

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LARISSA WÜNSCHE RISOLIA



**EFEITO DA ADIÇÃO DAS ENZIMAS XILANASE E PROTEASE EM DIETAS
CONTENDO GRÃOS SECOS DE DESTILARIA CONTENDO SOLÚVEIS (DDGS) PARA
CÃES**

CURITIBA

2017

LARISSA WÜNSCHE RISOLIA

**EFEITO DA ADIÇÃO DAS ENZIMAS XILANASE E PROTEASE EM DIETAS
CONTENDO GRÃOS SECOS DE DESTILARIA CONTENDO SOLÚVEIS (DDGS) PARA
CÃES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, ofertado no Setor de Ciências Agrárias na Universidade Federal do Paraná, como um dos requisitos à obtenção de Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dra. Simone Gisele Oliveira

CURITIBA

2017

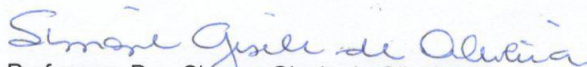
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada “EFEITO DA ADIÇÃO DAS ENZIMAS XILANASE E PROTEASE EM DIETAS CONTENDO GRÃOS SECOS DE DESTILARIA CONTENDO SOLÚVEIS (DDGS) PARA CÃES” apresentada pela Mestranda **LARISSA WÜNSCHE RISOLIA** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou a candidata apta para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 22 de março de 2017


Professora Dra. Simone Gisele de Oliveira
Presidente/Orientadora


Professora Dra. Ananda Portella Félix
Membro


Dr. José Sidney Flemming
Membro

***“Put your heart, mind, and soul into even your smallest acts.
This is the secret of success.”***

Swami Sivananda

Dedico:

*À minha família: Marcos, Simone, Camila, Danielle,
Isabelle e Lola, por tornarem mais este sonho
possível.*

AGRADECIMENTOS

A Deus por abençoar os meus dias e iluminar meus passos.

A CAPES pelo financiamento da minha bolsa de estudos.

A VB rações e a AB vista pela fabricação das rações e pelo fornecimento das enzimas utilizadas no desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus pais, Marcos e Simone, por me sempre terem me incentivado a ir atrás dos meus sonhos e por terem me possibilitado a realizar mais um deles.

As minhas irmãs Cami, Dani e Isa, por toda a amizade e pela ajuda que me deram, seja colocando a mão na massa ou me dando força e apoio em momentos difíceis.

Ao meu namorado Lew, por ser meu porto seguro e me ajudar em todos os momentos em que eu preciso e pelo seu amor e carinho.

Aos meus cunhados, Guilhermes e Ysma e ao Lucas e ao Rafa, pelo companheirismo de toda semana e por todos os nossos momentos!

As minhas amigas da vida, por terem sempre me proporcionado momentos de descontração e risada.

Aos professores Ananda, Alex, Chayane e em especial à minha orientadora Simone por me instigarem a aprender cada vez mais sobre o mundo da nutrição dos animais.

A professora Simone, por ter aceitado participar desta caminhada com disposição para me auxiliar e por me proporcionar a realização deste sonho.

A professora Ananda, por estar sempre presente para ajudar não importando o tema, seja acadêmico ou da vida, e pela sua humildade e dom para lecionar.

A equipe de estagiários do LENUCAN: Barbara, Gislaine, Juliana, Keyla, Marley, Pâmela, Taís e Guilherme pelo auxílio no experimento e por serem tão queridos.

A equipe do LNA: Hair, Marcelo, Aldo, e Cleusinha por toda a ajuda nas análises laboratoriais e pelos momentos de descontração.

Aos amigos que o mestrado na UFPR me deu o prazer de conviver: Fabinha (pelo seu coração enorme e sua amizade), Dani (pelos conselhos de vida fitness e pelas risadas), Taby (pela disposição em me ajudar sempre!), Mari (por ser tão querida comigo desde o meu primeiro dia), Cami (pelos momentos de descontração que passamos) e pessoal do Lepnan. Com toda a certeza a nossa sintonia fez deste período maravilhoso! Foi ótimo ter vocês por perto!

Aos cães do Lenucan, pelo trabalho prestado à evolução da Ciência, pois mesmo sem saberem é graças a vocês que tudo é possível!

A Lolinha, pelo carinho e companheirismo demonstrado de tantas formas diferentes.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 055/2015, referente ao projeto “Efeito da xilanase e protease em dietas contendo resíduo seco de destilaria com solúveis (DDGS) para cães”, sob a responsabilidade de Simone Gisele de Oliveira – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau B de invasividade, em reunião de 08/07/2015

Vigência do projeto	Novembro a dezembro de 2015
Espécie/Linhagem	Cães da raça Beagle
Número de animais	15
Peso/Idade	13,4 kg/ 5 years
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	LENUCAN – UFPR

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 055/2015, regarding the project “Xylanase and protease effect on diets containing dry distillers grains with solubles (DDGS) for dogs”, under Simone Gisele de Oliveira supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree B of invasiveness, in session of 07/08/2015.

Duration of the project	November to December 2015
Specie/Line	Dogs
Number of animals	15
Wheight/Age	13,4 kg/ 5 years
Sex	Males and females
Origin	LENUCAN - UFPR

Curitiba, 08 de Julho de 2015.

Ananda Portella Félix
Presidente CEUA-SCA

Simone Tostes de Oliveira Stedile
Vice-Presidente CEUA-SCA

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	xiii
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS	14
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Uso de coprodutos na alimentação animal.....	15
2.2 Fibras alimentares e seus efeitos fisiológicos em monogástricos	16
2.3 Grão seco de destilaria contendo solúveis - DDGS	17
2.4 Composição nutricional do DDGS.....	18
2.5 Micotoxinas no DDGS: potencial fator limitante de uso.....	22
2.6 Utilização do DDGS na nutrição de animais monogástricos	23
2.7 Uso de DDGS associado a enzimas	26
2.7.1 Xilanase	27
2.7.2 Protease.....	28
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	29
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
CAPÍTULO II - USO DE XILANASE E PROTEASE EM DIETAS COM GRÃOS SECOS DE DESTILARIA CONTENDO SOLÚVEIS (DDGS) PARA CÃES.....	37
RESUMO.....	37
ABSTRACT.....	38
1. INTRODUÇÃO.....	39
2. MATERIAL E MÉTODOS	40
2.1 EXPERIMENTO I: ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS	40
2.1.1 Dietas experimentais.....	40
2.1.2 Características físicas do extrusado	42
2.1.3 Delineamento e análise estatística.....	47
2.2 EXPERIMENTO II: ENSAIO DE PALATABILIDADE.....	48
2.2.1 Dietas experimentais.....	48
2.2.2 Animais e alojamento.....	48

2.2.3	Procedimentos experimentais	48
2.2.4	Delineamento e análises estatísticas	48
3	RESULTADOS	49
3.1	Características das dietas	49
3.2	Digestibilidade e características fecais.....	49
3.3	Ensaio de Palatabilidade	51
4	DISCUSSÃO.....	52
4.1	Características das dietas	52
4.2	Coeficiente de digestibilidade aparente e características fecais	53
4.3	Ensaio de Palatabilidade	57
5	CONCLUSÕES.....	58
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
	Referências bibliográficas do trabalho.....	65

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Tabela 1 – Faixa de variação dos nutrientes de diferentes fontes de DDGS de milho..20

Tabela 2 – Limites máximos para micotoxinas em alimentos à base de milho23

CAPÍTULO II - USO DE XILANASE E PROTEASE EM DIETAS CONTENDO 20% DE DDGS PARA CÃES

Tabela 1 - Ingredientes das dietas experimentais41

Tabela 2 - Composição química analisada (% de matéria seca) do DDGS e das dietas experimentais42

Tabela 3 - Análise química das frações dos polissacarídeos não amiláceos (PNA) presentes no DDGS e nas dietas.45

Tabela 4 - Média dos valores de densidade, tamanho, índice de expansão dureza e uniformidade das dietas controle e contendo 20% de DDGS.....49

Tabela 5 - Efeito da adição das enzimas xilanase e protease em dietas contendo ou não DDGS sobre o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA), características fecais e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).50

Tabela 6 - Medianas do ácido siálico (mg) nitrogênio amoniacal (%), escore fecal e odor fecal.....51

Tabela 7 Correlação entre fibra insolúvel (FI), fibra solúvel (FS),fibra dietética total (FDT) e coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) e energia metabolizável (EM).51

Tabela 8 - Número de visitas ao comedouro da dieta A e razão de ingestão (RI± erro padrão) para cães52

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

- Figura 1 - Processamento do etanol de milho e seus coprodutos - moagem seca 18
- Figura 2 - Escala fotográfica de cores para classificar o dano por calor no DDGS 21

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA - Aminoácidos

AX - Arabinoxilano

AGCC - Ácidos graxos de cadeia curta

AGCR - Ácidos graxos de cadeia ramificada

CDA - Coeficiente de digestibilidade aparente

CE - Complexo enzimático

DDGS - Grãos secos de destilaria contendo solúveis

EB - Energia bruta

EM - Energia metabolizável

EE - Extrato etéreo

EEA - Extrato etéreo em hidrólise ácida

FB - Fibra bruta

FDA - Fibra em detergente ácido

FDN - Fibra em detergente neutro

GP - Ganho de peso

IA - Ingestão alimentar

MM - Matéria mineral

MO - Matéria orgânica

MS - Matéria seca

MSf - Matéria seca fecal

NEM - Necessidade de energia metabolizável

NFDA - Nitrogênio aderido à fibra em detergente ácido

NFDN - Nitrogênio aderido à fibra em detergente neutro

PB - Proteína bruta

PNA - Polissacarídeos não amiláceos

RI - Razão de ingestão

TGI - Trato gastrointestinal

0% SE - Tratamento sem DDGS e sem enzimas

0% XP - Tratamento sem DDGS com xilanase e protease

20% SE - Tratamento com 20% de DDGS sem enzimas

20% X - Tratamento com 20% de DDGS e xilanase

20% P - Tratamento com 20% de DDGS e protease

20% XP - Tratamento com 20% de DDGS e xilanase e protease

EFEITO DA ADIÇÃO DAS ENZIMAS XILANASE E PROTEASE EM DIETAS COM GRÃOS SECOS DE DESTILARIA CONTENDO SOLÚVEIS (DDGS) PARA CÃES

RESUMO

O DDGS possui alto valor nutritivo e seu uso associado a enzimas exógenas pode melhorar seu valor biológico. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da adição das enzimas xilanase e protease em uma dieta para cães contendo 20% de DDGS por meio de dois experimentos. No primeiro, foram utilizados 6 cães da raça Beagle em um delineamento quadrado latino (6 x 6) para a avaliação das características do extrusado, digestibilidade, e características fecais. As dietas avaliadas foram: dieta 0% DDGS com (0%XP) e sem xilanase e protease (0%SE); com 20% de DDGS sem nenhuma enzima (20%SE); com xilanase (20%X); protease (20%P) e com as enzimas associadas (20%XP). Para avaliar a palatabilidade foram utilizados 16 cães da raça Beagle e os testes foram feitos comparando-se as dietas 0% vs 20% de DDGS sem enzimas e 0% vs 20% de DDGS com xilanase e protease. Não houve efeito das enzimas sobre o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) dos seguintes parâmetros: matéria seca (MS), extrato etéreo hidrólise ácida (EEA), proteína bruta (PB), energia bruta (EB), matéria orgânica (MO) e energia metabolizável (EM). Contudo, a adição do DDGS, independentemente das enzimas, reduziu o CDA da MS, EEA, EB e MO ($P < 0,05$). A EM e o CDAPB apresentaram tendência de redução ($P < 0,1$). Além disso, a adição do ingrediente reduziu o pH fecal e piorou o odor fecal ($P < 0,05$). A produção total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) aumentou com a adição do DDGS (com diferença para os ácidos acético e propiônico) ($P < 0,05$). A adição das enzimas não alterou ($P < 0,05$) a produção de ácido siálico ou as características fecais (matéria seca, pH, nitrogênio amoniacal, escore e odor). Não houve diferença ($P > 0,05$) na palatabilidade ao se comparar as dietas com e sem DDGS sem enzimas. Ao adicionar as enzimas, os animais preferiram a dieta sem a inclusão de DDGS ($P < 0,05$). A adição das enzimas xilanase e protease nas concentrações deste experimento, em dietas contendo 20% de DDGS para cães, não altera a digestibilidade dos nutrientes ou as características fecais. A adição do DDGS proporciona redução na digestibilidade dos nutrientes da dieta sem alterar as características do extrusado. A palatabilidade do alimento é reduzida com a adição das enzimas na dieta.

Palavras chave: Coproduto, digestibilidade, enzima, etanol, milho, palatabilidade

EFFECT OF ADDING ENZYMES XILANASE AND PROTEASE IN DIETS CONTAINING DISTILLERS DRIED GRAINS WITH SOLUBLES (DDGS) FOR DOGS

ABSTRACT

DDGS has high nutritional value and its use associated with exogenous enzymes can improve its biological value. The objective of this work was to evaluate the effects of the addition the enzymes xylanase and protease in a dog diet containing 20% of DDGS by two experiments. In the first one, 6 Beagle dogs were used in a Latin square design (6 x 6) for an evaluation of extruded characteristics, digestibility, and fecal characteristics. The diets evaluated were: with 0% DDGS with (0%XP) and without xylanase and protease (0%SE); with 20% of DDGS without enzyme (20%SE); with xylanase (20%X); protease (20%P) and associated enzymes (20%XP). To evaluate the palatability, 16 Beagle dogs were used and the tests were done comparing the diets 0% vs 20% of DDGS without enzymes and 0% vs 20% of DDGS with xylanase and protease. There was no effect of the enzymes on the apparent digestibility coefficient (CDA) of the following parameters: dry matter (MS), ethereal acid hydrolysis (EEA), crude protein (PB), crude energy (EB), organic matter metabolizable energy (EM). However, the addition of DDGS, independently of enzymes, reduced CDA from MS, EEA, EB and MO ($P < 0,05$). The MS and CDAPB showed a reduction tendency ($P < 0,1$). The addition of the ingredient reduced faecal pH and worsened faecal odor ($P < 0,05$). The total production of short chain fatty acids (AGCC) increased with the addition of DDGS (with difference for acetic and propionic acids) ($P < 0,05$). The addition of the enzymes did not alter the production of sialic acid or fecal characteristics (dry matter, pH, ammoniacal nitrogen, score and odor) ($P < 0,05$). There was no difference ($P > 0,05$) in palatability when comparing the diets with and without DDGS without enzymes. By adding the enzymes, the animals preferred the diet without inclusion of DDGS ($P < 0,05$). The addition of xylanase and protease enzymes at concentrations of this experiment in diets containing 20% DDGS for dogs does not alter nutrient digestibility or fecal characteristics. The addition of DDGS provides a reduction in the digestibility of the nutrients of the diet without altering the characteristics of the extrudate. The palatability of the food is reduced with the addition of the enzymes in the diet.

