	41,1	8,0
CNF	443	281	319	213	798
Nt	9,3	89	77,7	72,6	14,2
N Sol (% / Nt)	60,4	7,47	12,7	7,79	21,2
NDIN (%/ Nt)	14,1	5,13	7,27	21,2	12,5

MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; FDN= fibra em detergente neutro; FDA= fibra em detergente ácido; EE= extrato etéreo; CNF= carboidratos não fibrosos; ¹ = MO-[(FDN-(NDIN x 6.25))+(N total x 6,25 + EE)]; Nt= nitrogênio total; N Sol= nitrogênio solúvel; NDIN= nitrogênio insolúvel em detergente neutro

Tabela 2: Participação dos ingredientes nas dietas

Item	Tratamentos (g/Kg MS)		
	tFS	tTS	tDDGs
Silagem de Milho	600	600	600
Milho grão	154	110	88,0
DDGs	--	--	294,0
Farelo de Soja	228,0	--	--
Torta de Soja	--	272,4	--
Sal	4,4	4,4	4,4
Núcleo Mineral ^a	13,6	13,6	13,6
Composição dos nutrientes			
MS, g do alimento	605	608	612
MO	939	941	950
FDN	315	326	391
FDA	166	167	186
EE	9,6	13,0	17,9
PB	175	176	176

tFS= tratamento com farelo de soja; tTS= tratamento com torta de soja; tDDGs= tratamento com resíduos de grãos de destilaria; MS= Matéria Seca, MO= Matéria orgânica, FDA = Fibra Detergente Neutro, FDA= Fibra Detergente Acido, EE= Extracto Etereo, PB= Proteína Bruta ^a= Cálcio 140 g/Kg, Fósforo 70 g/Kg; Enxofre 27g/kg; Sódio 110g/kg; Manganês 1270 mg/kg; Zinco 4200 g/kg; Cobalto 220 g/kg; Iodo 148 mg/kg; Selênio 9 mg/kg; Ferro 1400 mg/kg; Flúor 710 mg/kg.

4.3 Condução do experimento:

Após as cirurgias, os animais passaram por um período de recuperação de pelo menos três semanas. A seguir, os animais foram alojados em gaiolas metabólicas com comedouro individual e acesso a água. Após um período de adaptação às gaiolas de 15 dias, o experimento foi conduzido em quatro períodos experimentais de 21 dias, sendo os primeiros 10 dias para

adaptação às dietas e os últimos 11 dias para coleta de amostras.

A silagem de milho foi armazenada em sacos plásticos de 20 kg em câmara frigorífica à temperatura de 0°C. Antes do fornecimento, a silagem de milho foi triturada em trituradora elétrica de forragem TRF-70 a fim de reduzir o tamanho médio de partícula para 1 cm para favorecer a mistura com os concentrados e reduzir a seleção pelos animais. Os concentrados foram preparados antes de cada período experimental em misturador horizontal com capacidade para 50 kg e posteriormente armazenados em sacos.

Antes de cada refeição, os volumosos e os concentrados foram pesados em baldes individuais para cada animal em balança com precisão de duas casas decimais e a seguir oferecidos como ração totalmente misturada (TMR) em duas refeições com horários fixos, 8:30 e 16:30 horas, sendo ofertados nas proporções de 40 e 60% da alimentação total respectivamente. O consumo do alimento foi medido pela diferença de peso entre o alimento oferecido menos o peso das sobras medidas no dia seguinte.

Amostras dos alimentos foram coletadas no início de cada período experimental e secas em estufas com ventilação forçada a 55°C, moídas (peneira com porosidade de 1 mm) e armazenadas para posterior análise. A produção total de fezes de cada animal foi coletada diariamente do 11º ao 16º dia de cada período experimental e armazenada em câmara frigorífica a -5°C. Ao final de cada período, as fezes foram pesadas e coletada uma amostra representativa de em torno de 5% do peso total, as quais foram então secas em estufa com circulação forçada de ar a 55°C por 72 horas e, em seguida, moídas e armazenadas para posterior análise.

A urina foi coletada diariamente em galões contendo 100 ml de ácido sulfúrico (20% v/v) utilizando coletores individuais. O volume diário total por animal foi medido e uma amostra de 10 ml foi coletada, transferida para balão volumétrico de 50 ml, completado o volume com água destilada e armazenada em freezer a -20°C. Após o término de cada período experimental, as amostras de urina foram descongeladas e filtradas em papel filtro (7,5 µm de porosidade) comum. A seguir, sub-amostras correspondentes a 1% do volume total diário foram coletadas e misturadas em uma amostra composta por animal e período para análise.

No 12º dia de cada período experimental, foram coletadas oito amostras de líquido ruminal (50 ml) com intervalos de duas horas entre cada amostragem. A primeira coleta foi realizada antes da refeição matinal e as seguintes 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 16 horas após a refeição matinal. Em cada amostragem, foi medido o pH do líquido ruminal com um medidor de pH, (pH/mV 86502 AZ). De cada amostra foram retiradas 2 alíquotas de 4,5 mL e armazenadas em potes individuais, um contendo 0,5 ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄) (20% V/V) e outro

contendo 0,5 ml de ácido tricloroacético (TCA) (50% V/V), as quais foram armazenadas a -20°C para posterior análise.

Entre os dias 18° e 21° de cada período experimental foram coletadas amostras de digesta duodenal três vezes ao dia (70 ml por coleta) com intervalo de 8 horas entre as coletas, avançando duas horas para cada dia de forma a obter 12 subamostras abrangendo um período de 24 horas. Essas amostras foram compostas por animal e período, armazenadas a -20°C e posteriormente liofilizadas para análise.

4.4 Análises químicas:

O teor de matéria seca (MS) foi determinado por secagem em estufa a 105°C por 8 horas. O teor de cinzas foi determinado a partir da combustão em mufla a 600°C por 4 horas e o teor de matéria orgânica (MO) por diferença de peso. O conteúdo total de nitrogênio (N) foi determinado pelo método Kjeldahl (Método 984.13; AOAC, 1997). O nitrogênio solúvel (NS) e o nitrogênio insolúvel em fibra em detergente neutro (NDIN) foram determinados pelos métodos descritos por (LICITRA et al, 1996). A análise da fibra em detergente neutro (FDN) foi determinada a partir do método descrito por Mertens (2002) com o uso de α -amilase termoestável, exceto que as amostras foram pesadas dentro de sacos de poliéster com porosidade de 16 μ m e tratadas com detergente neutro em autoclave, por 40 minutos (SENGER et al., 2008). A concentração de fibra em detergente ácido (FDA) foi realizada de acordo com o método (937.18 da AOAC 1997), exceto que as amostras foram pesadas dentro de sacos de poliéster com porosidade de 16 μ m e tratadas com detergente ácido em autoclave a 110°C por 40 minutos (SENGER et al., 2008). O teor de extrato etéreo (EE) foi obtido por extração com éter de petróleo a 90°C por 60 minutos, utilizando o equipamento XT15 da ANKOM, através do método AOCS Am 5-04 (AM; AOCS, 2005).

As amostras de líquido ruminal com adição de H₂SO₄ e TCA foram descongeladas e centrifugadas a 10.000 x g por 10 minutos, a 4°C e coletado o sobrenadante para a determinação de N amoniacal (WEATHERBURN, 1967) e N alfa amino respectivamente.