Key words: Co-product, digestibility, enzyme, ethanol, corn, palatability

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

A alta competitividade no setor de alimentos para animais impulsiona a busca por ingredientes alternativos que melhorem ou mantenham a qualidade do alimento final, reduzindo assim o seu custo de produção. Os coprodutos industriais vêm sendo cada vez mais estudados com este propósito e um destes é o grão seco de destilaria contendo solúveis (DDGS). O DDGS é proveniente da fermentação alcoólica para a produção do biocombustível etanol e pode ser produzido por diversas fontes, dependendo da disponibilidade de matéria prima da região. Nos Estados Unidos é produzido de milho e sorgo, no Canadá e por milho e trigo e no Brasil por cana de açúcar e milho (Balat e Balat, 2009, Silva et al., 2016a).

No Brasil a cana-de-açúcar é a matéria prima principal, porém nos meses entre dezembro e março ocorre sua entressafra e neste período o milho é seu substituto na produção de etanol em determinadas regiões (Silva et al., 2016a). Isso ocorre principalmente no Mato Grosso onde existem três usinas mistas, que estão aptas a operar tanto com a cana-de-açúcar como com milho. Nesta região a alta produção de milho associada à sua dificuldade de escoamento por problemas logísticos torna esta alternativa altamente viável.

Uma das formas de se produzir etanol a partir do milho é a moagem seca e o DDGS é resultado deste tipo de processamento (Paiva et al., 2010). A moagem seca é a mais utilizada (70% do total de produção), pois necessita de menor investimento e produz mais álcool em comparação à moagem úmida (Silva et al., 2016a). Assim, no período de entressafra da cana, o DDGS torna-se bastante disponível nas regiões onde o milho é matéria prima para produção de etanol no Brasil.

O DDGS possui bom valor nutritivo e apresenta alta concentração de proteínas, lipídios e fibras (Robinson et al., 2008; Pedersen et al., 2014), entretanto o seu alto conteúdo de polissacarídeos não amiláceos (PNA) pode limitar o uso para animais monogástricos. Este teor elevado de PNA promove a redução da digestibilidade dos nutrientes.

Além da presença dos PNA, existem outros fatores que contribuem com a redução da digestibilidade do DDGS, sendo eles a presença de nitrogênio aderido à fibra (que torna parte da proteína indigestível para animais monogástricos), redução da

biodisponibilidade proteica causada pela presença de PB na parede celular da porção insolúvel das fibras e a reação de Maillard gerada no processamento do ingrediente (Probert et al., 1995; Stein et al., 2006; Barletta et al., 2011; Vasconcelos, 2014). Desta forma, é interessante associar o uso do DDGS com enzimas exógenas, em especial aquelas que possam atuar na porção fibrosa e proteica do ingrediente, melhorando a digestibilidade de determinados componentes da dieta.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da adição das enzimas xilanase e protease sobre características do extrusado, digestibilidade, características fecais e palatabilidade em uma dieta para cães contendo 20% de DDGS por meio de dois experimentos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Uso de coprodutos na alimentação animal

A utilização de coprodutos agroindustriais na alimentação animal é de grande importância no contexto de busca por ingredientes não convencionais. Esta é uma opção econômica, que reduz o impacto ambiental e que auxilia na produção de alimentos de qualidade. Contudo, para a sua utilização, é importante que haja o conhecimento sobre a composição bromatológica, fatores limitantes, custo, disponibilidade durante o ano, viabilidade econômica do uso e segurança alimentar e ambiental (Meneghetti e Domingues, 2008).

Os coprodutos industriais que são desperdiçados causam problemas ambientais, além de representarem perda de matéria prima e energia (Timofiecsyk et al., 2000). Vários estudos vêm sendo conduzidos com diferentes coprodutos para que suas qualidades sejam determinadas e sua aptidão na formulação de alimento animal comprovada (Litz et al., 2015). Uma avaliação indispensável para definir a viabilidade de um ingrediente é a determinação do seu valor nutricional. Por meio desta avaliação é possível realizar a correta formulação de rações, e uma das formas de fazer esta determinação é por meio da digestibilidade do alimento. Esta análise estima o aproveitamento dos nutrientes pelo animal e possibilita melhor associação entre ingredientes (Moretini et al., 2015).

Apesar da importância de determinar corretamente a composição química dos coprodutos, em alguns casos é possível estimar o perfil dos nutrientes. Os coprodutos industriais derivados do processamento de plantas, por exemplo, são ricos em fibras e

podem agregar os benefícios provenientes deste nutriente ao alimento (Elleuch et al., 2011).

2.2 Fibras alimentares e seus efeitos fisiológicos em monogástricos

As fibras, também conhecidas como polissacarídeos não amiláceos (PNA), abrangem diversas formas de carboidratos das plantas e sua definição exata ainda é discutida. Algumas ligações entre os monossacarídeos que compõem as fibras são do tipo beta e não podem ser quebradas pelas enzimas endógenas do trato gastro intestinal (TGI) dos animais (Case et al., 2000). Os PNA podem ser classificados em relação à sua solubilidade em água e fermentabilidade no intestino grosso.

Em relação à solubilidade na água, as fibras podem ser classificadas como solúveis ou insolúveis, sendo que cada uma possui efeitos fisiológicos distintos no TGI. As fibras insolúveis (FI) possuem efeitos mecânicos, aumentam o bolo fecal e aceleram o peristaltismo por conta de sua ação agressiva na mucosa (NRC, 2009; Perry e Ying, 2016). Já as fibras solúveis (FS) se associam com a água e formam um gel e, por conta disso, retardam o esvaziamento gástrico e o tempo de trânsito intestinal, além de reduzir o ritmo de absorção de glicose e o colesterol (Perry e Ying, 2016; El Khoury et al., 2011).

As fibras também podem ser classificadas em relação à sua fermentabilidade pela microbiota do intestino grosso podendo ser alta, moderada ou baixa. Normalmente as FS são alta ou moderadamente fermentáveis enquanto que as FI possuem baixa fermentabilidade (Case et al., 2000).

Como consequência da fermentação colonócica dos PNA, ocorre a produção dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (Case et al., 2000). Os AGCC produzidos em maior escala são o acético, propiônico e o butírico. Destes, os dois primeiros são absorvidos pela circulação e fornecem energia aos tecidos periféricos e o último é a principal fonte de energia dos colonócitos (Roediger et al., 1982). Os principais efeitos dos AGCC são contribuir com o fornecimento de energia para os colonócitos, estimular a proliferação e diferenciação celular, melhorar o fluxo sanguíneo intestinal, aumentar a motilidade ileal e reduzir o pH intestinal, promovendo o crescimento de bactérias benéficas e inibindo o desenvolvimento de potenciais patógenos (Scheppach, 1994; Topping e Clifton, 2001).

Diversos são os efeitos positivos na saúde de maneira geral ocasionados pela inclusão de fibras na dieta como a redução da incidência de neoplasias (Kunzmann et al., 2015), manejo adequado da obesidade (Howarth et al., 2001), de constipação e diarreias (Bauer e Maskell, 1996) e da diabetes (Chandalia et al., 2000). Porém, nem todos os efeitos são positivos, a inclusão de fibras na dieta pode ocasionar redução na digestibilidade do alimento por meio de dois mecanismos, dependendo da solubilidade da fibra. As FI aumentam a taxa de passagem do alimento e reduzem por consequência o tempo de interação com as enzimas digestivas (FI) (Probert et al., 1995) e as FS dificultam a absorção dos nutrientes pelo encapsulamento dos mesmos (Vasconcelos, 2014). Uma forma de melhorar a digestibilidade do alimento rico em fibras é o uso concomitante desse ingrediente com enzimas exógenas. De acordo com Choct (2006) o uso de enzimas pode aumentar a energia metabolizável em alimentos para monogástricos.

Um exemplo de coproduto industrial rico em fibras que já vem sendo utilizado na alimentação animal é o DDGS. Este ingrediente é atrativo para a indústria, pois possui baixo custo de aquisição e apresenta características nutricionais desejáveis (Świątkiewicz et al., 2013; Silva et al., 2016b).

2.3 Grão seco de destilaria contendo solúveis - DDGS

O DDGS é o coproduto da indústria do etanol originado a partir da fermentação do amido de cereais. Durante o processo fermentativo, o amido do grão é convertido em álcool etílico e CO₂, concentrando os nutrientes remanescentes no DDGS em 2 a 3 vezes (Widyaratne e Zijlstra, 2007). De acordo com a CONAB (2012) uma tonelada de milho resulta em média em 345/395 litros de etanol, 220/240 Kg de DDGS e 18/20 litros de óleo bruto degomado.

Segundo Chevanan et al. (2010) o DDGS é o produto obtido após a remoção de álcool etílico por destilação a partir da fermentação de levedura de um grão ou mistura de grãos por condensação. Para completar o processo, deve ocorrer uma secagem a menos de 75% de todo o conteúdo resultante por métodos usados na destilação industrial de grãos. O processo de produção do DDGS a partir do milho está exemplificado na figura 1.

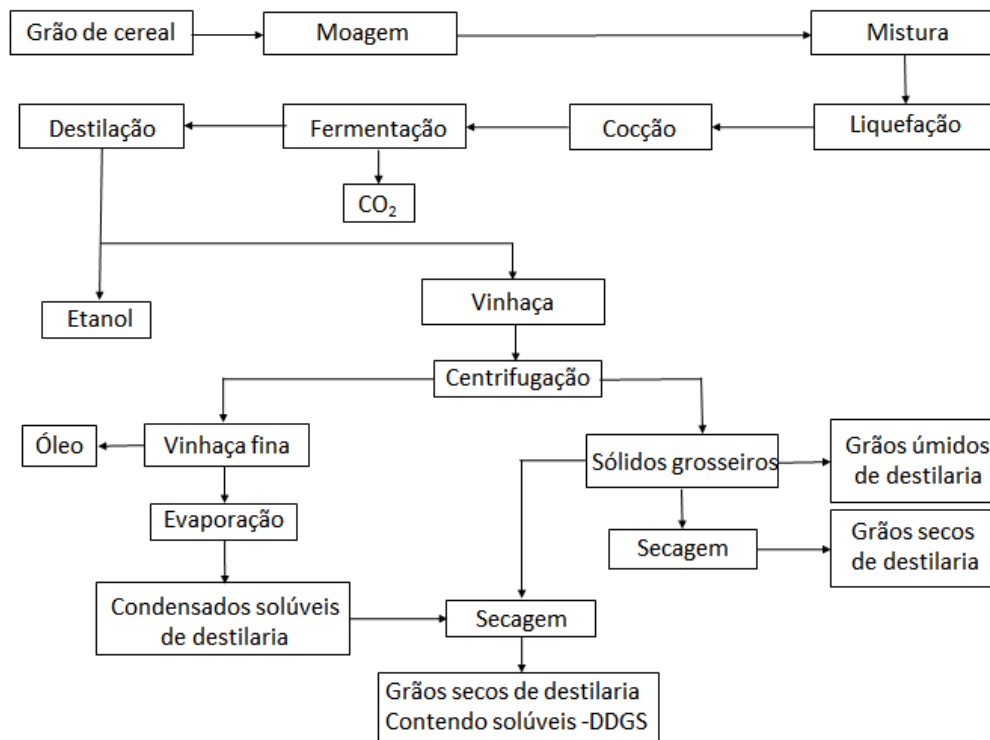


Figura 1 - Processamento do etanol de milho e seus coprodutos - moagem seca (Adaptado de Pedersen et al., 2015).

A disponibilidade do DDGS é variável de acordo com a oferta de etanol proveniente de cereais. Nos Estados Unidos sua oferta ocorre o ano todo e a matéria prima para a fermentação do biocombustível é o milho. Contudo, no Brasil, o DDGS só é ofertado nos meses de dezembro a março que correspondem à entressafra da cana de açúcar, a principal matéria prima do etanol brasileiro (Silva et al., 2016a).

O aumento da produção de etanol fez com que a disponibilidade do DDGS crescesse no mercado e devido à sua alta concentração de nutrientes. Com o processamento correto este produto pode ser utilizado com bons resultados na nutrição animal (Widyaratne e Zijlstra, 2007).

2.4 Composição nutricional do DDGS

O DDGS é um coproduto de bom valor nutritivo, pois apresenta alta concentração de PB, EE, FB, MM e vitaminas (Robinson et al., 2008; Pedersen et al., 2014). Isso ocorre pelo fato deste ingrediente ser resultado do grão sem grande parte sua porção de amido, uma vez que este nutriente foi substrato fermentativo, o que ocasiona maior concentração dos outros nutrientes. O DDGS de alta qualidade

apresenta energia digestível (ED) e metabolizável (EM) iguais, ou até mesmo maiores que as do milho (Spiehs et al., 2002). Por conta destas características e do seu baixo custo de aquisição, este ingrediente vem sendo empregado na indústria de alimentos para animais com sucesso. Porém, a composição química do DDGS apresenta grande variabilidade e as principais causas atribuídas a este fato são a qualidade da matéria prima, diferenças nos processos para a obtenção de etanol, as variações na proporção de mistura dos componentes na produção do DDGS, o tempo e temperatura de secagem (Shurson e Alghamdi, 2008) e proveniência geográfica da matéria prima (Spiehs et al., 2002).

Em um estudo realizado por Belyea et al. (2004) avaliou-se a correlação entre as composições do milho e do DDGS e os autores acreditam que o principal responsável pela composição final do DDGS seja o processamento. Em relação à composição química, os valores médios encontrados por Beleya et al. (2004) para PB, EE, amido para o milho foram respectivamente 9,1; 4,21 e 71,4. Para o DDGS estes valores foram respectivamente 31,3; 11,9 e 5,1. Avaliando-se estes valores, ao substituir o milho pelo DDGS nas dietas, o nutricionista obtém um produto com teor proteico e lipídico mais elevado, possivelmente de mesmo teor energético e de menor custo. Isso possibilita reduzir o custo de produção e atender níveis de digestibilidade específicos a determinados nichos do mercado pet.

Diversos estudos apontam para a variabilidade nutricional e na digestibilidade deste ingrediente (Spiehs et al., 2002; Tjardes e Wright, 2002; Waldroup et al., 2007; Stein e Shurson, 2009). A tabela 1 mostra a variação dos nutrientes de diferentes amostras de DDGS a partir de estudos realizados por Spiehs et al. (2002) e Salim et al. (2010), citados por Silva et al. (2016a). Esta variabilidade inerente ao ingrediente acaba dificultando sua inclusão em concentrações maiores na composição das dietas para animais.

Tabela 1 - Faixa de variação dos nutrientes de diferentes fontes de DDGS de milho

Nutrientes	Composição do DDGS (%)		
	Média	Faixa (mín-máx)	DPR
Proteína Bruta	30,9	28,7 - 32,9	4,7
Extrato Etéreo	10,7	8,8 - 12,4	16,4
Fibra Bruta	7,2	5,4 - 10,4	18
Fibra em detergente neutro	26,7	19,7 - 34,1	11,8
Fibra em detergente ácido	8,4	6,2 - 13,4	23,4
Cinzas	6	3,0 - 9,8	26,6
Aminoácidos:			
Lisina	0,9	0,61 - 1,6	11,4
Arginina	1,31	1,01 - 1,48	7,4
Metionina	0,65	0,54 - 0,76	8,4

DDGS: grãos secos de destilaria contendo solúveis; DPR: Desvio padrão relativo.

Fonte: Adaptado de Silva et al. (2016a).

Em estudo realizado por Whitney e Shurson (2001) avaliou-se diferentes fontes de DDGS e comparou-se com outros dados de composição química da literatura. Os autores relataram que os nutrientes que tiveram maior variação entre os diferentes tipos de DDGS foram EE, FB, MM, a lisina, o triptofano e o fósforo.

Em relação à gordura, atribui-se sua variação à quantidade de condensados solúveis adicionada ao DDGS durante o processamento (Noll et al., 2007). A matéria mineral é elevada no DDGS em relação ao milho, e isso ocorre devido à retirada de água e amido com conseqüente a concentração deste elemento. Sendo assim, o DDGS possui teor elevado de fósforo, cálcio, potássio, sódio e enxofre (Hanson et al., 2012).

A PB, apesar de estar presente em alta concentração no DDGS, apresenta grande variabilidade entre diferentes amostras. Além disso, a disponibilidade de aminoácidos (AA) também pode variar por causa processamento ao qual o ingrediente é submetido (Fastinger et al., 2006). Estudos demonstram que o aminoácido que sofre maior alteração, podendo chegar até 15% é a lisina, seguido da metionina e do triptofano (Spiehs et al., 2002; Cromwell et al., 1993; Batal e Dale, 2006). Segundo Stein et al. (2006), a digestibilidade dos aminoácidos presentes no DDGS pode ser afetada devido à reação de Maillard, que ocorre quando há aquecimento elevado durante o processamento.

Para a comercialização do DDGS utiliza-se uma escala de coloração, a qual abrange valores de 1 a 5, referentes respectivamente ao produto mais claro e mais escuro (figura 2). Sendo assim, torna-se fácil para os nutricionistas escolher um ingrediente de boa qualidade baseado nesta escala. Produtos de coloração amarela / dourada indicam produtos de melhor qualidade, enquanto que produtos de coloração marrom indicam menor digestibilidade (Batal e Dale, 2006; Fastinger et al., 2006). A avaliação da coloração do DDGS é um método rápido para identificar amostras com baixa digestibilidade de AA (Fastinger et al., 2006).

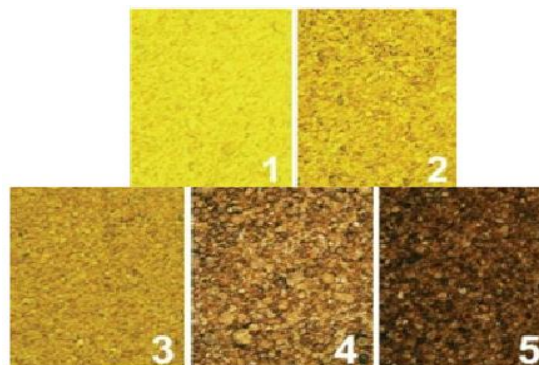


Figura 2 - Escala fotográfica de cores para classificar o dano por calor no DDGS (Adaptado de US Grain Council, 2012).

A digestibilidade das proteínas também pode ser alterada pela concentração de fibra, quanto maior a quantidade de fibra no DDGS menor é a sua digestibilidade proteica (Fastinger et al., 2006). O principal tipo de fibra encontrado neste ingrediente é a FI (Bach et al., 1997; Urriola et al., 2010), que faz a redução da digestibilidade por redução do tempo de contato do alimento com as enzimas digestivas.

Parte do nitrogênio do DDGS encontra-se ligado à fibra (Nuez Ortín e Yu, 2009; Chrenková et al., 2012; Silva et al., 2016b) o que dificulta parte da digestibilidade proteica do ingrediente. Chrenková et al. (2012) encontraram valores de nitrogênio aderido ao FDN (NFDN) e de nitrogênio aderido ao FDA (NFDA) para as amostras de DDGS de milho respectivamente de 24,11 e 16,79%, em relação à concentração de PB. Silva et al. (2016b) avaliaram o NFDN e NFDA de DDGS de milho em relação à matéria seca e chegaram à valores em relação à MS de 8,25 e 0,77, respectivamente. Por estes estudos, pode-se observar que no DDGS há grande diferença entre os níveis de FDN e FDA, indicando alta concentração de hemicelulose.

De acordo com a literatura, pode-se observar que este ingrediente possui boas características nutricionais e que o processamento correto possibilita melhorar sua

qualidade, tornando-o um bom candidato para a indústria de alimentos. Porém, ao se utilizar este ingrediente deve-se também levar em consideração a segurança alimentar. Com o processo fermentativo ocorre o aumento proporcional de todos os componentes do grão, inclusive das micotoxinas se estas estiverem presentes.

2.5 Micotoxinas no DDGS: potencial fator limitante de uso

As micotoxinas são produzidas por fungos de gêneros específicos, o *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*. Para que haja o desenvolvimento destas micotoxinas é necessário que as condições ambientais estejam favoráveis, como temperatura e umidade elevadas durante o crescimento da planta ou armazenagem do grão de milho (Scussel, 2002; Zhang e Caupert, 2012).

Vários fungos patógenos do gênero *Fusarium* (como por exemplo, *F. graminearum*, *F. culmorum* e *F. crookwellense*) produzem micotoxinas capazes de contaminar o milho destinado à produção de etanol e do DDGS resultante (Khatibi et al., 2014). São exemplos destas micotoxinas o desoxinivalenol (DON), 3-acetildesoxinivalenol (3-ADON), 15-acetildesoxinivalenol (15 ADON), nivalenol (NIV) e zearalenona (ZON) (Mirochaet al., 1989). O consumo das micotoxinas DON, 15 ADON, 3 ADON e NIV pode causar recusa do alimento, vômitos e até morte (Pestka, 2010). Dentre essas, a micotoxina NIV é a mais tóxica (Desjardins, 2006), seguida da DON (Pestka, 2010).

O DDGS contaminado com fumonisina pode contribuir para perdas de até 147 milhões de dólares por ano e estas perdas podem ser ainda maiores se houver contaminação concomitante por outras micotoxinas (Wu e Munkvold., 2008).

A legislação brasileira, mais precisamente do MAPA, preconiza limites máximos para a presença de micotoxinas no milho e em alimentos à base de milho, estes valores encontram-se na tabela 2.

Tabela 2 - Limites máximos para micotoxinas em alimentos à base de milho

Micotoxina	Produto	Limite (g/Kg)
Desoxivalenol (DON)	Trigo e milho em grãos para posterior processamento	3000
Fumonisinias (B1 + B2)	Milho em grão para posterior processamento	5000
Zearalenona	Milho em grão e trigo para posterior processamento	400

As micotoxinas não são eliminadas no processo de produção do etanol e nem durante o processo de secagem para a produção de DDGS (Khatibi et al, 2014). As concentrações de micotoxinas no DDGS podem ser de 3 à 3,5 vezes maiores do que aquelas encontradas no milho e não são um problema majoritário quando o milho é produzido em boas condições climáticas (Zhang e Caupert, 2012). Contudo, nas regiões tropicais e subtropicais brasileiras existem condições favoráveis para o desenvolvimento de fungos produtores de micotoxinas (Maziero e Bersot, 2010).

As micotoxinas encontradas no DDGS são tricotecenos, aflatoxina, fumonisina e zearalenona (Wu e Munkvold, 2008; Zhang e Caupert, 2012) sendo que as principais relatadas são a DON e FBs (Zhang et al., 2009; Khatibi et al., 2014).

Segundo Khatibi et al. (2014) o aumento do uso do DDGS em rações para animais, associado à preocupação referente às micotoxinas ressalta a importância do desenvolvimento de pesquisa para a detecção e eliminação de micotoxinas no DDGS. É importante a adoção de medidas capazes de reduzir o risco da contaminação nos grãos e no DDGS. Sendo exemplo destas medidas a secagem eficiente, manutenção do controle de umidade e temperatura durante a armazenagem e monitoramento de fungos e micotoxinas durante todo o processo (Silva et al., 2016a). Se estas medidas de precaução forem corretamente adotadas a inclusão do DDGS na nutrição animal é completamente segura e já é bastante utilizada pelos seus benefícios econômicos e nutricionais.

2.6 Utilização do DDGS na nutrição de animais monogástricos

O DDGS é amplamente utilizado na nutrição de ruminantes por causa da alta capacidade de fermentar fibras dos microrganismos presentes no rúmen destes

animais. Porém, estudos recentes demonstram que este ingrediente também pode ser utilizado na alimentação de monogástricos (Fastinger et al., 2006; Stein e Shurson 2009). É importante ressaltar que as diferenças nos resultados entre experimentos da literatura podem ser causadas pela variabilidade do ingrediente, resultante de diferentes processos, indicando diferentes realidades para a inclusão do DDGS.

Devido à composição do DDGS, sua utilização como fonte de energia, proteína, vitaminas solúveis em água e minerais, vários estudos vêm sendo desenvolvidos a fim de determinar os níveis e alternativas de inclusão do DDGS na alimentação de frangos de corte (Wang et al., 2007). Em estudo realizado por Cuevas et al. (2012) observou-se que a inclusão de até 7% de DDGS na ração de frangos de corte não prejudicava a produtividade das aves. Outro estudo sobre a inclusão em frangos de corte realizado por Loar et al. (2009) determinou que o uso de até 8% de DDGS na dieta não provocava alterações na produção ou no rendimento de carcaça dos animais. Em um trabalho realizado por Wu-Haan et al. (2010), a inclusão de 20% de DDGS na dieta de frangos não afetou o desempenho dos animais. Schilling et al. (2010) verificaram que com a inclusão de 12% de DDGS na dieta de frangos o desempenho não era prejudicado.

Em um estudo realizado por Pedersen et al. (2007) com suínos em crescimento os autores constataram que as energias digestível e metabolizável eram semelhantes às do milho. Além disso, os autores afirmam que a inclusão de fósforo inorgânico nas dietas poderia ser menor, uma vez que no DDGS há maior concentração de fósforo. Contudo, este efeito não foi observado por Silva et al. (2016b), onde foi observada uma redução nas energias digestível e metabolizável com a adição de DDGS em dietas para cães. Outro estudo, realizado por Linneen et al. (2008) com suínos em fase de terminação, concluiu-se que os animais podem receber até 15% de DDGS sem que haja comprometimento na taxa de crescimento. Para suínos em desmame também é possível incluir 15% de DDGS sem haver comprometimento no desempenho de crescimento (Avelar et al., 2010).

Existem poucos estudos relacionados à inclusão de DDGS na nutrição de animais de companhia. Porém este ingrediente aparenta ser desejável na nutrição destes animais, uma vez que possui elevado teor proteico (Silva et al., 2016b). A pesar de não ser muito comum, existem estudos demonstram a viabilidade desta possibilidade (Corbin et al., 1980; Allen et al., 1981; Silva et al., 2016b). No estudo realizado por Corbin et al. (1980) a utilização de baixos níveis de inclusão (0, 4, 6 e 8%)

deste ingrediente para cães adultos não alterou a digestibilidade aparente do amido e da matéria seca, bem como a matéria seca das fezes. No experimento realizado com altos níveis de inclusão (0, 8,9 e 15,7%) observou-se redução da digestibilidade da matéria seca somente na inclusão mais alta de DDGS. Neste nível (15,7%) também foi observado o aumento da matéria seca fecal.

Em outro estudo realizado por Allen et al. (1981) foram feitos quatro experimentos diferentes para avaliar o efeito da adição de DDGS na alimentação de cães. No primeiro experimento foi avaliado o efeito da baixa inclusão (0%, 4%, 6% e 8%) de DDGS e não foi encontrada nenhuma alteração na digestibilidade da matéria seca ou do amido e nas características fecais avaliadas (matéria seca e peso das fezes). No segundo experimento a inclusão de DDGS foi intermediária (0%, 8,9% e 15,7%) e a digestibilidade do amido não foi alterada. Entretanto, a digestibilidade da matéria seca foi reduzida com a maior adição do ingrediente. A matéria seca fecal foi maior com a inclusão de 15,7% de DDGS. Os autores afirmaram que níveis moderados de DDGS podem ser incorporados com sucesso na dieta de animais adultos e que apesar da tendência de redução na digestibilidade os valores não foram excessivamente baixos, mas sim aceitáveis. No terceiro experimento foi avaliada a alta inclusão de DDGS (0%, 13,1% e 26,1%) e não houve alteração na digestibilidade proteica, apesar de aparentemente haver uma tendência de redução nesta digestibilidade a partir do maior nível de inclusão. As digestibilidades da matéria seca e da energia foram reduzidas somente no maior nível de inclusão de DDGS. No quarto experimento foram avaliados os efeitos para filhotes e notou-se que a adição de DDGS reduziu a digestibilidade de todos os nutrientes avaliados.

Em outro estudo, foi avaliado o uso de DDGS em níveis crescentes de inclusão (6%, 12% e 18%) em dietas para cães, com e sem a adição da enzima xilanase. A inclusão de DDGS teve relação inversa com a digestibilidade da MS, MO, EEA, EB, EM e PB. Com a adição da enzima a digestibilidade da PB foi mantida semelhante à da dieta sem a adição do ingrediente. A partir de 12% de inclusão do DDGS já foi possível observar melhora da digestibilidade das dietas que receberam xilanase em relação às que não receberam a suplementação enzimática. Em relação às fezes, não houve alteração de escore, porém o pH foi reduzido de forma inversa à inclusão do ingrediente. Os animais apresentaram boa aceitabilidade da dieta contendo o DDGS, sendo que a dieta com 18% de inclusão foi a mais consumida pelos cães (Silva et al., 2016b).

Estes estudos comprovam que o ingrediente pode ser utilizado com sucesso para a alimentação de animais monogástricos. Devido à sua composição nutricional com grande variabilidade e com o intuito de melhorar a digestibilidade total da dieta contendo DDGS, este ingrediente vem também sendo associado a enzimas exógenas com excelentes resultados.

2.7 Uso de DDGS associado a enzimas

Existem diversos trabalhos que associam o uso do DDGS com enzimas exógenas. Para Bedford (2000), o uso de enzimas pode aumentar o valor nutricional de matérias primas e reduzir a variação na qualidade nutritiva de ingredientes. É importante ressaltar que a eficácia da suplementação com enzimas exógenas está relacionada com diversos fatores, tais como a presença do substrato específico na dieta, a dosagem correta de enzimas, a capacidade das enzimas em ultrapassar as condições estomacais (baixo pH e enzimas proteolíticas) e a temperatura de processamento do alimento (Campestrini et al., 2005).

Em artigo de Cowieson et al. (2006) é discutido o uso de enzimas em dietas contendo DDGS com o intuito de reduzir a variabilidade do produto. Para os autores, a fitase é necessária para estabilizar a disponibilidade do fósforo, assim como o uso de enzimas que degradem PNA, devido à alta concentração deste componente associada à grande variabilidade do DDGS.