Para a análise de N α -amino foi realizada uma primeira etapa de digestão na qual o sobrenadante coletado foi tratado com HCl 6 M (0,5 ml de amostra e 0,5 ml de HCl 6 M) em tubos com tampa de rosca, por 24 horas a 110°C. Na segunda etapa a amostra foi transferido para um balão volumétrico de 10 ml e completado o volume com hidróxido de sódio 0,375 N e filtrada com papel de filtro (7,5 μ m de porosidade). A solução de NaCl foi utilizada com a finalidade de neutralizar as amostras. Na terceira etapa a concentração de N α -amino foi

analisada por espectrofotometria pelo método não automático adaptado de Palmer e Peters (1969) da seguinte forma: foram pipetados 200 uL da amostra filtrada em um tubo e adicionados 1650 uL de borato tampão (19,1 g/L $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, 0,05M), 250 uL 1 g/L 2,4,6-Trinitrobenzeno Sulfonato (TNBS). Essa mistura foi incubada em banho-maria a 37°C por 20 minutos. Imediatamente, 500 µL de HCl 1N foram adicionados cada tubo e a absorbância foi medida a 420 nm (UV BEL Photonic 2000) contra um branco contendo água destilada. A L-Serina foi usada para realizar uma curva padrão que incluía tubos de ensaio contendo 7,87; 15,75; 23,62 e 31,50 µg/tubo de Serina. Adicionalmente foram analisadas as concentrações de N α -amino no sobrenadante das mesmas amostras de líquido ruminal sem a etapa de digestão, com o objetivo de avaliar a concentração de AA livres no rúmen.

Para a análise de N α -amino no duodeno, as amostras foram tratadas seguindo os mesmos procedimentos utilizados nas amostras de líquido ruminal, com a diferença de que foi pesado 0,1 g de amostra previamente liofilizadas e tratada com 2 ml de HCl 6 M em tubos com tampa de rosca, por 24 h a 110°C. Após a hidrólise, 8 ml de NaOH 1,5 N foram adicionados a cada tubo e o conteúdo foi diluído em balão volumétrico de 50 ml e completado o volume com água destilada. Essa solução foi filtrada em papel filtro (7,5 µm de porosidade) e, em seguida, a leitura das concentrações de N α -amino.

4.5 Cálculos:

Carboidratos não fibrosos (CNF, g/Kg):

O teor de carboidratos não fibrosos foi calculado como $\text{MO} - [(\text{FDN} - (\text{NDIN} \times 6,25)) + (\text{N} \times 6,25) + \text{EE}]$. (VAN SOEST et al, 1991).

Digestibilidade aparente e verdadeira de MO e N no trato digestivo:

A digestibilidade aparente das frações da dieta foi calculada da seguinte maneira $[\text{consumo (g/dia)} - \text{excreção fecal (g/dia)}] / \text{consumo (g/dia)}$. A digestibilidade verdadeira da matéria orgânica foi estimada considerando que a fração de MO contida na FDN da matéria fecal é de origem alimentar (VAN SOEST, 1994), ou seja: $[\text{Consumo de MO (g/dia)} - \text{FDN Fecal (g/dia)}] / \text{Consumo de MO}$. A digestibilidade aparente do N = $[\text{consumo de N (g/dia)} - \text{teor de N na matéria fecal (g/dia)}] / \text{consumo de N (g/dia)}$.

Consumo de MO digestível:

O consumo da MO digestível foi calculado da seguinte forma:

$$[\text{Consumo de MO (g/dia)} - \text{MO nas fezes (g/dia)}]$$

Digestibilidade aparente Ruminal da MO:

A digestibilidade ruminal aparente da MO foi calculada da seguinte forma: [consumo de MO (g/dia) – MO duodenal (g/dia)] / consumo de MO (g/dia).

Eficiência de retenção e utilização de N:

A quantidade de N retida (NR) (g/dia) foi calculada como: N ingerido (g/dia) – N fecal (g/dia) – N urinário (g/dia). A eficiência de utilização do N pelo animal (ENU), foi calculada como: N retido (g/dia) / N consumido (g/dia).

Fluxo de DM, MO e compostos nitrogenados:

O fluxo de DM duodenal foi estimado a partir da excreção fecal e da concentração de FDA na digesta duodenal como foi proposto por (KOZLOZKI et al, 2014) da seguinte forma:

$$MS \text{ (g/dia)} = (MS \text{ fecal (g/dia)} \times FDA \text{ fecal (g/kg MS)}) / FDA \text{ duodenal (g/kg MS)}.$$

O fluxo de MO (g/dia) foi calculado multiplicando-se sua concentração na digesta duodenal (g/Kg de MS) pelo fluxo de MS (g/dia), da seguinte forma:

$$MO \text{ duodenal total (g/dia)} = (MO \text{ duodenal (\% da MS)} \times MS \text{ duodenal (g/dia)}) / 100$$

O fluxo de compostos nitrogenados (g/dia) foi calculado multiplicando-se sua concentração na digesta duodenal (g/Kg de MS) pelo fluxo de MS (g/dia), da seguinte forma:

$$N \text{ duodenal total (g/dia)} = (N \text{ duodenal (\% da MS)} \times MS \text{ duodenal (g/dia)}) / 100$$

O fluxo de N α -amino (g/dia) foi calculado multiplicando-se sua concentração na digesta duodenal (g/Kg de MS) pelo fluxo de MS (g/dia):

$$N \alpha\text{-amino (g/dia)} = (N \alpha\text{-amino (\% da MS)} \times MS \text{ duodenal (g/dia)}) / 100$$

O fluxo do N não amônia N não microbiana (NNANM) foi estimado como a diferença entre o fluxo de N total (Nt) e N microbiano (Nm) e N amônia .

$$NNANM: Nt - Nm - \text{amônia}$$

O N endógeno está incluído no NNANM.

A proporção do fluxo de N α -amino em relação ao fluxo de N total do duodeno foi calculada da seguinte forma:

$$N \alpha\text{-amino (g/dia) / N total duodenal (g/dia)}$$

Fluxo de N microbiano (Nm)

A quantidade de N microbiano fluindo diariamente (g/dia) foi estimada com base no fluxo de derivados de purina (DP), segundo o método proposto por (CHEN, GOMES, 1992).

A proporção do fluxo de N microbiano em relação ao fluxo de N total do duodeno foi calculada da seguinte forma:

$$N \text{ microbiano (g/dia) / N total duodenal (g/dia)}$$

Eficiência da Síntese de Proteína Microbiana (ESPM):

O Eficiência da síntese de proteína microbiana (ESPM) (g de nitrogênio microbiana / kg de MO digestível verdadeira no rumen) foi calculado da seguinte forma:

$$Nm \text{ (g/dia) / digestibilidade aparente da MO no rumen (kg/dia). } \times 1000$$

Eficiência de utilização do nitrogênio degradado no rúmen (EUNR)

$$EUNR = Nm \text{ (g/dia) / N degradado no rumen (g/dia)}$$

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA:

Os dados foram analisados utilizando o PROC MIXED do SAS (versão student SAS), de acordo com o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ijkl} = \mu + Q_i + A_{j:i} + P_k + T_l + e_{ijkl} \text{ com: } v_{j:i} \approx N(0; \sigma_A^2) \text{ e } e_{ijkl} \approx N(0; \sigma_e^2)$$

onde: Y_{ijkl} = variável dependente; μ = média geral; Q_i = efeito fixo de quadrado Latino ($i = 1$ e 2); $A_{j:i}$ = efeito aleatório do animal dentro de cada quadrado Latino ($j = 1$ à 5); P_k = efeito fixo do período experimental ($k = 1$ à 4); T_l = efeito fixo do tratamento ($l =$ DDGs, FS e TS); e_{ijkl} = erro residual aleatório; N = distribuição normal; σ_A^2 = variância associada ao efeito aleatório do animal dentro de quadrado Latino; σ_e^2 = variância residual.