A utilização de fitase em dietas contendo DDGS pode reduzir a excreção fecal de fósforo em dietas para porcas em lactação em comparação com dietas à base de farinha de milho e soja (Hill et al., 2008). Em relação a enzimas que hidrolisam PNA em dietas com DDGS de milho, Świątkiewicz et al. (2013) encontraram melhora no desempenho de suínos, reduzindo a espessura de toucinho e aumentando o peso de cortes primários. Resultados positivos com a suplementação de xilanase em dietas contendo DDGS de milho também foram encontrados por Liu et al (2011), que demonstraram que a performance de crescimento e a digestibilidade de dietas para aves melhoravam.

Muitos estudos são feitos associando mais de uma enzima para melhorar a disponibilidade de nutrientes do DDGS. Barekatin et al (2012) demonstraram que o uso combinado de xilanase e protease em dietas de aves contendo DDGS foram eficazes para melhorar o desempenho dos animais, especialmente em relação a

conversão alimentar. Ao se comparar dietas contendo DDGS com e sem enzimas, a associação de xilanase, protease e amilase em dietas contendo DDGS para frangos foi capaz de melhorar o ganho de peso e a conversão alimentar dos animais, além de aumentar a digestibilidade da gordura e da proteína da dieta (Riemensperger et al., 2013).

No estudo realizado por Pedersen et al. (2015) foi concluído que o uso de xilanase associado à protease possui um alto potencial na degradação da porção de arabinoxilano (AX) e na liberação de nutrientes. Além disso, os autores concluíram que o aumento desta degradação sugere uma interação entre proteína e fibra na matriz do DDGS feito a partir do milho. Os autores frisam o potencial uso de xilanase em combinação à protease para melhorar a eficácia da degradação do DDGS e na liberação de nutrientes.

Os fatores que promovem redução na biodisponibilidade de nutrientes do DDGS e o tornam menos atrativo para a indústria são a presença de fibras e seus efeitos negativos sobre a digestibilidade total do alimento e a digestibilidade proteica reduzida. A redução da disponibilidade proteica é causada pela presença de PB na parede celular, presença de nitrogênio associado à fibra (NFDN / NFDA) e pela reação de maillard, gerada no processamento do ingrediente (Probert et al., 1995; Stein et al., 2006; Barletta et al., 2011; Vasconcelos, 2014). Desta forma, duas das enzimas indicadas para serem associadas ao uso do DDGS seriam a xilanase, para atuar na porção fibrosa do ingrediente melhorando a digestibilidade da dieta, e a protease para auxiliar no aumento da digestibilidade da PB.

2.7.1 Xilanase

A xilanase é uma glicosidase que hidrolisa as ligações β 1-4 do xilano, que é um polissacarídeo da parede celular das plantas (Collins et al., 2005). Seu substrato, o xilano, é o principal carboidrato da fração hemicelulosítica dos tecidos das plantas. Sua ação consiste em degradar PNA e o mecanismo pelo qual estas enzimas agem é reduzindo a viscosidade da dieta por meio da decomposição da fibra da parede celular. Desta forma promove melhor acesso das enzimas endógenas aos nutrientes encapsulados nesta parede melhorando a digestibilidade do alimento. Os efeitos esperados são o melhor aproveitamento dos PNA como fonte de energia (fermentação intestinal) e minimizar os efeitos antinutricionais deste nutriente, resultando em melhor digestibilidade do alimento (Campestrini et al., 2005).

Vários estudos vêm sendo feitos com o intuito de avaliar o efeito sobre a digestibilidade em dietas com DDGS contendo enzimas que degradem PNA. Entretanto, muitos destes estudos são inconclusivos, indicando a necessidade de mais investigações do efeito destas enzimas e da associação das mesmas com outras enzimas (Pedersen et al., 2015). Sendo assim, torna-se interessante utilizar esta enzima em dietas contendo DDGS para melhorar a disponibilidade dos nutrientes e avaliar seus efeitos associados a outras enzimas, como a protease.

2.7.2 Protease

O benefício da utilização de proteases exógenas está relacionado com o aumento da digestibilidade de AA (Romero et al., 2013). O mecanismo pelo qual ocorre este aumento de digestibilidade é o aumento da hidrólise e da solubilidade proteica (Caine et al., 1998). Os AA presentes no DDGS podem apresentar baixa biodisponibilidade devido ao aquecimento durante seu processamento, sendo a lisina o aminoácido mais afetado (Lumpkins e Batal, 2005). Além disso, a proporção proteica associada à fibra na forma de NFDN e NFDA resulta na redução da digestibilidade proteica (Nuez Ortín e Yu, 2009). Sendo assim, o uso de proteases exógenas pode melhorar o valor nutricional do DDGS (Cowieson et al., 2006). O mecanismo pelo qual o uso de protease em dietas contendo DDGS pode contribuir com o aumento da biodisponibilidade dos nutrientes é a degradação das interações da matriz do alimento por meio da hidrólise proteica, e este efeito pode ser melhorado com o uso associado da protease com a xilanase (Pedersen et al., 2015).

O aumento da energia metabolizável aparente causado pela associação de xilanases e proteases sugere a capacidade de quebra das ligações entre proteína e carboidrato nos grãos de cereais (Belles et al., 2000). De acordo com Romero et al. (2013), o aumento da digestibilidade da energia e dos AA ocasionado pela associação das enzimas protease e xilanase tem potencial para reduzir o custo do alimento para aves de produção. No estudo, realizado por Pedersen et al. (2015) demonstrou-se que o uso associado de xilanase e proteases melhorou a solubilidade proteica *in vitro* de DDGS de milho e de trigo. Sendo assim torna-se interessante a investigação e o esclarecimento dos efeitos causados pela associação destas duas enzimas em dietas contendo DDGS nas diferentes espécies de animais monogástricos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O DDGS possui grande potencial de utilização na nutrição de animais monogástricos de produção e de companhia, pois além de possuir excelentes características nutricionais, reduz o custo de produção dos alimentos. Sua utilização pode ser melhorada com o uso de enzimas exógenas para reduzir sua variabilidade de composição.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, S.E.; FAHEY, G.C.; CORBIN, J.E.; PUGH, J.L.; FRANKLIN, R.A. Evaluation of byproduct feedstuffs as dietary ingredients for dogs. **Journal of Animal Science**.v.53, n.6, p.1538-1544, 1981.

AVELAR, E.; JHA, R.; BELTRANENA, E.; CERVANTES, M.; MORALES, A.; ZIJLSTRA, R. T.The effect of feeding wheat distillers dried grain with solubles on growth performance and nutrient digestibility in weaned pigs. **Animal Feed Science and Technology**. v.160, n.1, p.73-77, 2010.

BACH KNUDSEN, K.E.; JØRGENSEN, H.; LINDBERG, J.E.; OGLE, B. Intestinal degradation of dietary carbohydrates-from birth to maturity. In: Digestive physiology in pigs. Proceedings of the 8th Symposium, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, **Anais...** CABI Publishing.p.109-120, 2000.

BALAT, M.; BALAT, H. Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. **Applied energy**, v.86, n.11, p.2273-2282, 2009.

BAREKATAIN, M.R.; CHOCT, M.; ANTIPATIS, C. Use of protease and xylanase in broiler diets containing distillers'dried grains with solubles. In ANNUAL AUSTRALIAN POULTRY SCIENCE SYMPOSIUM, 23., 2012, Sidney. **Anais...**Sidney, 2012.p.65.

BARLETTA, A.; BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G. G. Introduction: current market and expected developments. in: Bedford, M.R.; PARTRIDGE, G.G., 2.Ed, **Enzymes in farm animal nutrition**, CAB International, Wiltshire, 2011, p.1-11.

BATAL, A.B.; DALE, N.M. True metabolizable energy and amino acid digestibility of distillers dried grains with solubles. **Journal of Applied Poultry Research**, v.15: p.89-93, 2006.

BAUER J.E.; MASKELL I.E. Fibres alimentaires: perspectives cliniques. In: Simpson, K.W.; Willis, J.M. **Le livre Waltham de la nutrition clinique du chien et du chat**. 1. Ed. Point Vétérinaire, 1996, Cap. 7, p.77-90.

BEDFORD, M.R. Exogenous enzymes in nonruminant nutrition—Their current value and future benefits. **Animal Feed Science and Technology**, v.86, p.1–13, 2000.

BELYEA, R.L.; RAUSCH, K.D.; TUMBLESON, M.E. Composition of corn and distillers dried grains with solubles from dry grind ethanol processing. **Bioresource technology**, v. 94, n. 3, p. 293-298, 2004.

BELLES, A.M.; MONTVILLE, T.J.; WASSERMAN, B.P. Enzymatic removal of zeins from the surface of maize starch granules. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.24, n.1, p.71-74, 2000.

CAINE, W.R.; VERSTEGEN, M.W.A.; SAUER, W.C.; TAMMINGA, S.; SCHULZE, H. Effect of protease treatment of soybean meal on content of total soluble matter and

crude protein and level of soybean trypsin inhibitors. **Animal feed Science and technology**, v.71, n.1, p.177-183, 1998.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V.T. M.; APPELT, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.254-267, 2005.

CASE, L.P., CAREY, D.P., HIRAKAWA, D.A., DARISTOTLE, L., 2000. **Canine and Feline Nutrition: A Resource for Companion Animal Professionals**, 2nd ed. Mosby, St. Louis.

CHANDALIA, M.; GARG, A.; LUTJOHANN, D.; VON BERGMANN, K.; GRUNDY, S.M.; BRINKLEY, L.J. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. **New England Journal of Medicine**, v.342, n.19, p.1392-1398, 2000.

CHEVANAN, N.; ROSENTRATER, K.A.; MUTHUKUMARAPPAN, K. Effects of processing conditions on single screw extrusion of feed ingredients containing DDGS. **Food and Bioprocess Technology**, v.3, n.1, p.111-120, 2010.

CHOCT, M. Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World's Poultry Science Journal**, v.62, n.1, p.5-16, 2006.

CHRENKOVÁ, M.; Chrenková, M.; Čerešňáková, Z.; Formelová, Z.; Poláčiková, M.; Mlyneková, Z.; Flak, P. Chemical and nutritional characteristics of different types of DDGS for ruminants. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 663, p. 127, 2012.

COLLINS, T.; GERDAY, C.; FELLER, G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. **FEMS microbiology reviews**, v.29, n.1, p.3-23, 2005.

CONAB – **Companhia Nacional de Abastecimento**. 2012. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_03_28_12_11_19_007a-12_-_proc_simplificado_-_prod_etanol_-_milho-_mt.pdf. Acesso em: 27 abr.2016.

CORBIN, J.; FAHEY, G.C.J.; PUGH, J.L. Distillers dried grains with solubles in digestibility tests with dogs. Em: DFRC, Conference Proceedings. Distillers Feed Research Council, 1980, Illinois. **Anais...Illinois, US**, p.29-34.

COWIESON, A.J.; HRUBY, M.; PIERSON, E.E.M. Evolving enzyme technology: impact on commercial poultry nutrition. **Nutrition research reviews**, v.19, n.1, p.90-103, 2006.

CROMWELL, G.L.; HERKELMAN, K.L.; STAHLY, T.S. Physical, chemical, and nutritional characteristics of distillers dried grains with solubles for chicks and pigs. **Journal of Animal Science**, v.71, p.679-686, 1993.

CUEVAS, A.C.; CARRILLO, C.A.E.; ELIZALDE, G.S. El uso de granos secos de destilería insolubles (DDGS) em dietas sorgo - soya para pollos de engorda y gallinas de postura. **Revista Mexicana de Ciências Pecuárias**, v.3, n.3, p.331-341, 2012.

DESJARDINS, A.E. **Fusarium Mycotoxins: Chemistry, Genetics, and Biology**. American Phytopathological Society Press; St. Paul, MN, USA, 2006, p.260.

EL KHOURY, D.; CUDA, C.; LUHOVYY, B.L.; ANDERSON, G.H. Beta glucan: health benefits in obesity and metabolic syndrome. **Journal of nutrition and metabolism**, v.2012, 2011.

ELLEUCH, M.; BEDIGIAN, D.; ROISEUX, O.; BESBES, S.; BLECKER, C.; ATTIA, H. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. **Food chemistry**, v. 124, n. 2, p. 411-421, 2011.

FASTINGER, N.D.; 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**, v.85, p.1212–1216, 2006.

HANSON, A.R.; XU, G.; LI, M. Impact of dried distillers grains with solubles (DDGS) and diet formulation method on dry matter, calcium, and phosphorus retention and excretion in nursery pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.172, n.3, p.187-193, 2012.

HILL, G.M.; LINK, J.E.; RINCKER, M.J.; KIRKPATRICK, D.L.; GIBSON, M.L.; KARGES, K. Utilization of distillers dried grains with solubles and phytase in sow lactation diets to meet the phosphorus requirement of the sow and reduce fecal phosphorus concentration. **Journal of Animal Science**, v.86, n.1, p.112-118, 2008.

HOWARTH, N.C.; SALTZMAN, E.; ROBERTS, S.B. Dietary fiber and weight regulation. **Nutrition reviews**, v.59, n.5, p.129-139, 2001.

KHATIBI, P.A.; MCMASTER, N.J.; MUSSER, R.; SCHMALE, D.G. Survey of Mycotoxins in Corn Distillers' Dried Grains with Solubles from Seventy-Eight Ethanol Plants in Twelve States in the U.S. in 2011., **Toxins**, v.6, n.4, p.1155–1168, 2014.

KUNZMANN, A.T.; COLEMAN, H.G.; HUANG, W.Y.; KITAHARA, C.M.; CANTWELL, M.M.; BERNDT, S.I. Dietary fiber intake and risk of colorectal cancer and incident and recurrent adenoma in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial. **The American journal of clinical nutrition**, p.1-29, 2015.

LINNEEN, S.K.; DEROCHEY, J.M.; DRITZ, S.S.; GOODBAND, R.D.; TOKACH, M.D.; NELSEN, J.L. Effects of dried distillers grains with solubles on growing and finishing pig performance in a commercial environment. **Journal of animal science**, v. 86, n.7, p.1579-1587, 2008.

LITZ, F.H.; ABREU FERNANDES, E.; PIMENTA, C.C. Avaliação bromatológica e digestibilidade “in vitro” de rações para bovinos formuladas com coprodutos da indústria do milho e do ácido cítrico. **Veterinária Notícias**, v.20, n.2, p.42-47, 2015.

LIU, N.; RU, Y.J.; TANG, D.F. Effects of corn distillers dried grains with solubles and xylanase on growth performance and digestibility of diet components in broilers. **Animal Feed Science and Technology**, v.163, n.2, p.260-266, 2011.

LOAR, R.E.; SRINIVASAN, R.; KIDD, M.T. Effects of elutriation and sieving processing (Elusieve) of distillers dried grains with soluble on the performance and carcass

characteristics of male broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v.18, p.494-500, 2009.

LUMPKINS, B.S.; BATAL, A. B. The bioavailability of lysine and phosphorus in distillers dried grains with solubles. **Poultry Science**, v.84, n.4, p.581-586, 2005.