Os dados dos parâmetros de fermentação ruminal foram analisados como medidas repetidas no tempo, usando o PROC MIXED e o seguinte modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + Q_i + A_{j:i} + P_k + T_l + \omega_{ijkl} + H_m + T_l \times H_m + e_{ijklm}$$

$$\text{com: } A_{j:i} \approx N(0; \sigma_A^2), \omega \approx N(0; \sigma_\omega^2) \text{ e } e_{ijklm} \approx MVN(0; R);$$

onde Y_{ijklm} = variável dependente; μ , Q_i , $A_{j:i}$, P_k , T_m foram previamente definidos; ω_{ijklm} = erro residual associado com as unidades experimentais (animal em cada período experimental); H_m = efeito fixo do tempo de coleta ($m = 1$ a 8 para fermentação ruminal); $T_l \times H_m$ = efeitos de interação; e_{ijklm} = erro experimental; N = distribuição normal; σ_A^2 = variância associada com o efeito do animal; σ_ω^2 = variância associada com as unidades experimentais (animal dentro de período); MVN = indica variâncias múltiplas com distribuição normal; e R = matriz de variância e covariância usada para modelar as variâncias das medidas repetidas. Foram avaliadas as matrizes CS, CSH, AR(1), ARH(1), TOEP, sendo utilizado o critério Baisiano para identificar a mais adequada ao conjunto de dados. Para todas as análises foi utilizado o teste de Tukey para comparar as médias, considerado um nível de significância de 5%, sendo valores entre 5 e 15% considerados como tendência.

6 RESULTADOS

O consumo diário de MO (g/d) foi semelhante para todos os tratamentos. (Tabela 3). No entanto, o maior consumo de FDN foi observado para dietas com DDGs ($P = 0,050$). A dieta com FS apresentou digestibilidade da MO aparente e verdadeira superior ao DDGs ($P < 0,05$), e a dieta com TS apresentou valores intermediários aos demais tratamentos. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para a digestibilidade aparente da FDN.

Tabela 3 - Consumo e digestibilidade total da matéria orgânica (MO) e da fibra em detergente neutro (FDN) em ovinos que consomem dieta com 60% de volumoso e 40% de concentrado contendo farelo de soja (FS), torta de soja (TS) ou resíduo de destilaria com soúveis (DDGs)

Item	Tratamentos				
	FS	TS	DDGs	EPM ¹	P ²
<i>Consumo (g/d)</i>					
MO	882	906	834	84,1	0,216
FDN	297 ^b	316 ^{ab}	334 ^a	29,3	0,053
<i>Digestibilidade aparente no tracto total (%)</i>					
MO	80 ^a	78 ^{ab}	75 ^b	0,013	0,051
FDN	62	58	57	0,024	0,276
<i>Digestibilidade verdadeira MO (%)</i>					
	88 ^a	86 ^{ab}	83 ^b	0,009	0,009

^{a b} Valores com diferentes sobrescritos dentro de uma linha indicam diferenças significativas ($P \leq 0,05$). ¹ erro padrão da média, onde n=6 para FS, n=7 para TS e n=5 para DDGs. ² Probabilidade de erro tipo I.

A inclusão de TS no TMR não afetou a digestibilidade nem o metabolismo de N comparado com o FS (Tabela 4). Por outro lado, a inclusão de DDGs no TMR reduziu a excreção urinária de N e aumentou a EUN ($P < 0,05$) em comparação com os tratamentos TS e FS.

Tabela 4 - Consumo diário, digestibilidade no trato total, excreção e retenção de nitrogênio (N), em ovinos que consomem dieta com 60% de volumoso e 40% de concentrado contendo farelo de soja (FS), torta de soja (TS) ou resíduo de destilaria com soúveis (DDGs)

Item	Tratamentos			EPM ¹	P ²
	FS	TS	DDGs		
Consumo g/d	28,1	28,2	27,8	2,67	0,965
<i>Digestibilidade no trato total</i>					
Aparente	0,82	0,81	0,79	0,012	0,135
<i>Excreção (g/d)</i>					
Fecal	5,19	5,35	5,71	0,74	0,675
Urinario	13,9 ^a	13,4 ^a	10,7 ^b	1,93	0,015
Retenção de N ³ (g/d)	9,0	9,5	11,3	2,05	0,141
ENU ⁴ (%)	32 ^b	34 ^b	40 ^a	0,061	0,019

^{a b} Valores com diferentes sobrescritos dentro de uma linha indicam diferenças significativas ($P \leq 0,05$). ¹ erro padrão da média, onde n=6 para FS, n=7 para TS e n=5 para DDGs. ² Probabilidade de erro tipo I. ³ Retenção de N g/d = ingestão de N (g/d) - N urinário (g/d) - N fecal (g/d). ⁴ Eficiência de utilização de N pelo animal (g N Retido / g N Consumido)

Não houve interação ($P = 0,254$) entre os tratamentos e o tempo sobre as variáveis relacionadas ao pH (Figura 3). O pH ruminal não foi influenciado pelos tratamentos. No entanto, uma diminuição do pH ruminal foi observada após cada refeição pela manhã e pela tarde ($P < 0,001$).

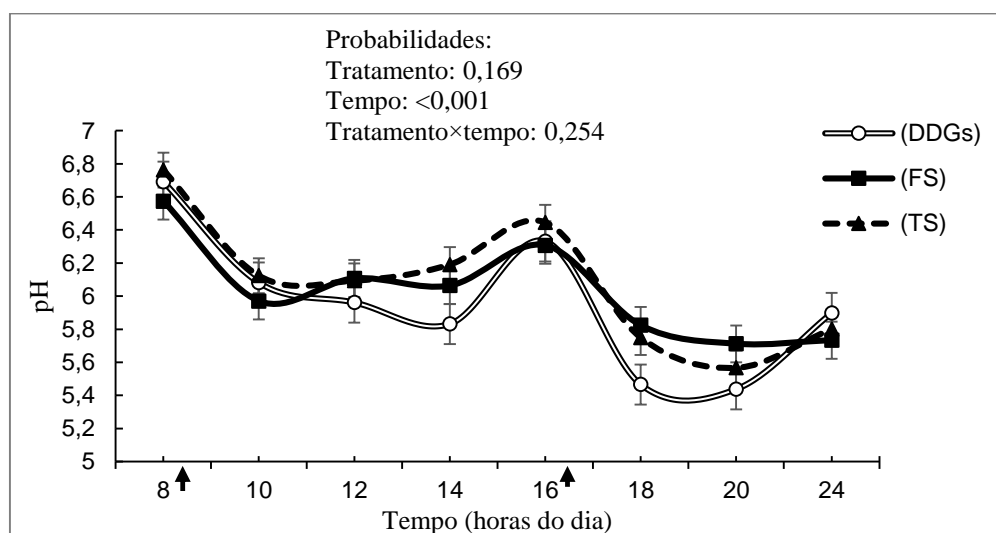


FIGURA 3. - Efeito dos tratamentos sobre o pH do fluido ruminal em ovinos que consomem dieta com 60% de volumoso e 40% de concentrado contendo farelo de soja (FS), torta de soja (TS) ou resíduo de destilaria com soúveis (DDGs) As setas indicam o momento de alimentação. Barras = Erro padrão da média

Não houve interação entre os tratamentos e o tempo sobre a concentração de amônia no rumen. A concentração de amônia ruminal foi menor para o tratamento DDGs em relação aos demais tratamentos ($P < 0,001$), porém não foram observadas diferenças significativas entre as

dietas com FS e TS. Houve uma maior concentração de amônia para todos os tratamentos após a cada refeição do dia ($P < 0,001$). (Figura 4)

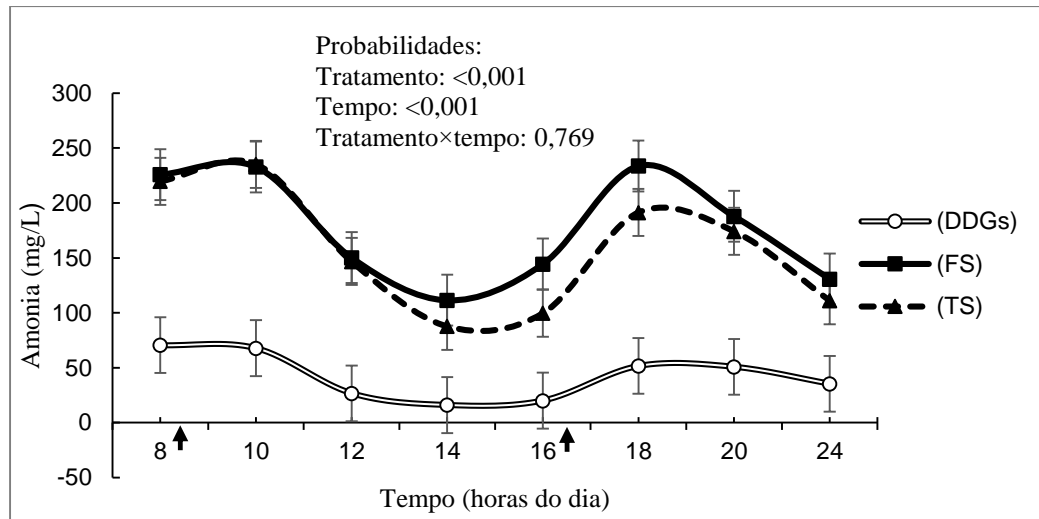


FIGURA 4. - Efeito dos tratamentos sobre a concentração de amônia do fluido ruminal em ovinos que consomem dieta com 60% de volumoso e 40% de concentrado contendo farelo de soja (FS), torta de soja (TS) ou resíduo de destilaria com soúveis (DDGs) As setas indicam o momento de alimentação. Barras = Erro padrão da media

Nenhuma interação foi observada entre tempo e tratamento para a concentração de N α -amino no liquido ruminal. Também não houve efeito dos tratamentos na concentração de N α -amino no liquido ruminal. No entanto, foi possível observar maior N α -amino no liquido ruminal ($P < 0,05$) imediatamente após cada refeição. (Figuras 5 e 6).

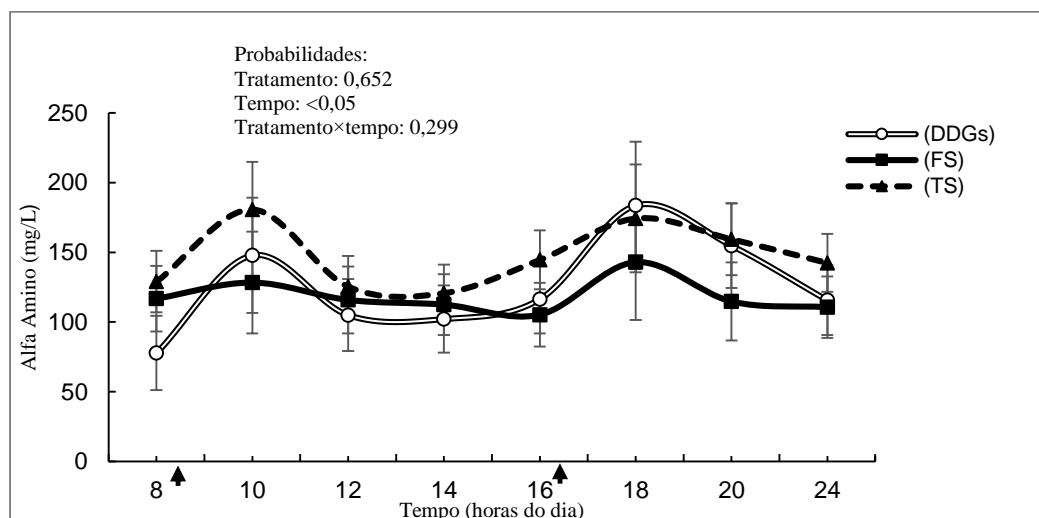


FIGURA 5. - Efeito dos tratamentos sobre o concentração de N α -amino proveniente de aminoácidos livres do fluido ruminal de ovinos (sem hidrólise ácida), que consomem dieta com 60% de volumoso e 40% de concentrado contendo farelo de soja (FS), torta de soja (TS) ou resíduo de destilaria com soúveis

(DDGs)As setas indicam o momento de alimentação. As setas indicam o momento de alimentação.

Barras = Erro padrão da media

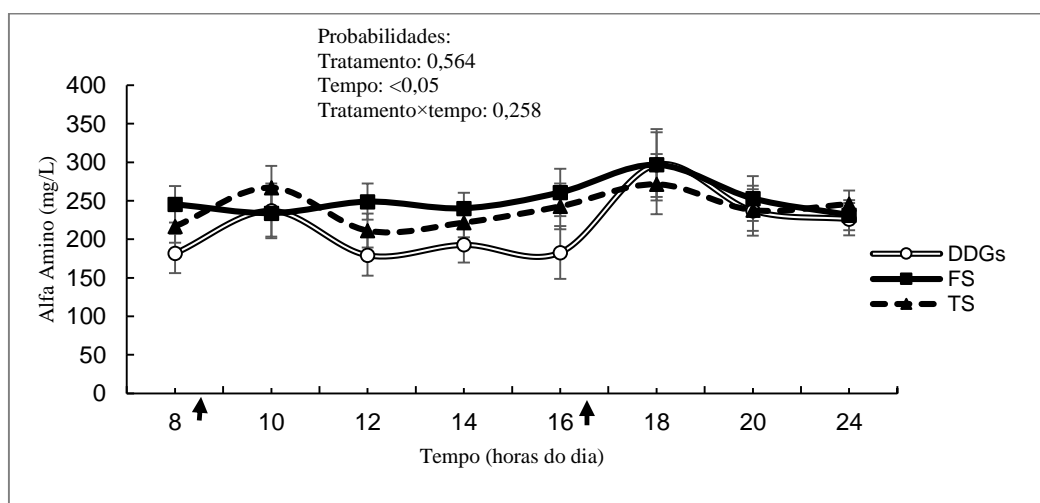


Figura 6 - Efeito dos tratamentos sobre a concentração de N α -amino proveniente de aminoácidos livres e pequenos péptidos do fluido ruminal de ovinos (com hidrólise ácida), que consomem dieta com 60% de volumoso e 40% de concentrado contendo farelo de soja (FS), torta de soja (TS) ou resíduo de destilaria com sôúveis (DDGs)As setas indicam o momento de alimentação. As setas indicam o momento de alimentação.

Barras = Erro padrão da media

Os tratamentos não afetaram o fluxo duodenal de MO, N total, N α -amino, Pmc e N residual. Também não houve efeito dos tratamentos na digestibilidade aparente da MO, degradabilidade de N ruminal e ESPMr, mas foi observado uma tendencia a ter maior EMSPt ($P=0,114$) para o tratamento DDGs sobre o FS

Tabela 4 - Efeito dos tratamentos sobre o fluxo duodenal da MO e N, a digestibilidade da MO ruminal, a degradação ruminal do N e a eficiência de síntese de proteína microbiana em ovinos que consomem dieta com 60% de volumoso e 40% de concentrado (DDGs, FS, TS).

Item	Tratamentos			EPM ¹	P ²
	FS	TS	DDGs		
Fluxo duodenal de MO (g/d)	329	422	386	86,1	0,388
Fluxo duodenal de compostos N (g/d)					
Total	18,9	23,7	22,7	5,18	0,548
Alfa-amino	15,6	19,2	17,4	4,11	0,658
Microbiano	10,2	10,9	10,8	1,37	0,769
amoníaco	0,94 ^{ab}	1,12 ^a	0,41 ^b	0,28	0,005
NNANM ³	7,6	11,8	11,5	4,08	0,544
Digestibilidade ruminal aparente da MO(%)	65	56	55	5,8	0,304
DRN (%) ⁴	73	60	58	12	0,426
ESPM ⁵	18,0	22,2	23,8	10,3	0,337
EUNR ⁶	0,54	0,63	0,65	0,12	0,666

^{a b} Valores com diferentes sobrescritos dentro de uma linha indicam diferenças significativas ($P \leq 0,05$). ² erro padrão da média, onde n=6 para FS, n=7 para TS e n=5 para DDGs. ¹ Probabilidade de erro tipo I. ³ NNANM (Nitrogênio não amônio, não microbiano) = (Nt duodenal (g/dia) - Nm (g/dia) - N amônio (g/d)). ⁴ N Degradado no rumen = $1 - [(N \text{ duodenal (g/d)} - \text{NNANM (g/d)}) / \text{Consumo N (g/d)}]$. ⁵ ESPM = N microbiano (g/dia) / MO digestível aparente ruminal (Kg/dia). ⁶ EUNR (Eficiência de utilização do N degradado no rúmen) = Nm (g/dia) / N degradado no rumen (g/d).