Ministério da agricultura pecuária e abastecimento (MAPA). **Portaria nº 130, de 24 de maio de 2006**. Disponível em:<http://www.lamic.ufsm.br/MAPA.pdf>. Acesso em 24/12/2016.

MAZIERO, M.T.; BERSOT, L.D.S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.12, n.1, p.89-99, 2010.

MENEGHETTI, C.C.; DOMINGUES, J.L. Características nutricionais e uso de subprodutos da agroindústria na alimentação de bovinos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.5, n.2, p.512-536, 2008.

MIROCHA, C.J.; ABBAS, H.K.; WINDELS, C.E. Variation in deoxynivalenol, 15-acetyldeoxynivalenol, 3-acetyldeoxynivalenol, and zearalenone production by *Fusarium graminearum* isolates. **Applied and Environmental Microbiology**, v.55, p.1315–1316, 1989.

MORETINI, C.A.; LIMA, J.A.D.F.; FIALHO, E.T. Avaliação nutricional de alguns alimentos para eqüinos por meio de ensaios metabólicos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.3, p.621-626, 2015.

NACIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. National Academy Press: Washington, DC, USA, 2009, p.426.

NOLL, S.L.; BRANNON, J.; PARSONS, C. Nutritional value of corn Distiller Dried Grains with solubles (DDGs): Influence of solubles addition. **Poultry Science**, v.86, p.68-68, 2007.

NUEZ ORTÍN, W.G.; YU, P. Nutrient variation and availability of wheat DDGS, corn DDGS and blend DDGS from bioethanol plants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.89, p.1754-1761, 2009.

PAIVA, D.A.S.F.; FURLANETOII, B.; CABELLO, C. Estudo energético da produção de biocombustível a partir do milho. **Ciência Rural**, v.40, n.9, p.2017-2022, 2010.

PEDERSEN, C.; BOERSMA, M.G.; STEIN, H. H. Digestibility of energy and phosphorus in ten samples of distillers dried grains with solubles fed to growing pigs. **Journal of animal science**, v.85, n.5, p.1168-1176, 2007.

PEDERSEN, M.B.; DALSGAARD, S.; KNUDSEN, K.B.; YU, S.; LÆRKE, H. N. Compositional profile and variation of distillers dried grains with solubles from various origins with focus on non-starch polysaccharides. **Animal Feed Science and Technology**, v.197, p.130-141, 2014.

PEDERSEN, M.B.; DALSGAARD, S.; ARENT, S.; LORENTSEN, R.; KNUDSEN, K.E.B.; YU, S.; LÆRKE, H.N. Xylanase and protease increase solubilization of non-starch polysaccharides and nutrient release of corn-and wheat distillers dried grains with solubles. **Biochemical Engineering Journal**, v.98, p.99-106, 2015.

PERRY J.R.; YING W.A Review of Physiological Effects of Soluble and Insoluble Dietary Fibers. **Journal Nutrition Food Sciences** v.6, p.1-6, 2016.

PESTKA, J.J. Deoxynivalenol: Mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. **Archives of Toxicology**, v.84, p.663–679, 2010.

PROBERT, C.S.J.; EMMETT, P.M.; HEATON, K.W. Some determinants of whole-gut transit time: a population based study. **QJM: An International Journal of Medicine**, v.88, p.311–315, 1995.

RIEMENSPERGER, A., AMERAH, A.; SWANN, D. Body weight gain, feed intake and feed conversion ratio in turkeys from day 1-84.Em: Turkey science and production conference.7th, 2013, **Anais...Utkinton,2013**, p.74-76.

ROBINSON, P.H.; KARGES, K.; GIBSON, M. L. Nutritional evaluation of four co-product feedstuffs from the motor fuel ethanol distillation industry in the Midwestern USA. **Animal Feed Science and Technology**, v.146, p.345-352, 2008.

ROEDIGER, W.E.W. The effect of bacterial metabolism on the nutrition and function of the colon mucosa: a symbiosis between man and bacteria. In: H. Goebbel; H. Kaspar; **Colon and nutrition**. 1. Ed. Lancaster: M.T.P. Press, 1982, p.11-26.

ROMERO, L.F.; PARSONS, C.M.; UTTERBACK, P.L.; PLUMSTEAD, P.W.; RAVINDRAN, V. Comparative effects of dietary carbohydrases without or with protease on the ilealdigestibility of energy and amino acids and AME n in young broilers. **Animal feed science and technology**, v.181, n.1, p.35-44, 2013.

SALIM, H.M.; KRUK, Z.A.; LEE, B.D. Nutritive value of corn distillers dried grains with solubles as na ingredient of poultry diets: a review. **World´s Poultry Science Journal**. v.66, p.411-432, 2010.

SCHEPPACH, W. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. **Gut**, v.35, p.35-38, 1994.

SCHILLING, M.W.; BATTULA V.; LOAR, R.E.; JACKSON V.; KIN K.; CORZO A. Dietary inclusion level effects of distillers dried grains with solubles on broiler meat quality. **Poultry Science**, v.89, n.4, p.752-760, 2010.

SCUSSEL, V. M. **Fungos em grãos armazenados**. Em: Armazenagem de grãos, I.; Miike, L. H. &Scussel, V. M. 1.ed. Campinas: Instituto Biogeneziz, 2002, p.675-691.

SHURSON, J.; ALHAMDI, A. S. **Quality and new technologies to create corn co-products from ethanol production**. SHURSON, J.; ALHAMDI, A. S; In: Using Distillers Grains in the US and International Livestock and Poultry Industries. p. 231-256, 2008.

SILVA, J.R.; NETTO, D.P.; SCUSSEL, V.M. Grãos secos de destilaria com solúveis, aplicação em alimentos e segurança: Revisão. **PUBVET**, v.10, n.3, p.257-270, 2016 a.

SILVA, J.R.; Sabchuk, T.T.; Lima, D.C.; Félix, A.P.; Maiorka, A.; Oliveira, S.G. Use of distillers dried grains with solubles (DDGS), with and without xylanase, in dog food. **Animal Feed Science and Technology**, v. 220, p. 136-142, 2016 b.

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**, v.80, p.2639-2645, 2002.

STEIN H.H.; GIBSON, M.L.; PEDERSEN, C. Amino acid and energy digestibility in ten samples of distillers dried grain with solubles fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.84, p.853-860, 2006.

STEIN, H. H.; SHURSON, G.C. Board-invited review: The use and application of distillers dried grains with solubles in swine diets. **Journal of Animal Science**, v.87, n.4, p.1292-1303, 2009.

ŚWIĄTKIEWICZ, M.; HANCZAKOWSKA, E.; OLSZEWSKA, A. Effect of corn distillers dried grains with solubles (DDGS) in diets with NSP-hydrolyzing enzymes on growth performance, carcass traits and meat quality of pigs. **Annals of Animal Science**, v.13, n.2, p.313-326, 2013.

TIMOFIECSYK, F. R.; PAWLOWSKY, U. Minimização de resíduos na indústria de alimentos: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.18, n.2, 2000.

TJARDES, J.; WRIGHT, C, **Feeding corn distiller's co-products to beef cattle**, 2002. Disponível em: <http://agbiopubs.sdstate.edu/articles/ExEx2036.pdf>. Acesso em 23/04/2016.

TOPPING, D.L.; CLIFTON, P.M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiological reviews**, v.81, n.3, p.1031-1064, 2001.

URRIOLA, P.E.; SHURSON, G.C.; STEIN, H.H. Digestibility of dietary fiber in distillers coproducts fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.88, n.7, p.2373-2381, 2010.

U.S. Grain Council. 2012. **A guide to Distiller's Dried Grains with Solubles (DDGS)**. Primeira edição. Disponível em: <http://www.grains.org/sites/default/files/ddgs-handbook/Complete%202012%20DDGS%20Handbook.pdf>. Acesso em 23/12/2015.

VASCONCELOS, T.S. **Resíduo de abacaxi em programa de restrição alimentar qualitativa para suínos pesados**. 2014. Dracena 54p. Dissertação (Mestrado em ciência e tecnologia animal) – Programa de pós graduação em ciência e tecnologia animal Universidade Estadual Paulista.

WALDROUP, P.W.; WANG, Z.; COTO, C. Development of a standardized nutrient matrix for corn distillers dried grains with soluble. **Internacional Journal of Poultry Science**, v.6, p.478-483, 2007.

WANG, Z.; CERRATE, S.; COTO, C. Utilization of distillers dried grains with solubles (DDGS) in broiler diets using a standardized nutrient matrix. **International Journal Poultry Science**, v.6, n.7, p.470-477, 2007.

WHITNEY, M.H.; SHURSON, G.C. Availability of phosphorus in distillers dried grains with solubles for growing swine. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1-8, 2001.

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**, v.87, n.1, p.103-114, 2007.

WU F.; MUNKVOLD G.P. Mycotoxins in ethanol co-products: Modeling economic impacts on the livestock industry and management strategies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p.3900–3911, 2008.

WU-HAAN, W.; POWERS, W.; ANGEL, R. The use of distillers dried grains plus solubles as a feed ingredient on air emissions and performance from laying hens. **Poultry Science**, v.89, n.7, p.1355-1359, 2010.

ZHANG, Y.; CAUPERT, J.; RICHARD, J.; IMERMAN, P.; SHURSON, J. The occurrence and concentration of mycotoxins in US distillers dried grains with solubles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, n.20, p.9828-9837, 2009.

ZHANG, Y.; CAUPERT. Survey of mycotoxins in US distiller's dried grains with solubles from 2009 to 2011. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, p.539-545, 2012.

CAPÍTULO II - USO DE XILANASE E PROTEASE EM DIETAS COM GRÃOS SECOS DE DESTILARIA CONTENDO SOLÚVEIS (DDGS) PARA CÃES

RESUMO

Foram avaliados em dois experimentos os efeitos da adição das enzimas xilanase e protease sobre as características do extrusado, digestibilidade, características fecais e palatabilidade de uma dieta para cães em manutenção, contendo 20% de DDGS em substituição ao milho e à farinha de vísceras de frango. No primeiro experimento foram utilizados 6 cães da raça Beagle em um delineamento quadrado latino 6 x 6 avaliando seis dietas. As dietas avaliadas foram: dieta 0% DDGS sem enzimas (0%SE) e com xilanase e protease (0%XP); com 20% de DDGS sem nenhuma enzima (20%SE); com xilanase (20%X); protease (20%P) e com as enzimas associadas (20%XP). No experimento da palatabilidade foram utilizados 16 cães da raça Beagle e os testes foram feitos comparando-se as dietas 0% vs 20% de DDGS sem enzimas e 0% vs 20% de DDGS com xilanase e protease. Não houve efeito das enzimas sobre os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca (MS), extrato etéreo, hidrólise ácida (EEA), proteína bruta (PB), energia bruta (EB), matéria orgânica (MO) e energia metabolizável (EM). Contudo, a adição do DDGS, independentemente das enzimas, reduziu o CDA da MS, EEA, EB e MO ($P < 0,05$). Além disso, a adição do ingrediente reduziu o pH fecal e piorou o odor fecal ($P < 0,05$). A produção total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) aumentou com a adição do DDGS (com diferença para os ácidos acético e propiônico) ($P < 0,05$). A adição das enzimas não alterou ($P > 0,05$) a produção de ácido siálico ou as características fecais. Não houve diferença ($P > 0,05$) na palatabilidade ao se comparar as dietas com e sem DDGS sem enzimas. Ao adicionar as enzimas, os animais preferiram a dieta sem a inclusão de DDGS ($P < 0,05$). A adição das enzimas xilanase e protease nas concentrações deste experimento, em dietas contendo 20% de DDGS para cães, não altera a digestibilidade dos nutrientes ou as características fecais. A adição de 20% de DDGS proporciona redução na digestibilidade dos nutrientes da dieta sem alterar as características do extrusado. A palatabilidade do alimento é reduzida com a adição das enzimas na dieta.

Palavras chave: Características fecais, digestibilidade, enzimas, fibra, palatabilidade

USE OF XYLANASE AND PROTEASE IN DIETS CONTAINING 20% OF DISTILLER'S DRIED GRAINS WITH SOLUBLES (DDGS) FOR DOGS

ABSTRACT

The effects of the addition of the xylanase and protease enzymes on digestibility, fecal characteristics and palatability of a dog diet containing 20% DDGS in substitution of corn and poltry by products were evaluated in two experiments. In the first experiment, 6 Beagle dogs were used in a 6 x 6 Latin square design. The diets evaluated were: diet 0% DDGS without enzymes (0% SE) and with xylanase and protease (0% XP); with 20% DDGS without any enzyme (20% SE); with xylanase (20% X); protease (20% P) and associated enzymes (20% XP). In the palatability experiment, 16 Beagle dogs were used and the tests were done comparing the diets 0% vs 20% of DDGS without enzymes and 0% vs 20% of DDGS with xylanase and protease. There was no effect of the enzymes on the apparent digestibility coefficient (CDA) of the following parameters: dry matter (MS), ethereal acid hydrolysis (EEA), crude protein (PB), crude energy (EB), organic matter (MO) and metabolizable energy (EM). However, the addition of DDGS, independently of enzymes, reduced CDA from MS, EEA, EB and MO ($P < 0,05$). The MS and CDAPB showed a reduction tendency ($P < 0,1$). In addition, the ingredient reduced fecal pH and worsened fecal odor ($P < 0,05$). Total short chain fatty acid (AGCC) production increased with the addition of DDGS (with difference for acetic and propionic acids) ($P < 0,05$). The addition of the enzymes did not alter the production of sialic acid or fecal characteristics (dry matter, pH, ammoniacal nitrogen, score and odor) ($P < 0,05$). There was no difference ($P > 0,05$) in palatability when comparing diets with and without DDGS without enzymes. By adding the enzymes, the animals preferred the diet without the inclusion of DDGS ($P < 0,05$). The addition of xylanase and protease enzymes at concentrations of this experiment in diets containing 20% DDGS for dogs did not alter nutrient digestibility or fecal characteristics. However, the addition of 20% of DDGS provided a reduction of the CDA of the evaluated parameters. The palatability of the food was reduced with the addition of the enzymes in the diet.

Key words: Fecal characteristics, digestibility, enzymes, fiber, palatability

1. INTRODUÇÃO

O mercado de alimentos para cães vem crescendo ao longo dos anos e como consequência de sua alta competitividade, a busca por ingredientes que reduzam o custo das formulações e melhorem a qualidade das dietas também cresce. Neste contexto, destacam-se os coprodutos industriais que estão sendo bastante utilizados na nutrição animal. No caso da indústria de biocombustíveis, o grão seco de destilaria contendo solúveis (DDGS) é proveniente da fermentação de grãos para a produção de etanol.

A disponibilidade do DDGS varia de acordo com o país e época do ano. Nos Estados Unidos a oferta ocorre o ano todo pelo fato do milho ser a principal matéria prima para a produção do etanol. Entretanto, no Brasil, como a base desta produção é a cana-de-açúcar, a oferta do ingrediente ocorre somente nos meses de sua entressafra, quando o milho passa a substituir a cana como substrato para a fermentação alcoólica.