7 DISCUSSÃO

Nossa hipótese foi que a substituição de FS por TS em dietas totalmente misturadas oferecida para ovinos reduz a degradabilidade ruminal da proteína, a excreção urinária de N e aumenta a oferta de proteína metabolizável, um efeito similar à substituição de FS por DDG. Isso se deve ao fato do TS se comportar como um concentrado protéico que apresenta menor degradação ruminal que o FS por ser submetido a altas temperaturas por um período de tempo relativamente curto em seu preparo.

Neste trabalho, a digestibilidade da MO para dietas com TS foi intermediária aos demais tratamentos. No entanto, o FS apresentou maior digestibilidade que o tratamento DDGs. Essas diferenças na digestibilidade podem estar associadas ao maior consumo de FDN pelo tratamento DDGs (MACEDO et al, 2006). Neste estudo, o maior consumo de FDN para dietas com DDGs provavelmente provém do concentrado de DDGs, pois todos os tratamentos tiveram a mesma fonte e proporção de forragem. A fim de formular dietas isoproteicas, a proporção de concentrados protéicos teve que ser ajustada junto com o milho. Portanto, o tratamento DDGs possui 75 e 25% menos milho em relação aos tratamentos com FS e TS respectivamente. O que poderia explicar a menor digestibilidade, uma vez que está bem documentado que a FDN tem uma degradabilidade e digestibilidade de MO mais baixa do que os carboidratos não fibrosos (MERTENS, 1993); (ALHADAS et al, 2021).

Os tratamentos com TS e FS tenderam a melhorar a digestibilidade aparente do N em relação ao tratamento com DDGs. Um maior teor de N associado à FDN (NIDN) representa um aumento na fração proteica de lenta degradação ruminal (MUSTAFA et al, 2000). Ou seja, a degradação efetiva desse tipo de proteína depende do tempo de retenção ruminal, em ovinos o tempo de retenção é menor quando comparado aos bovinos (CANNAS, 2004). Enquanto o N ligado ao FDA (NIDA) representa o N que não é utilizado pelo animal (CAN; YILMAZ, 2002). Em nosso estudo, a oferta diária de NIDN foi em média 35% maior para a dieta com DDGs em relação aos demais tratamentos, o que poderia explicar a tendência de menor digestibilidade aparente do N.

O FS tem se mostrado um coproduto com alto teor PDR (BRISOLA et al, 1999). Quando a dieta contém excesso de PDR ou quando os microorganismos não possuem a energia suficiente para aproveitar o N e formar Pmic, a degradação da proteína é realizada até amônia que será liberada para fora da célula microbiana, a amônia que não é utilizada pela bactéria atravessará as paredes do rúmen e será metabolizada em uréia pelo fígado e então excretada na

urina (BACH; CALSAMIGLIA; STERN, 2005). Como esperado, neste estudo o FS apresentou maior produção de amônia e conseqüentemente maiores perdas de N na urina, tendendo a menor retenção de N e apresentando menor EUN em relação aos DDGs. Ao contrário do esperado, TS comportou-se de forma semelhante ao FS nas variáveis mencionadas. Na preparação do concentrado TS, a soja é submetida a uma combinação de pressão e temperatura. O aquecimento do material causa uma redução na liberação de amônia no rúmen (PLEGGE; BERGER; FAHEY, 1985), que está associada a uma menor degradação ruminal da proteína. Neste estudo, não temos informações sobre a temperatura a que a soja foi submetida no momento da extrusão para a preparação do TS e provavelmente o grau de aquecimento no momento da confecção não foi suficiente para diferenciá-lo do FS.

Todos os tratamentos apresentaram variação semelhante na variável pH, com queda acentuada logo após cada refeição, sendo a queda mais prominente após comida alimentação fornecida a tarde, o que pode ser explicado pela maior oferta de alimento (60%) e pelo acúmulo de alimento diário que estava sendo fermentado. Embora não tenha havido diferenças significativas entre os tratamentos, a dieta com DDGs apresentou às 18 e 20 horas valores de pH inferiores a 5,5, considerados acidose ruminal (NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007). A maior seleção alimentar feita pelos animais observada para dietas com DDGs pode ser uma das explicações para esses valores de pH.

De acordo com Firkins; Yu; Morrisin, (2007) a degradação da proteína ruminal pode ser dividida em duas etapas consecutivas: 1) a primeira etapa ocorre extracelularmente, onde a proteína é degradada a pequenos peptídeos e/ou AA livres por um complexo multienzimático presente na membrana plasmática bacteriana e 2) na segunda etapa, que ocorre no interior das células bacterianas, os AA são em sua maior parte desaminados liberando amônia, AGV e CO₂. Segundo Broderick et al (1991), quando as dietas são ricas em fontes proteicas rapidamente degradáveis, é possível observar um acúmulo de peptídeos e AA livres no fluido ruminal imediatamente após cada refeição. Nesse sentido, era esperado que as dietas com TS e DDGs tivessem menor concentração de peptídeos e AA em comparação com a dieta FS. No entanto, em nosso estudo não foram observadas diferenças entre os tratamentos. Além disso, conforme mencionado anteriormente, maiores concentrações de amônia no fluido ruminal também foram observadas para dietas com TS e FS. Esses resultados sugerem que a taxa de degradação de proteínas mediada por proteases bacterianas é semelhante para todos os tratamentos e que, por razões que não conhecemos, a etapa de degradação intracelular envolvendo desaminação e produção de amônia ocorre em uma taxa menor para dietas com DDGs. Segundo Bach et al, (2005), a concentração de amônia no fluido ruminal é resultado do uso preferencial de peptídeos

e AA pelas bactérias, seja como fonte de energia ou para incorporá-lo ao Pmic. Talvez essa seja uma das explicações para os resultados apresentados neste estudo.

O NRC (2001) estima que para cada kg de NDT consumido, a síntese de Pmic é de 130g. Em nosso estudo foram observados valores próximos a esse valor, com tendência de maior ESPMt para dietas com DDGs em relação aos demais tratamentos. Isso pode ser explicado porque o tratamento com DDGs gerou a mesma quantidade de Pmic com menor consumo de energia digestível em relação aos demais tratamentos. No entanto, Castillo et al (2013) mostraram que a inclusão de DDGs em dietas TMR poderia fornecer leveduras que escapassem da degradação ruminal, especialmente se essas leveduras fossem submetidas a superaquecimento (BRUNING; YOKOYAMA, 1988), quando os DDGs fossem preparados. Nesse sentido, é possível que o SPM neste estudo esteja superestimado para o tratamento com DDGs, lembrando que a estimativa do fluxo Pmic foi feita a partir de derivados de purínas, não sendo possível separar entre leveduras e Pmic sintetizados no rúmen.

O tratamento com TS provocou um fluxo de compostos nitrogenados semelhante ao tratamento com DDGs, conforme esperado. Entretanto, o tratamento FS também não apresentou diferenças com o tratamento DDGs. Ao contrário de nossas hipóteses, mas de acordo com o que foi observado anteriormente na produção de amônia, excreção urinária de N e EUN, era esperado um aumento no fluxo de compostos nitrogenados para o tratamento com DDGs em comparação com os tratamentos com TS e TS. Acreditamos que a ausência de diferenças entre os tratamentos para o fluxo de compostos nitrogenados se deva em função do marcador de fluxo empregado. Neste trabalho, o FDA foi utilizado como indicador de fluxo, assumindo que o tempo de retenção na porção do intestino delgado e grosso é relativamente curto para causar uma digestão não-FDA ou no caso de digestão parcial, será semelhante para todos os tratamentos (KOZLOZKI et al, 2014). Por exemplo, se dois tratamentos apresentarem maior digestibilidade que o outro, o fluxo deste será subestimado. Uma alternativa seria testar, testar outros marcadores e comparar com os resultados apresentados.