O DDGS possui grande potencial de utilização na nutrição animal por apresentar alta concentração de proteína, gordura, vitaminas e minerais (Spiehs et al., 2002; Widyaratne e Zijlstra, 2007). Contudo, seu uso na alimentação de monogástricos é limitado pelo alto teor de polissacarídeos não amiláceos (PNA), que pode reduzir a biodisponibilidade dos seus nutrientes (Pedersen et al., 2014). A literatura aponta a viabilidade de inclusão de até 18% de DDGS em substituição ao milho em dietas para cães (Silva et al., 2016), desta forma torna-se interessante avaliar o efeito da maior inclusão do ingrediente.

O principal tipo de PNA encontrado no DDGS é a fibra insolúvel (FI), que aumenta a taxa de passagem do alimento pelo trato gastro intestinal (TGI), resultando em menor digestibilidade dos nutrientes. Além disso, parte da proteína deste ingrediente encontra-se associada à fibra, favorecendo ainda mais a redução do aproveitamento deste nutriente para os animais monogástricos. Esta associação ocorre na forma de nitrogênio aderido à fibra detergente ácido (NFDA) e neutro (NFDN) (Nuez Ortín & Yu, 2009; Chrenková et al., 2012; Silva et al., 2016).

Desta forma, torna-se interessante a investigação dos efeitos de enzimas que degradem os PNA, associadas a proteases para melhorar a digestibilidade de nutrientes do DDGS, em especial da sua porção proteica. A xilanase poderia hidrolisar a porção de xilano da hemicelulose, reduzindo a viscosidade da dieta e promovendo

melhor acesso das enzimas endógenas aos nutrientes, e favorecendo a liberação do nitrogênio associado à fibra. Enquanto isso, a protease potencializaria a liberação e solubilização da proteína associada à fibra, com o intuito de melhorar a digestibilidade do ingrediente e o aproveitamento da dieta pelo animal.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da adição das enzimas xilanase e protease sobre as características do extrusado, digestibilidade, características fecais e palatabilidade de uma dieta para cães contendo 20% de DDGS em substituição ao milho e à farinha de vísceras de frango.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná - Curitiba, PR, Brasil, sob o protocolo 055/2015.

2.1 EXPERIMENTO I: ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS

2.1.1 Dietas experimentais

Foram avaliadas seis dietas, sendo duas com 0% de DDGS: sem a adição de enzimas (0%SE) e com xilanase e protease (0%XP) e quatro com 20% de DDGS: sem a adição de enzimas (20%SE), com xilanase (20%X), com protease (20%P) e com as duas enzimas associadas (20%XP).

As proporções de inclusão enzimática utilizadas no experimento foram de 0,2 g/kg de xilanase nas dietas 0%XP, 20%X e 20%XP e de 0,5 g/kg de protease nas dietas 0%XP, 20%P e 20%XP, de acordo com recomendação dos fornecedores das enzimas. As enzimas foram previamente dispersas em óleo de soja, sendo aplicadas na proporção de 10 mL de óleo/kg de ração. A aplicação foi realizada com o auxílio de um misturador centrífugo betoneira. O período de homogeneização das rações com o óleo foi de 15 minutos.

A xilanase (160.000 BXU/g xilanase, Econase XT 25, AB Vista, Wiltshire, UK) utilizada neste experimento é produzida a partir de cepas de *Trichoderma reesei* e as unidades xilanase são determinadas em substrato de xilano (extraído de *Betula alba*) a 50°C e pH 5,3. A protease (Corolase 7089, ABF ingredients, Peterborough, UK) foi produzida a partir de culturas de *Bacillus Amyloliquefaciens*. Sua atividade mínima é de

850 UHb/g, com ação de endopeptidase. Uma unidade de protease (UHb) é definida pela atividade enzimática que, em condições padrão (37°C, pH definido, 280 nm), catalisa a liberação de compostos de hemoglobina solúveis em ácido tricloroacético, equivalente a 1 µmol de Tirosina por minuto.

Os ingredientes foram moídos em moinho martelo equipados com peneira de 1,2 mm, misturados e extrusados em extrusora dupla rosca (Ferraz, Ribeirão Preto, Brasil). A composição de ingredientes das dietas encontra-se na Tabela 1 e a composição química do DDGS e das dietas na Tabela 2.

Tabela 1 - Ingredientes das dietas experimentais.

Ingredientes (g/kg)	Dieta controle	Dieta contendo 20% DDGS
Milho	600,72	471,87
Farinha de Vísceras de aves	300,00	190,00
Farinha de Carne	0,00	40,00
DDGS	0,00	200,00
Óleo de Vísceras de aves	50,00	50,00
Hidrolisado líquido de aves	30,00	30,00
Cloreto de Potássio	6,70	5,554
Sal	5,00	5,00
Premix Cães ¹	3,00	3,00
Cloreto de Colina	2,00	2,00
Propionato de Cálcio	2,00	2,00
Ácido Cítrico	0,35	0,35
BHT	0,15	0,15
BHA	0,075	0,075

¹Enriquecimento por kg de produto: vitamina A (retinol) = 20.000 UI; vitamina D3 = 2000 UI; vitamina E (alfa-tocoferol α) = 48 mg; vitamina K3 = 48 mg; vitamina B1= 4 mg; vitamina B2 = 32 mg; ácido pantotênico = 16 mg; = 56 mg de niacina; colina = 800 mg; Como óxido de zinco Zn = 150 mg; Fe como sulfato ferroso = 100 mg; Cu como sulfato de cobre = 15 mg; I, tal como iodeto de potássio = 1,5 mg; Mn como óxido de manganês = 30 mg; Se como selenito de sódio = 0,2 mg; antioxidante = 240 mg.
DDGS: Grãos secos de destilaria contendo solúveis.

Tabela 2 - Composição química analisada (% de matéria seca) dos grãos secos de destilaria contendo solúveis (DDGS) e das dietas experimentais

Composição química (%)	DDGS	DIETAS					
		0%SE	0%XP	20%SE	20%X	20%P	20%XP
Matéria seca	95,23	91,82	92,56	94,85	95,31	95,11	94,82
Proteína bruta	25,41	22,53	22,77	24,26	24,42	24,32	24,04
NFDN	1,52	0,50	0,68	0,83	1,02	1,02	1,28
NFDA	0,24	0,05	0,06	0,22	0,23	0,12	0,12
EEA	10,56	15,34	14,83	14,69	15,04	14,93	14,57
Matéria mineral	7,08	8,02	8,05	6,72	6,42	6,24	6,44
Fibra bruta	11,44	1,29	1,14	2,38	2,29	2,37	2,14
FDN	60,53	10,37	11,33	20,35	20,42	21,29	20,09
FDA	15,05	1,32	1,32	3,53	3,65	3,83	3,48
FDT	32,30	4,90	5,10	110	11,40	11,60	11,60
Fibra Insolúvel	30,20	4,10	4,20	9,80	10,30	9,90	9,90
Fibra Solúvel	2,10	0,70	0,90	1,20	1,10	1,70	1,70
Amido digestível	8,39	-	-	-	-	-	-
Amido resistente	4,42	-	-	-	-	-	-
Amido total	12,81	-	-	-	-	-	-
Extrativo não nitrogenado	40,74	44,64	45,77	46,79	47,13	47,25	47,63
EM (Kcal/Kg)	3747,1	3654,5	3659,6	3735,8	3782,8	3773,9	3747,1

nFDN: nitrogênio aderido à fibra em detergente neutro; nFDA: Nitrogênio aderido à fibra em detergente ácido; EEHA: Extrato etéreo em hidrólise ácida; FDN: Fibra em detergente neutro; FDA: Fibra em detergente ácido; FDT: Fibra dietética total; EM: Energia metabolizável estimada de acordo com o NRC (2006). A FDT foi obtida por meio da somatória das porções solúveis e insolúveis. 0%SE: Dieta contendo 0% de DDGS sem a adição de enzimas; 0%XP: Dieta contendo 0% de DDGS com a adição de xilanase e protease; 20%SE: Dieta contendo 20% de DDGS sem a adição de enzimas; 20%X: Dieta contendo 20% de DDGS com a adição de xilanase; 20%P: Dieta contendo 20% de DDGS com a adição de protease; 20%XP: Dieta contendo 20% de DDGS com a adição de xilanase e protease.

2.1.2 Características físicas do extrusado

Uma vez produzidas, as dietas 0 e 20% DDGS foram avaliadas em relação à densidade, tamanho dos extrusados, índice de expansão, dureza, uniformidade e presença de micotoxinas.

A densidade das dietas na saída da extrusora foi calculada em 11 amostras de cada tratamento e determinada pela razão entre peso da dieta (gramas) e volume (litros). As amostras foram homogeneizadas, colocadas em bureta de 1 litro e pesadas em balança digital com capacidade para 2.000 g (Balança digital pesadora, JB balanças, Jari, Brasil).

A largura dos extrusados foi medida com auxílio de paquímetro digital (Paquímetro Absolute, Mitutoyo, São Paulo, Brasil), totalizando 10 amostras para cada

tratamento. O índice de expansão (IE) foi calculado como a relação entre a largura dos extrusados sobre o diâmetro da matriz.

Para a análise de dureza, foram selecionadas 50 amostras de extrusado de cada dieta, as quais foram submetidas à análise em durômetro (Dr. Schleuniger; Model 5Y tablete tester, Solothurn, Suíça) expresso em kgf.

A uniformidade foi avaliada pesando-se 50 amostras de extrusado das dietas controle e 50 amostras da dieta 20% DDGS para avaliar a diferença entre os seus pesos e por consequência a uniformidade dos extrusados.

A presença das micotoxinas deoxinivalenol (DON) e fumonisinas (FB₁ e FB₂) foi avaliada em todas as dietas. Para a análise das fumonisinas as amostras foram submetidas à extração, limpeza, concentração e quantificação por fluorescência conforme o método oficial internacional (art. 955.15) da AOAC (1995). Para realizar a extração, 50 g da amostra foram pesadas e colocadas em copo liquidificador com 80 mL de metanol e 20 mL de cloreto de potássio e o conteúdo foi filtrado após a liquefação. No processo de limpeza, uma alíquota de 10 ml do filtrado foi depositada em cartucho (N+C18SPE) previamente condicionado com metanol e de metanol:água (80:20) e por fim, lavado com metanol:água e metanol. Então, para o processo de eluição, a amostra foi eluída com 10 mL de metanol e ácido acético (99:1) e recolhida em frascos de vidro. Após essa etapa, o extrato foi seco com auxílio de nitrogênio e temperatura de 60°C. Por fim, para a quantificação, o extrato seco foi redissolvido em metanol (200 µl) e agitado, seguido por derivatização (porção de 25 µl transferida para frasco, onde foi adicionada 225 µl de solução oftaldeído e mantido à temperatura ambiente para reação de derivatização por 2 min), em seguida injetada (20 µl) no CLAE/FLD (λexcitação 335 nm e emissão 440nm) para a realização da leitura.

Para determinar a micotoxina DON o método utilizado foi o VICAM (2013). Para isso, foram utilizadas 25 g da amostra e adicionados 100 mL de água mili-Q no liquidificador. A amostra foi filtrada por duas vezes e colocada em coluna de imunoafinidade, que foi primeiramente condicionada com 1mL de água ultra-pura, a uma taxa de fluxo de uma gota por segundo. Após lavagem da coluna com 2,5 ml de água mili-Q, a micotoxina foi eluída lentamente com 2 ml de metanol. O eluato foi seco em nitrogênio gasoso e temperatura de 60°C. O resíduo seco foi redissolvido em 100 µl de fase móvel (acetonitrila:água, 10:90). Por fim, o extrato (20 µl) foi injetado no CLAE, equipado com detector de UV, (λ=218 nm) onde foi feita a leitura.

2.1.3 Animais e alojamento

O experimento foi conduzido no Laboratório de Estudos de Nutrição Canina – LENUCAN, da Universidade Federal do Paraná – UFPR. Foram utilizados seis cães (três machos e três fêmeas) adultos da raça Beagle ($1 \pm 0,1$ anos), com peso médio de $9,47 \pm 0,71$ kg. Durante o ensaio de digestibilidade os animais foram alojados em baias individuais de alvenaria (5 metros de comprimento x 2 metros de largura).

2.1.4 Protocolo experimental e análises laboratoriais: Digestibilidade e características fecais

O ensaio de digestibilidade foi conduzido pelo método de colheita total de fezes, segundo as recomendações da Association of American Feed Control Officials (AAFCO, 2004). O experimento foi dividido em seis períodos de dez dias (cinco dias de adaptação seguidos por cinco dias de colheita total de fezes cada). Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, nos horários 8:00 e 16:00 horas em quantidade suficiente para suprir suas necessidades de energia metabolizável (NEM), segundo preconizado pelo NRC (2006) e a água foi fornecida *ad libitum*.

O DDGS, as dietas e as fezes foram analisados quanto à matéria seca (MS), proteína bruta (PB, método 954.01), matéria mineral (MM, método 942.05), fibra bruta (FB, método 962.10), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEHA, método 954.02), amido (método 996.11 adaptado) segundo a AOAC (1995) e energia bruta (EB) em bomba calorimétrica (Parr Instrument Co., Model 1261, Moline, IL, USA). As análises de FDN, FDA, NFDN e NFDA foram feitas de acordo com Silva e Queiroz (2002). Foram analisadas ainda as frações dos polissacarídeos não amiláceos (PNA), FDT, FS e FI presentes no DDGS e dietas, de acordo com metodologia descrita por Englyst et al. (1982).

Tabela 3 - Análise química das frações dos polissacarídeos não amiláceos (PNA) presentes nos grãos secos de destilaria contendo solúveis (DDGS) e nas dietas.

Item	DDGS		0%SE		20%SE	
	Solúvel	Insolúvel	Solúvel	Insolúvel	Solúvel	Insolúvel
Ramnose	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Fucose	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Arabinose	0,5	6,7	0,1	0,9	0,2	2,0
Xilose	0,6	10,3	0,0	1,4	0,2	3,2
Manose	0,0	1,0	0,0	0,1	0,0	0,4
Galactose	0,2	1,8	0,1	0,3	0,2	0,7
Glucose	0,5	10,1	0,4	1,3	0,4	3,2
Ácido glicurônico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ácido galacturônico	0,4	0,3	0,1	0,1	0,2	0,3
Total (g/100g)	2,2	30,2	0,7	4,1	1,2	9,8
SD	1,2	1,2	0,3	0,3	0,3	0,3

0%SE: Dieta contendo 0% de DDGS sem a adição de enzimas; 20%SE: Dieta contendo 20% de DDGS sem a adição de enzimas; SD: desvio padrão. 0%SE: Dieta contendo 0% de DDGS sem a adição de enzimas;

20%SE: Dieta contendo 20% de DDGS sem a adição de enzimas

A partir dos resultados laboratoriais obtidos os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) das variáveis analisadas foram calculados pela equação:

$$CDA\% = [(g \text{ nutriente ingerido} - g \text{ nutriente excretado}) / g \text{ nutriente ingerido}] \times 100$$

A energia metabolizável (EM) foi estimada sem coleta de urina segundo a AAFCO (2004):

$$EM \text{ (kcal.g}^{-1}\text{)} = \{kcal.g^{-1} \text{ EB ingerida} - kcal.g^{-1} \text{ EB excretada nas fezes} - [(g \text{ PB ingerida} - g \text{ PB excretada nas fezes}) \times 1,25 \text{ kcal.g}^{-1}]\} / g \text{ ração ingerida}$$

As fezes foram colhidas no mínimo duas vezes ao dia, pesadas, armazenadas e congeladas (-14°C) em potes plásticos identificados com tampa, constituindo um composto de fezes de cada animal por período de coleta. No final de cada período, as fezes foram descongeladas, homogeneizadas e secas em estufa de ventilação forçada à 55°C (320-SE, Fanem, São Paulo, Brasil) durante 48 horas até peso constante. Uma vez secas, as fezes foram moídas em moinho de martelo a 1 mm (Wiley, Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, PA) e armazenadas em sacos plásticos previamente identificados.

As fezes dos animais foram submetidas às análises de pH, nitrogênio amoniacal, escore fecal, odor, determinação de ácidos graxos de cadeia curta, ácido siálico, e composição química.

O pH e a amônia foram avaliados em duplicata nas fezes frescas colhidas no máximo após 15 minutos de defecação. O pH fecal foi avaliado em 3,0 g de fezes frescas, diluídas em 30 mL de água destilada usando um pHmetro digital (331, Politeste Instrumentos de Teste LTDA, São Paulo, SP, Brasil).

O teor de amônia foi determinado de acordo com Brito et al. (2010). A consistência fecal foi avaliada por meio de escore com graduação de 1 a 5, sendo 1 o indicativo de fezes pastosas e sem forma, 2 o indicativo de fezes macias e mal formadas, 3 o indicativo de fezes macias, formadas e úmidas, 4 o indicativo de fezes bem formadas e consistentes e 5 para fezes bem formadas, duras e secas (Carciofi et al., 2009). Ao final das colheitas fecais, a mistura composta das fezes de cada animal foi descongelada e homogeneizada.

O odor fecal foi avaliado por 31 voluntários que compararam as fezes frescas dos animais alimentados com as dietas 20% SE e 20% XP com a dieta 0% SE. As fezes foram coletadas de dois animais e então 5g de cada animal foram homogeneizados e armazenados em um pote, que foi tapado com um papel filme com 36 furos. Os voluntários deram notas de 1 a 3 para as fezes dos tratamentos 20% SE e 20% XP em comparação com aquelas do tratamento 0% SE, sendo que as notas significavam: 1 odor melhor que a controle, 2 igual a controle e 3 pior que a controle.

Para determinar os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) as fezes dos animais foram coletadas frescas, no máximo 15 minutos após a defecação. Em um recipiente plástico devidamente identificado e com tampa, 10 g de amostra de fezes eram pesados e misturados com 30 mL de ácido fórmico 16%. Esta mistura era homogeneizada e armazenada em geladeira a 4°C por um período de 3 a 5 dias. Depois disso, estas soluções eram centrifugadas a 5000 rotações por minuto em uma centrífuga (2K15, Sigma, Osterodeam Hans, Alemanha) por 15 minutos. Ao final da centrifugação o sobrenadante era separado e submetido a uma nova centrifugação. Cada amostra passou por três centrifugações e ao final da última, parte do sobrenadante era transferida para um eppendorff devidamente identificado para posterior congelamento. Posteriormente as amostras foram descongeladas e passaram por uma nova centrifugação a 14000 rotações por minuto por 15 minutos (Rotanta 460 Robotic, Hettich, Tuttlingen, Alemanha). Os AGCC fecais foram analisados por cromatografia gasosa (SHIMADZU, modelo GC-2014, Quioto, Japão). Utilizou-se uma coluna de vidro (Agilent Technologies, HP INNOWax – 19091N, Santa Clara, EUA) de 30 m de comprimento e 0,32 mm de largura. O nitrogênio foi o gás

transportador, com uma taxa de fluxo de 3,18 ml / min. As temperaturas de trabalho foram 200°C na injeção, 240°C na coluna (na velocidade de 20°C/min) e 250°C no detector de ionização de chama.

Para análise de ácido siálico, as fezes foram liofilizadas em liofilizador (Alpha 1-4 LO plus, Christ, Osterodeam Hans, Alemanha) e a análise feita de acordo com Jourdian et al. (1971).

2.1.3 Delineamento e análise estatística

O delineamento adotado no experimento foi o Quadrado Latino 6 x 6, composto por seis tratamentos e seis períodos. A normalidade foi analisada por meio do teste Shapiro Wilk ($P > 0,05$) e quando esta premissa era atendida os dados eram submetidos à avaliação pelo pacote estatístico SAS (1996). Os dados referentes às características do extrusado foram submetidos à análise de comparação de médias pelo teste *t-Student*.

A digestibilidade e características fecais foram avaliadas por contrastes ortogonais ($P < 0,05$). Os contrastes utilizados foram: (0%SE; 0%XP) vs (20%SE; 20%X; 20%P; 20%XP): Dietas sem inclusão de DDGS vs Dietas com inclusão de 20% de DDGS; 0%SE vs 0%XP: Dieta sem DDGS e sem enzimas vs Dieta sem DDGS com xilanase e protease; 20% SE vs (20%X; 20%P; 20%XP): Dieta contendo 20% de DDGS sem enzimas vs Dietas contendo 20% de DDGS com as enzimas xilanase e protease isoladas e combinadas; (20%X; 20%P) vs 20%XP: Dietas contendo 20% de DDGS com as enzimas isoladas vs Dieta contendo 20% de DDGS com as enzimas associadas; 20%X vs 20%P: Dieta contendo 20% de DDGS com xilanase vs Dieta contendo 20% de DDGS e protease.

Os dados de características fecais que não atenderam a premissa que comprova normalidade foram submetidos ao teste kruskal wallis a 5% de probabilidade.

Valores de P menores do que 0,05 foram considerados significativos e valores entre 0,05 e 0,1 foram considerados tendências.

Os dados de FS, FI e FDT foram submetidos à análise de correlação em comparação com aos valores de CDA e EM.

2.2 EXPERIMENTO II: ENSAIO DE PALATABILIDADE

2.2.1 Dietas experimentais

O ensaio de palatabilidade foi composto por dois testes realizados em dois dias e as dietas avaliadas testaram o efeito da adição do DDGS com e sem as enzimas. Para isso, comparou-se as dietas 0%SE vs 20%SE (efeito da adição do DDGS sem as enzimas) e as dietas 0%XP vs 20%XP (efeito da adição do DDGS com enzimas).

2.2.2 Animais e alojamento

Foram utilizados 16 cães adultos da raça Beagle: oito machos e oito fêmeas com peso médio de $9,47 \pm 0,71$ kg e idade de $1 \pm 0,1$ anos. Durante o ensaio de palatabilidade, os animais foram alojados em baias individuais de alvenaria (5 metros de comprimento x 2 metros de largura).

2.2.3 Procedimentos experimentais

Cada teste de palatabilidade foi realizado durante dois dias consecutivos, nos quais os alimentos foram fornecidos uma vez ao dia às 08:00 horas. Cada animal recebeu dois potes, cada um contendo uma das dietas avaliadas. A quantidade fornecida de cada dieta foi 30% superior às recomendações de NEM do NRC (2006). Assim que uma das dietas era consumida completamente, ambos os potes eram retirados e as sobras quantificadas. A posição relativa dos comedouros foi alternada no segundo dia de experimento para que não houvesse o condicionamento do animal ao local de alimentação.

A primeira escolha foi definida pelo registro do primeiro pote que o animal se aproximou durante a oferta simultânea dos alimentos. A palatabilidade foi determinada pela associação dos testes de razão de ingestão e primeira escolha entre as rações ofertadas aos cães. A razão de ingestão foi calculada pela seguinte fórmula:

Razão de ingestão (%) = $[\text{g ingeridas da dieta A ou B} / \text{g totais consumidas (A + B)}] \times 100$

2.2.4 Delineamento e análises estatísticas

O delineamento adotado foi inteiramente casualizado. Foram utilizados 16 animais totalizando 32 repetições por teste (16 cães x 2 dias). Os dados de primeira

escolha foram submetidos ao teste de Qui-quadrado e a razão de ingestão ao teste *t-Student*, ambos a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS

3.1 Características das dietas

Não houve diferença ($P>0,05$) entre as dietas testadas para as análises de densidade, tamanho, índice de expansão, dureza e uniformidade (Tabela 4).

Tabela 4 - Média dos valores de densidade, tamanho, índice de expansão, dureza e uniformidade das dietas controle e contendo 20% de grãos secos de destilaria contendo solúveis (DDGS).

	0%DDGS	20%DDGS	EPM	P
Densidade (g/l)	415,50	420,14	0,39	0,448
Tamanho (mm)	0,96	0,78	$8,96^{-3}$	0,172
Índice de Expansão	0,213	0,17	$1,95^{-3}$	0,172
Dureza (N)	103,12	64,06	2,94	0,473
Uniformidade (g)	0,26	0,24	$2,21^{-3}$	0,464

EPM: Erro padrão da média. 0%DDGS: Dieta contendo 0% de DDGS; 20%DDGS: Dieta contendo 20% de DDGS.

Para as fumonisinas os valores foram compreendidos entre 110,03 e 57,66 $\mu\text{g/Kg}$ de ração. O deoxinivalenol (DON) foi detectado somente nas dietas contendo 20% de DDGS sem enzima e com as enzimas associadas, nas concentrações de 750 e 876 $\mu\text{g/Kg}$ respectivamente. Entretanto, todos os valores encontrados nas análises de micotoxinas (Fumonisina e Deoxinivalenol) encontram-se dentro dos limites máximos de tolerância determinados pelo MAPA.

Digestibilidade e características fecais

A adição das enzimas xilanase e protease nas dietas não proporcionou nenhum efeito nos CDA dos nutrientes e EM ($P>0,05$). No entanto, houve redução ($P<0,05$, Tabela 5) no CDA da MS, EEA, EB e MO com a adição do DDGS. O CDAPB e a EM apresentaram tendência à redução ($P<0,10$).

O pH fecal reduziu com a adição do DDGS ($P<0,05$, Tabela 5) e se apresentou semelhante para todas as dietas contendo o ingrediente.

Com relação aos AGCC, a inclusão do DDGS aumentou a produção total de AGCC e dos ácidos acético e propiônico ($P<0,05$), sem alterar a produção de ácido butírico.

Tabela 5 - Efeito da adição das enzimas xilanase e protease em dietas com (20%) ou sem grãos secos de destilaria contendo solúveis (DDGS) sobre os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) e energia metabolizável (EM, kcal/kg) das dietas e características fecais de cães.

	Tratamentos						EPM	Contrastes				
	0%SE	0%XP	20%SE	20%X	20%P	20%XP		A	B	C	D	E
Coeficiente de digestibilidade aparente (%)												
MS	83,93	83,83	76,79	76,69	75,96	74,24	0,86	<0,001	1,000	0,993	0,933	0,999
EEA	92,51	92,7	88,82	89,81	88,27	86,4	0,48	<0,001	1,000	0,986	0,173	0,813
PB	84,15	84,75	80,68	81,89	79,78	77,6	0,66	0,050	0,999	0,996	0,624	0,946
EB	88,38	88,22	80,87	82,05	80,57	78,67	0,86	<0,001	1,000	0,999	0,640	0,973
MO	87,57	87,78	78,98	79,01	78,36	77,29	0,89	<0,001	1,000	0,998	0,978	0,999
EM	4095,2	4118,5	4015,9	4018,5	3908,4	3855,2	26,31	0,071	0,999	0,821	0,719	0,812
Características fecais												
MSf (%)	40,75	38,49	36,62	34,76	35,99	37,07	0,879	0,383	0,969	0,999	0,983	0,998
pH	7,07	7,19	6,39	6,51	6,59	6,48	0,076	0,002	0,994	0,975	0,999	0,999
Ácidos Graxos de Cadeia Curta (mmol/g MS fecal)												
Acético	57,68	61,23	83,52	75,97	92,43	87,41	0,027	0,005	0,999	0,999	0,999	0,598
Propiônico	26,87	31,16	44,76	43,92	51,83	45,77	0,105	0,002	0,984	0,997	0,999	0,816
Butírico	10,52	9,634	11,38	9,78	12,37	11,49	5,514	0,936	0,998	1,000	0,999	0,819
Valérico	0,539	0,421	0,492	0,587	0,589	0,476	3,25	0,961	0,891	0,986	0,850	1,000
Isobutírico	2,09	1,909	1,081	2,200	1,918	1,749	0,498	0,994	0,979	0,975	0,721	0,873
Isovalérico	2,831	2,429	2,454	2,911	2,646	2,362	0,069	1,000	0,882	0,989	0,779	0,978
AGCC Totais	100,53	106,79	144,42	135,37	161,79	149,26	2,0121	0,007	0,999	0,999	1,000	0,699

0%SE: 0% de DDGS sem enzimas; 0% XP: 0% DDGS com xilanase e protease; 20% SE: 20% de DDGS sem enzima; 20% X: 20% DDGS com xilanase; 20% P: 20% DDGS com protease; 20% XP: 20% DDGS com xilanase e protease.

MS: Matéria seca; EEA: Extrato etéreo em hidrólise ácida; PB: Proteína bruta; EB: Energia bruta; MO: Matéria orgânica; EM: Energia metabolizável; MSF: Matéria seca fecal.

Os AGCC totais são calculados como a soma dos AGCC avaliados no experimento.

EPM: Erro padrão da média.

A: (0%SE; 0%XP) x (20%SE; 20%X; 20%P; 20%XP)

B: 0%SE x 0%XP

C: 20% SE x (20%X; 20%P; 20%XP)

D: (20%X; 20%P) x 20%XP

E: 20%X x 20%P

Os animais alimentados com as dietas contendo DDGS (20%SE e 20%XP) apresentaram fezes mais fétidas ($P<0,05$) em relação a controle 0%SE. Não houve alteração ($P>0,05$) no ácido siálico, nitrogênio amoniacal e escore fecal (Tabela 6).

Tabela 6 - Medianas do ácido siálico (mg), nitrogênio amoniacal (%), escore fecal e odor fecal de cães alimentados com dietas com ou sem grãos secos de destilaria contendo solúveis (DDGS) e enzimas.

	0%SE	0%XP	20%SE	20%X	20%P	20%XP	P
Ácido Siálico	0,9941	0,8618	1,0383	1,0248	0,9750	1,0693	0,456
NH ₃ Fecal	0,1003	0,0852	0,0722	0,0729	0,092	0,0605	0,153
Escore Fecal	4	4	4	4	4	4	0,322
Odor Fecal	2 ^a	-	3 ^b	-	-	3 ^b	<0,001

0%SE: 0% de DDGS sem enzimas; 0%XP: 0% DDGS com xilanase e protease; 20%SE: 20% de DDGS sem enzima; 20%X: 20% DDGS com xilanase; 20%P: 20% DDGS com protease; 20%XP: 20% DDGS com xilanase e protease; NH₃ fecal: nitrogênio amoniacal fecal. ^{a,b,c} Letras distintas indicam diferença pelo teste de Kruskal-Wallis (P<0,05).