8 CONCLUSÃO

Em conclusão, a maior parte das variáveis analisadas no presente estudo indicaram que as propriedades nutricionais da TS são semelhantes ao FS.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALHADAS, H. M., et al. In situ evaluation of dried distillers grains (DDG) and of diets containing different levels of DDG inclusion replacing soybean meal, urea and corn, and development of alternative methods to estimate in vivo digestibility of diets. *Livestock Science*, 2021, vol. 253, p. 104706.

ALIBÉS, J., García, J., Herrera, P. M., Llorente, M., Majadas, J., Manzano, P., ... & Turiño, M. (2020). Extensive farming and climate change: An in-depth approach.

ALDAI, N., et al. Comparison of wheat-versus corn-based dried distillers' grains with solubles on meat quality of feedlot cattle. *Meat Science*, 2010, vol. 84, no 3, p. 569-577.

AM, AOCS Approved Procedure. Rapid Determination of Oil/Fat Utilizing High Temperature Solvent Extraction. 2005.

ANTUNES, Silvio Luis. Inclusão de novos coprodutos derivados do processo de produção de etanol de milho em dietas de terminação de bovinos. 2020. Tesis Doctoral. Universidade de São Paulo.

ARROQUY, J., et al. Uso de subproductos del destilado de granos en bovinos para carne. Jornada Nacional de Forrajes Conservados (1a., 2014, Manfredi). Recopilación de presentaciones técnicas. Córdoba, INTA, 2014, p. 1-43.

ÁVILA, S. C., et al. Impact of a tannin extract on digestibility, ruminal fermentation and duodenal flow of amino acids in steers fed maize silage and concentrate containing soybean meal or canola meal as protein source. *The Journal of Agricultural Science*, 2015, vol. 153, no 5, p. 943-953.

ARC. The nutrient requirements of ruminant livestock, supplement No. 1. Report of the protein group of the ARC Working Party. 1984.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**, 16th, 3. ed. AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD. 1997.

BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M. D. Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of dairy science*, 2005, vol. 88, p. E9-E21.

BADUI DERGAL, Salvador. *Química de los alimentos*. México, Pearson Educación, 2016.

BELYEA, Ronald L.; RAUSCH, Kent D.; TUMBLESÓN, M. E. Composition of corn and distillers dried grains with solubles from dry grind ethanol processing. *Bioresource technology*, 2004, vol. 94, no 3, p. 293-298.

BELYEA, R. L., et al. Sources of variation in composition of DDGS. *Animal feed science and technology*, 2010, vol. 159, no 3-4, p. 122-130.

BERK, Zeki, et al. *Tecnología de producción de harinas comestibles y productos proteicos a partir de soja* . 1992.

BERCHIELLI, Telma Teresinha; PIRES, Alexandre Vaz; OLIVEIRA, Simone Gisele de. *Nutrição de ruminantes*. 2011.

BONDI, Aron A., et al. *Nutrición animal* . John Wiley & Sons Ltd., 1987.

BRISOLA, Marcelo Landim, et al. Degradabilidade ruminal in situ da matéria seca e proteína bruta do farelo e dos grãos de soja extrusados. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 1999, vol. 36, p. 154-158.

BROCK, F. M.; FORSBERG, C. W.; BUCHANAN-SMITH, J. G. Proteolytic activity of rumen microorganisms and effects of proteinase inhibitors. *Applied and environmental microbiology*, 1982, vol. 44, no 3, p. 561-569.

BRODERICK, Glen A. Relative value of solvent and expeller soybean meal for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 1986, vol. 69, no 11, p. 2948-2958.

BRODERICK, G. A.; WALLACE, R. J.; ØRSKOV, E. R. Control of rate and extent of protein degradation. En *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*. Academic

Press, 1991. p. 541-592.

BRUNING, C. L.; YOKOYAMA, M. T. Characteristics of live and killed brewer's yeast slurries and intoxication by intraruminal administration to cattle. *Journal of Animal Science*, 1988, vol. 66, no 2, p. 585-591.

BUENAVISTA, Rañia Marie E.; SILIVERU, Kaliramesh; ZHENG, Yi. Utilización de granos secos de destilería con solubles: una revisión. *Revista de investigación agrícola y alimentaria*, 2021, vol. 5, pág. 100195.

CAN, A.; YILMAZ, A. Usage of xylose or glucose as non-enzymatic browning agent for reducing ruminal protein degradation of soybean meal. *Small ruminant research*, 2002, vol. 46, no 2-3, p. 173-178

CANNAS, Antonello. Feeding of lactating ewes. En *Dairy sheep nutrition*. Wallingford UK: CABI Publishing, 2004. p. 79-108.

CAO, Z. J.; ANDERSON, J. L.; KALSCHEUR, K. F. Ruminal degradation and intestinal digestibility of dried or wet distillers grains with increasing concentrations of condensed distillers solubles. *Journal of animal science*, 2009, vol. 87, no 9, p. 3013-3019.

CARDOZO, P. W.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A. Effects of pH on nutrient digestion and microbial fermentation in a dual flow continuous culture system fed a high concentrate diet (comunicación oral presentada en el Congreso Joint Annual Meeting of American Dairy Science Association and American Society of Animal Science and Canadian Society of Animal Science). *J. Anim. Sci.*, 2002, vol. 80, no supl. 1, p. 182-182.

CASTILLO-LOPEZ, E., et al. In vivo determination of rumen undegradable protein of dried distillers grains with solubles and evaluation of duodenal microbial crude protein flow. *Journal of animal science*, 2013, vol. 91, no 2, p. 924-934.

CHEN, Xubin B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of the technical details. 1992.

CHOI, Chang-Weon, et al. Effects of several protein supplements on flow of soluble non-ammonia nitrogen from the forestomach and milk production in dairy cows. *Animal feed science and technology*, 2002, vol. 102, no 1-4, p. 15-33. A

CHOI, Chang-Weon, et al. Quantitation of the flow of soluble non-ammonia nitrogen entering the omasal canal of dairy cows fed grass silage based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 2002, vol. 96, no 3-4, p. 203-220. b

CLARK, J. H.; KLUSMEYER, T. H.; CAMERON, M. R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *Journal of dairy science*, 1992, vol. 75, no 8, p. 2304-2323.

Clementson C., K. Ileleji, R. Strohshine. Particle segregation within a pile of bulk distillers dried grains with solubles (DDGS) and variability of nutrient content *Cereal Chem. J.*, 86 (2009), pp. 267-273, 10.1094/cchem-86-3-0267

CORRIGAN, M. E., et al. Effect of corn processing method and corn wet distillers grains plus solubles inclusion level in finishing steers. *Journal of animal science*, 2009, vol. 87, no 10, p. 3351-3362.

DAS, Lalatendu Keshary, et al. Metabolizable protein systems in ruminant nutrition: A review. *Veterinary World*, 2014, vol. 7, no 8.

DUQUE-QUINTERO, Mónica; ROSERO-NOGUERA, Ricardo; OLIVERA-ÁNGEL, Marta. Digestión de materia seca, proteína cruda y aminoácidos de la dieta de vacas lecheras. *Agronomía Mesoamericana*, 2017, vol. 28, no 2, p. 341-356.

ELLIS, G. P. The maillard reaction. En *Advances in carbohydrate chemistry*. Academic Press, 1959. p. 63-134.

EWEEDAH, N.; GUNDEL, J.; MÁTRAI, T. Protein degradability, amino acid composition, trypsin inhibitor and urease activity of raw and heat-treated fullfat soybean. *Archives of Animal Nutrition*, 1997, vol. 50, no 4, p. 361-367.

ERDAW, M. M.; PEREZ-MALDONADO, R. A.; IJI, P. A. Physiological and health-related response of broiler chickens fed diets containing raw, full-fat soya bean meal supplemented with microbial protease. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 2018, vol. 102, no 2, p. 533-544.

FIRKINS, J. L.; YU, Z.; MORRISON, M. Ruminant nitrogen metabolism: perspectives for integration of microbiology and nutrition for dairy. *Journal of Dairy Science*, 2007, vol. 90, p. E1-E16.

FOX, Diego José. *Industrias aceiteras procesadoras del grano de soja en la República Argentina*. 2011.

FRANCE, J.; SIDDONS, R. C. Determination of digesta flow by continuous market infusion. *Journal of Theoretical Biology*, 1986, vol. 121, no 1, p. 105-119.

GOULD, L.; KENDALL, Nigel R. Role of the rumen in copper and thiomolybdate absorption. *Nutrition Research Reviews*, 2011, vol. 24, no 2, p. 176-182.

GUTIÉRREZ, Ricardo Basurto; DE HERNÁNDEZ, Irma Tejada. Digestibilidad aparente de la pulpa deshidratada de limón comparación de métodos para estimarla. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 1992, vol. 30, no 1, p. 13-22.

HAN, Jianchun; LIU, Keshun. Changes in composition and amino acid profile during dry grind ethanol processing from corn and estimation of yeast contribution toward DDGS proteins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2010, vol. 58, no 6, p. 3430-3437.

HALMEMIES-BEAUCHET-FILLEAU, A., et al. Alternative and novel feeds for ruminants: nutritive value, product quality and environmental aspects. *Animal*, 2018, vol. 12, no s2, p. s295-s309.

HENTZ, F., et al. Intake and digestion by wethers fed a tropical grass-based diet supplemented with increasing levels of canola meal. *Livestock science*, 2012, vol. 147, no 1-3, p. 89-95.

INRA. *Alimentation des bovins, ovins et caprins*. Paris: INRA IPCC/OECD/IEA (1996)

Revised guidelines for national greenhouse gas inventories, Vol. 3 Reference Manual, 1988.

IOMMELLI, Piera, et al. Effect of cereals and legumes processing on in situ rumen protein degradability: A review. *Fermentation*, 2022, vol. 8, no 8, p. 363.

ISENBERG, B. J., et al. Effect of temperature during drying and mechanical extrusion on soybean meal protein in situ degradability and in vitro digestibility. *J. Dairy Sci*, 2012, vol. 95, no Suppl 2, p. 216.

JUNGES, D., et al. Influence of various proteolytic sources during fermentation of reconstituted corn grain silages. *Journal of Dairy Science*, 2017, vol. 100, no 11, p. 9048-9051.

JUAN, N. A., et al. Calidad de la soja procesada y del expeller producido por la industria de extrusado-prensado en Argentina. Ediciones INTA, 2015, vol. 31.

KLEINSCHMIT, D. H., et al. Ruminant and intestinal degradability of distillers grains plus solubles varies by source. *Journal of dairy science*, 2007, vol. 90, no 6, p. 2909-2918.

KIM, Youngmi, et al. Composition of corn dry-grind ethanol by-products: DDGS, wet cake, and thin stillage. *Bioresource technology*, 2008, vol. 99, no 12, p. 5165-5176.

KOZLOSKI, G. V., et al. Evaluation of markers for estimating duodenal digesta flow and ruminal digestibility: Acid detergent fiber, sulfuric acid detergent lignin, and n-alkanes. *Journal of Dairy Science*, 2014, vol. 97, no 3, p. 1730-1735.

KOZLOSKI, Gilberto Vilmar. *Bioquímica dos ruminantes*. 2011.

KWIATKOWSKI, Jason R., et al. Modeling the process and costs of fuel ethanol production by the corn dry-grind process. *Industrial crops and products*, 2006, vol. 23, no 3, p. 288-296.

LAPIERRE, H.; LOBLEY, G. E. Nitrogen recycling in the ruminant: A review. *Journal of Dairy Science*, 2001, vol. 84, p. E223-E236.

LATIMORI, Néstor J., et al. Uso de expeller de soja como sustituto de la harina de soja en

dietas de engorde de bovinos a corral. Información para Extensión, 2013, no 143.

LJØKJEL, Kari; HARSTAD, Odd Magne; SKREDE, Anders. Effect of heat treatment of soybean meal and fish meal on amino acid digestibility in mink and dairy cows. *Animal feed science and technology*, 2000, vol. 84, no 1-2, p. 83-95

LEE, Heuisuck; GARLICH, J. D. Effect of overcooked soybean meal on chicken performance and amino acid availability. *Poultry Science*, 1992, vol. 71, no 3, p. 499-508.

LEE, W. J.; SOSULSKI, F. W.; SOKHANSANJ, S. Yield and composition of soluble and insoluble fractions from corn and wheat stillages. *Cereal Chem*, 1991, vol. 68, no 5, p. 559-562.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, v. 57, p. 347-358, 1996

LIU, KeShun. Chemical composition of distillers grains, a review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2011, vol. 59, no 5, p. 1508-1526.

MACEDO JUNIOR, G.L.; PÉREZ, J.R.O.; ALMEIDA, T.R.V.; FRANÇA, P. M.; PAULA, O. J.; ASSIS, R. M. Influência de diferentes níveis de FDN dietético no consumo e digestibilidade aparente de ovelhas Santa Inês. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 30, n.3, p. 547-553, 2006.

MCDONALD, P., et al. *Animal Nutrition 7th edition* England UK. Harlow, England: Pearson Education Limited, 2011.

MERTENS, D. R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação de alimentos e formulação de rações. *Simpósio Internacional de Ruminantes*, 1992, vol. 29, p. 188-219.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: a collaborative study. *J. AOAC*, v. 85, p. 1217- 1240. 2002.

MERTENS, D. R., et al. Rate and extent of digestion. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism, 1993, vol. 2, p. 13-47.

MONCEAUX, D. A.; KUEHNER, D. Dryhouse technologies and DDGS production. En The alcohol textbook. Nottingham: Nottingham University Press, 2009. p. 303-322.

MORALES, Bárbara Miranda; CÓRDOBA, Manuel Molina. Evaluación De Factores Que Pueden Influir En El Proceso De Sacarificación-Fermentación Simultáneas Para La Producción De Etanol a Partir De Materiales Amiláceos. Ingeniería, 2015, vol. 25, no 1, p. 47-61.

MOTTET, Anne, et al. Livestock: On our plates or eating at our table? A new analysis of the feed/food debate. Global Food Security, 2017, vol. 14, p. 1-8.

MUSTAFA, A. F., et al. Effects of stage of processing of canola seed on chemical composition and in vitro protein degradability of canola meal and intermediate products. Canadian journal of animal science, 2000, vol. 80, no 1, p. 211-214.

NAGARAJA, T. G.; TITGEMEYER, E. C. Ruminant acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. Journal of dairy science, 2007, vol. 90, p. E17-E38.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, et al. Ruminant nitrogen usage. National Academies Press, 1985.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, et al. Nutrient requirements of dairy cattle. Natl. Acad. Sci, Washington, DC, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (US). COMMITTEE ON NUTRIENT REQUIREMENTS OF SMALL RUMINANTS, et al. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids. 2007.

NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE, et al. Nutrient requirements of beef cattle. 2016.

N D, Fastinger; LATSHAW, J. D.; MAHAN, D. C. Amino acid availability and true metabolizable energy content of corn distillers dried grains with solubles in adult cecectomized roosters. Poultry science, 2006, vol. 85, no 7, p. 1212-1216.

NELSON, A. I., et al. Dry extrusion as an aid to mechanical expelling of oil from soybeans. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1987, vol. 64, no 9, p. 1341-1347.

NICHOLS, Cody A., et al. Meta-analysis of the effect of dietary sulfur on feedlot health. 2012.

NUEZ ORTÍN, Waldo G.; YU, Peiqiang. Nutrient variation and availability of wheat DDGS, corn DDGS and blend DDGS from bioethanol plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2009, vol. 89, no 10, p. 1754-1761.

NUGENT, Jo HA; MANGAN, Jo L. Characteristics of the rumen proteolysis of fraction I (18S) leaf protein from lucerne (*Medicago sativa* L). *British Journal of Nutrition*, 1981, vol. 46, no 1, p. 39-58.

NYACHOTI, Charles M., et al. Energy and nutrient digestibilities in wheat dried distillers' grains with solubles fed to growing pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2005, vol. 85, no 15, p. 2581-2586.

ØRSKOV, EGIL-ROBERT; MCDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 1979, vol. 92, no 2, p. 499-503.

OLIVEIRA, André Soares de, et al. Meta-analysis of the impact of neutral detergent fiber on intake, digestibility and performance of lactating dairy cows. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2011, vol. 40, p. 1587-1595.

ORIAS, F., et al. The effects of dry extrusion temperature of whole soybeans on digestion of protein and amino acids by steers. *Journal of animal science*, 2002, vol. 80, no 9, p. 2493-2501.

PALMER, D. W.; PETERS JR, T. Automated determination of free amino groups in serum and plasma using 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonate. *Clinical Chemistry*, 1969, vol. 15, no 9, p. 891-901.

PARKER, D. S., et al. Metabolic implications of ammonia production in the ruminant.

Proceedings of the Nutrition Society, 1995, vol. 54, no 2, p. 549-563.

PATINO, Danny Bernardo. Physicochemical Characterization of Extruded Fish Feeds Having Soybean Meals of Varying Fatty Acid Profiles and Its Utilization on Growth Performance and Body Composition of Domesticated Juvenile Striped Bass (*Morone Saxatilis*). North Carolina State University, 2022.

PATINO, D.; Joseph, M. Ideal Extruder Temperature to Produce Best Full Fat Soybean Meal. Feed and Additive Magazine, International Magazine for Animal Feed & Additives Industry. 2022, pp. 70–73. Available online: <https://www.feedandadditive.com/ideal-extruder-temperature-to-produce-best-full-fat-soybean-meal/>

PLEGGE, S. D.; BERGER, L. L.; FAHEY JR, G. C. Effect of roasting temperature on the proportion of soybean meal nitrogen escaping degradation in the rumen. Journal of Animal Science, 1985, vol. 61, no 5, p. 1211-1218.

PORDOMINGO, A. J., et al. DIETAS CON EXPPELLER O HARINA DE SOJA EN EL ENGORDE A CORRAL DE BOVINOS PARA CARNE. REVISTA ARGENTINA DE PRODUCCIÓN ANIMAL, 2020, vol. 40, no 1, p. 15-21.

DUQUE-QUINTERO, Mónica; ROSERO-NOGUERA, Ricardo; OLIVERA-ÁNGEL, Marta. Digestión de materia seca, proteína cruda y aminoácidos de la dieta de vacas lecheras. Agronomía Mesoamericana, 2017, vol. 28, no 2, p. 341-356..

RAUSCH, Kent D., et al. Particle size distributions of ground corn and DDGS from dry grind processing. Transactions of the ASAE, 2005, vol. 48, no 1, p. 273-277.

ROSA, Anthony H.; HARRISON, J. Stewart (ed.). Las levaduras: tecnología de levaduras . Elsevier, 2012.

RUSSELL, James B., et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. Journal of animal science, 1992, vol. 70, no 11, p. 3551-3561.

RUIZ, N., et al. A review: 100 years of soybean meal. ADM, 2020.

SATTER, L. D.; SLYTER, L. L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British journal of nutrition*, 1974, vol. 32, no 2, p. 199-208.

SENGER, C. C. D. et al. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, v. 146, p. 169-174. 2008.

SPONCHIADO, Adilson, et al. Performance, ingestive behavior and carcass traits of lambs fed rations containing soybean cake. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 2019, vol. 41.

SONG, Y. S., et al. Fermentation of soybean meal and its inclusion in diets for newly weaned pigs reduced diarrhea and measures of immunoreactivity in the plasma. *Animal feed science and technology*, 2010, vol. 159, no 1-2, p. 41-49.

SCHINGOETHE, D. J., et al. Invited review: The use of distillers products in dairy cattle diets. *Journal of Dairy Science*, 2009, vol. 92, no 12, p. 5802-5813.

SCHINGOETHE, David J., et al. Utilization of DDGS by cattle. *En Proc. 27th Western Nutrition Conference*, Winnipeg, Manitoba, Canada, September. 2006. p. 19-20.

SILVEIRA, Sylvia Rocha, et al. Replacement of soybean meal with soybean cake reduces methane emissions in dairy cows and an assessment of a face-mask technique for methane measurement. *Frontiers in Veterinary Science*, 2019, vol. 6, p. 295.

SNIFFEN, CHARLES J., et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of animal science*, 1992, vol. 70, no 11, p. 3562-3577

SPIEHS, M. J.; WHITNEY, M. H.; SHURSON, G. C. Nutrient database for distiller's dried grains with solubles produced from new ethanol plants in Minnesota and South Dakota. *Journal of animal science*, 2002, vol. 80, no 10, p. 2639-2645.

STERN, M. O.; SANTOS, K. A.; SATTER, L. D. Protein degradation in rumen and amino acid absorption in small intestine of lactating dairy cattle fed heat-treated whole soybeans. *Journal*

of Dairy Science, 1985, vol. 68, no 1, p. 45-56.

STORM, E.; ØRSKOV, E. R. The nutritive value of rumen micro-organisms in ruminants: 1. Large-scale isolation and chemical composition of rumen micro-organisms. *British Journal of Nutrition*, 1983, vol. 50, no 2, p. 463-470.

TAKÁCS, Krisztina, et al. The effect of radiofrequency heat treatment on trypsin inhibitor activity and in vitro digestibility of soybean varieties (*Glycine max.*(L.) Merr.). *Journal of Food Science and Technology*, 2022, vol. 59, no 11, p. 4436-4445.

TAMMINGA, S. Protein degradation in the forestomachs of ruminants. *Journal of animal science*, 1979, vol. 49, no 6, p. 1615-1630.

TAMMINGA, S. A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. *Journal of Animal Science*, 1996, vol. 74, no 12, p. 3112-3124.

TOOMER, Ondulla T., et al. Current Agronomic Practices, Harvest & Post-Harvest Processing of Soybeans (*Glycine max*)—A Review. *Agronomy*, 2023, vol. 13, no 2, p. 427.

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*, 1991, vol. 74, no 10, p. 3583-3597.

VENTUREIRA, Jorge Luis. Propiedades estructurales y funcionales de preparados proteicos de amaranto modificados y soja-amaranto. 2010. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata.

VIRTANEN, Artturi I. Milk Production of Cows on Protein-Free Feed: Studies of the use of urea and ammonium salts as the sole nitrogen source open new important perspectives. *Science*, 1966, vol. 153, no 3744, p. 1603-1614.

WALLACE, R. J.; ONODERA, R.; COTTA, M. A. Metabolism of nitrogen-containing compounds. *The rumen microbial ecosystem*, 1997, p. 283-328.

WANG, Michael; WU, May; HUO, Hong. Life-cycle energy and greenhouse gas emission impacts of different corn ethanol plant types. *Environmental Research Letters*, 2007, vol. 2, no 2, p. 024001.

WEATHERBURN, M. W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical chemistry*, 1967, vol. 39, no 8, p. 971-974.

WIDYARATNE, G. P.; ZIJLSTRA, R. T. Nutritional value of wheat and corn distiller's dried grain with solubles: Digestibility and digestible contents of energy, amino acids and phosphorus, nutrient excretion and growth performance of grower-finisher pigs. *Canadian journal of animal science*, 2007, vol. 87, no 1, p. 103-114.