O aumento do FDT e suas frações (FI e FS) apresentou correlação negativa com os CDA dos nutrientes e a EM das dietas (P<0,01, Tabela 7).

Tabela 7 Correlação entre fibra insolúvel (FI), fibra solúvel (FS), fibra dietética total (FDT) e coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) e energia metabolizável (EM).

	FI	FS	FDT
CDA			
Matéria seca	-0,728*	-0,652*	-0,737*
Extrato etéreo	-0,692*	-0,726*	-0,715*
Proteína bruta	-0,522*	-0,579*	-0,543*
Energia bruta	-0,710*	-0,657*	-0,721*
Matéria orgânica	-0,818*	-0,696*	-0,824*
Energia metabolizável	-0,467*	-0,579*	-0,493*

*P<0,01.

3.2 Ensaio de Palatabilidade

Em relação à razão de ingestão (RI), os animais ingeriram maior quantidade da dieta 0%XP, quando comparada com a 20%XP (P<0,05, Tabela 8).

Tabela 8 - Número de visitas ao comedouro da dieta A e razão de ingestão (RI± erro padrão) para cães.

Dieta A vs B	N ^a	RI dieta A ^b
0%SE vs 20%SE	13	0,48 ± 0,05
0%XP vs 20%XP	12	0,61 ± 0,049*

0%SE: 0% de DDGS sem enzimas; 20%SE: 20% de DDGS sem enzimas, 0%XP: 0% de DDGS com xilanase e protease; 20%XP: 20% de DDGS com xilanase e protease.

*Valor de P<0,05 para número de visitas para a dieta A pelo teste do Qui-quadrado e teste T de Student para Razão de ingestão.

^a Número de visitas para o comedouro B é obtido por 32 – n.

^b RI (Razão de ingestão): g ingeridas da dieta A ou B/ g totais fornecidas (A + B). RI da dieta B é obtido por: 1 – RI da dieta A

4 DISCUSSÃO

4.1 Características das dietas

Nas condições deste experimento a adição de 20% de DDGS não alterou a densidade, o índice de expansão, a dureza, o tamanho e a uniformidade dos extrusados. Estes dados são diferentes daqueles encontrados por Monti (2015), que associa a inclusão de fibras com a redução do índice de expansão e aumento da densidade e dureza dos extrusados. Entretanto, no estudo realizado por Monti (2015) as dietas para cães continham maior teor de fibra (3 e 9%) em relação ao presente estudo (1 e 2%), o que pode explicar a diferença entre os resultados. Onwulata et al. (2001) também correlaciona o aumento das fibras com a redução da expansão e com o aumento da dureza dos extrusados. Para os autores, o aumento da dureza e a redução do índice de expansão ocorrem como resultado da redução da elasticidade da massa. Entretanto, este estudo foi realizado em alimentos contendo alto teor fibroso (12,5%) o que pode ter evidenciado estas características.

Em relação à classificação da solubilidade da fibra, o DDGS possui maior proporção de FI em comparação à FS. De acordo com Robin et al. (2012) as FI reduzem a expansão de cereais e aumentam a sua densidade, devido ao menor tamanho das células de ar do interior do extrusado. A redução do tamanho das células de ar ocorre pela ruptura precoce das bolhas, devido à baixa compatibilidade química entre a FI e o amido da massa. Esta alteração não foi observada entre os extrusados das diferentes dietas. É possível que estes efeitos sejam constatados em maior nível de inclusão de PNA. Em estudo realizado por Murakami et al. (2016) com alimentos para cães contendo diferentes níveis de inclusão de maçã (0, 3, 6 e 9%), não foi

encontrada nenhuma relação entre a FI e o índice de expansão e a densidade, o que corrobora os resultados encontrados no presente estudo.

Com relação às micotoxinas, todos os resultados obtidos no experimento estiveram dentro dos limites máximos toleráveis impostos pelo MAPA de acordo com a Portaria nº 130, de 24 de maio de 2006.

4.2 Coeficiente de digestibilidade aparente e características fecais

A adição de DDGS provocou tendência à redução da EM e do CDAPB e reduziu o CDA de todos os outros parâmetros avaliados. A redução no CDA da MS, MO, EEA, PB, EB e na EM ocasionada pela adição do DDGS também foi relatada por Silva et al. (2016), utilizando cães alimentados com níveis crescentes de DDGS (0, 6, 12 e 18%). Os autores correlacionaram tal redução com o aumento de PNA nas dietas. Em outros experimentos realizados com cães, também foi encontrada redução no CDAMS com a inclusão do DDGS (Allen et al., 1981; Corbin et al., 1984).

Com relação à digestibilidade proteica, Corbin et al. (1984) não relataram redução na absorção ou retenção proteica com a adição de 15,7% de DDGS, o que pode não ter sido observado no presente estudo devido à maior inclusão do ingrediente. Allen et al. (1981) em um trabalho realizado com cães adultos e inclusão crescente (0, 15 e 26%) de DDGS também não relataram redução na digestibilidade proteica, porém observaram tendência à redução do CDAPB a partir do maior nível de inclusão. Estes dados corroboram o presente estudo, no qual o CDAPB também apresentou tendência à redução com a inclusão de 20% de DDGS. No estudo de Allen et al. (1981) a EM foi reduzida com o nível mais alto de inclusão (26%) e no presente estudo também observou-se tendência à redução dessa variável.

O efeito de redução na digestibilidade do alimento pode ter ocorrido possivelmente pelo maior teor de PNA encontrado nas dietas contendo DDGS (Stein e Shurson, 2009; Silva et al., 2016). Ele também pode ser observado por meio da correlação negativa entre os CDA dos nutrientes e o FDT, encontrada no presente estudo. De acordo com Burkhalter et al. (2001), a suplementação com fibras na dieta reduz o CDA pela substituição de nutrientes digestíveis por componentes não digestíveis (PNA). Além disso, ambos os tipos de fibra (FS e FI) apresentaram correlação negativa com os CDA, indicando que, mesmo em pequena concentração, a FS contribuiu para a redução na digestibilidade. Este fenômeno também foi observado por Sabchuk et al. (2017) que relataram correlação negativa entre os CDA da MS, PB,

EEA e EB e EM com FDT, FI e FS. O mecanismo pelo qual ocorre a redução no CDA pode ser explicado pelos efeitos específicos de cada tipo de fibra sobre a digestibilidade. No caso da FI, ocorre o aumento na taxa de passagem do alimento pelo TGI, resultando em menor tempo de contato com as enzimas digestivas (Case et al., 2000). Já no caso da FS, há o aumento da viscosidade do bolo alimentar, que implica em menor interação do bolo alimentar com as enzimas digestivas (Oakenfull, 1993).

As enzimas não tiveram efeito na digestibilidade dos nutrientes e EM das dietas, o que difere da literatura encontrada para cães. Em experimento com inclusão de níveis crescentes de DDGS e adição de xilanase, Silva et al. (2016) observaram aumento nos CDA da PB, MS e MO, sendo que o CDAPB ficou semelhante ao da dieta sem o ingrediente. Estes resultados podem não ter sido observados pela diferença na concentração da enzima utilizada, sendo que no presente estudo a concentração foi menor (0,2 g/kg) do que a utilizada por Silva et al. (2016) (0,5 g/kg). Neste caso, a relação entre a concentração da enzima exógena e a quantidade de substrato pode não ter sido suficiente para apresentar efeito no CDA.

Existem diversos fatores que podem influenciar na eficácia das enzimas exógenas, tais como a fonte enzimática, processamento e variabilidade do ingrediente, interação com outros componentes da dieta e fatores intrínsecos ao animal (Bedford e Schulze, 1998). Deve-se considerar também a alta variabilidade inerente ao DDGS, em que amostras de melhor qualidade possuem menos substrato, e por consequência, apresentam menor efeito enzimático. Isso pode ser observado ao comparar os dados do presente estudo com os encontrados por Barekattain et al. (2013). Os autores utilizaram a associação das enzimas xilanase e protease em uma dieta para frangos contendo DDGS de sorgo (sDDGS) nos níveis 0, 15 e 30%. No experimento, foi observada interação entre o nível de inclusão de DDGS e a resposta à xilanase, sendo que a magnitude de resposta enzimática ocorreu de forma mais expressiva com o maior nível de inclusão do ingrediente. Isso demonstra que, em maior concentração de xilano, o efeito enzimático é mais expressivo, o que corrobora a hipótese de baixa concentração enzimática utilizada no presente estudo. O teor de xilose encontrado no DDGS utilizado no experimento de Silva et al. (2016) foi de 10,9 g/100g, ou seja, o mesmo encontrado no presente estudo. Sendo assim, a concentração de substrato do presente estudo foi maior do que a utilizada por Silva et al. (2016), uma vez que o teor de inclusão foi maior. Portanto a redução da inclusão enzimática foi suficiente para inviabilizar o efeito enzimático.

Com relação à protease isolada, Baraketain et al. (2013) afirmaram que a qualidade da proteína da dieta desempenha papel importante na magnitude da resposta enzimática. No experimento, o efeito da protease foi maior nas dietas contendo o sDDGS, indicando que proteínas de pior qualidade (do sDDGS em relação ao sorgo) apresentam melhor efeito enzimático. Isso pode indicar que o processamento térmico do DDGS utilizado neste experimento não foi excessivo, resultando em menor perda de biodisponibilidade proteica.

Por outro lado, existe outra hipótese para a atuação da protease em dietas contendo DDGS de milho. Pedersen et al. (2015) acreditam que a ação da protease no DDGS é potencializar o efeito da xilanase por meio da hidrólise dos inibidores de xilanase (tais como *Triticumaestivum* xylanase inibitor – TAXI e Xylanase inhibiting proteins – XIP) presentes no milho. Os autores relatam que a xilanase aumenta a acessibilidade às proteínas encapsuladas na parede celular, especificamente no AX, por meio da degradação deste composto. Com isso, haveria consequente abertura da estrutura da parede celular e liberação da proteína encapsulada, aumentando sua solubilização. Sendo assim, é possível que no presente experimento, a protease tenha atuado nestes inibidores de protease, porém, como a concentração de xilanase não foi suficiente, o efeito sinérgico das duas enzimas não foi observado.

Com relação à associação das enzimas xilanase e protease, Pedersen et al. (2015) constataram aumento na solubilidade proteica *in vitro* de amostras de DDGS de milho. Entretanto, a dose de protease, a purificação e a metodologia utilizadas foram diferentes daquelas aplicadas neste experimento. Em estudo realizado com frangos, a adição da protease aumentou a digestibilidade de aminoácidos e da EM em dietas contendo DDGS com xilanase e amilase (Romero et al., 2013). Estes resultados evidenciam a necessidade de testar diferentes enzimas e concentrações de xilanase e protease com o intuito de melhorar o CDA do DDGS.

A adição do DDGS provocou redução ($P < 0,05$) no pH fecal dos animais indicando possível efeito prebiótico. Este efeito também foi observado com a inclusão de 18% de DDGS em dietas para cães por Silva et al. (2016) e pode ser explicado pelo aumento na produção de AGCC totais (Kawauchi et al., 2011). Em estudo realizado por Lopez et al. (1999), avaliando dietas contendo arabinosilano (AX) (um dos principais PNA do DDGS) para ratos, também foi relatada redução do pH fecal (de 7 para 6). Os autores explicam este efeito devido ao acúmulo de AGCC no intestino dos animais, o que também ocorreu no presente estudo. A redução do pH intestinal também foi

relatada por Lu et al. (2000) em experimento com ratos recebendo dietas contendo AX. A redução do pH por meio da produção de AGCC é vista como benéfica ao organismo dos animais e acredita-se que em pH < 7,0 haja a redução da absorção de promotores de tumor, como a amônia (Visek et al., 1978).

A adição do DDGS aumentou a produção total de AGCC, indicando que houve maior fermentação intestinal. Este efeito também foi relatado por Belobrajdic et al. (2012) e Calabro et al. (2013) ao analisar dietas contendo AX. Os autores associaram este resultado à maior presença de substrato no intestino dos animais. De acordo com Toden et al. (2006), o aumento total de AGCC tem efeito de proteção contra o efeito carcinogênico da fermentação proteica, o que é benéfico em dietas para cães onde há alta inclusão de proteínas.

Dos AGCC avaliados, os ácidos acético e propiônico apresentaram aumento de produção. Em um experimento realizado com fermentação *in vitro* de AX, Hopkins et al. (2003) encontraram o mesmo efeito. Os autores associaram este resultado ao aumento das bactérias do gênero *Bacteroides*, uma vez que estas são responsáveis pela produção dos ácidos propiônico e acético. No estudo, os autores também notificaram que este gênero de bactéria apresenta preferência por degradar AX. Sendo assim, o AX estimulou o desenvolvimento do gênero *Bacteroides*, que por sua vez, produziu os ácidos propiônico e acético como metabólitos. É possível que no presente estudo tenha aumentado a concentração de acetato e propionato pelo mesmo mecanismo, porém, para assegurar esta hipótese, o perfil microbiológico das fezes dos animais deveria também ser analisado. O aumento na produção dos ácidos acético e propiônico são considerados benéficos aos animais, uma vez que estes são correlacionados respectivamente com redução da lipogênese, de níveis séricos de colesterol e de câncer e com aumento no fluxo sanguíneo da mucosa intestinal (Hosseini et al., 2011; Scheppach, 1994). Desta forma, o efeito no perfil dos AGCC fecal dos animais, causado pela adição de DDGS é benéfico e interessante para a saúde dos animais.

A MSf não foi modificada pela adição do DDGS, o que indica que o aumento do FDT não implicou em alteração na retenção hídrica nas fezes, provavelmente pelo seu caráter principalmente insolúvel. Este dado difere da literatura, em que foi relatada a redução da MSf com a inclusão do DDGS (Silva et al., 2016). Estas diferenças nos dados podem ter ocorrido pela variabilidade do DDGS usado e pela diferença na proporção de FI:FS encontrada entre eles. De acordo com Burkhalter et al. (2001) a

proporção das fibras na fonte de FDT de um alimento pode afetar as características fecais dos animais.

O escore fecal é diretamente influenciado pelo teor de umidade das fezes, e também não apresentou alterações inerentes à adição do DDGS. Esta característica também foi observada por Silva et al. (2016). Ambos os parâmetros (MSf e escore fecal) encontraram-se dentro dos níveis normais para a espécie.

As fezes dos animais alimentados com dietas contendo DDGS foram mais fétidas do que aquelas dos animais que não receberam o ingrediente. Isso pode ser explicado pelo maior teor de AGCC encontrado nas dietas contendo o ingrediente. De acordo com Yamakoshi et al. (2001), o odor fecal está associado com a presença de mercaptanos, sulfeto de hidrogênio, índole, aminas voláteis e AGCC. Para reduzir o odor fecal, pode-se testar a associação da adição de DDGS com ingredientes que contenham substâncias de efeito desodorante. Existem estudos que comprovam a eficácia da utilização de *Yucca* como aditivo na alimentação de cães com o intuito de melhorar o odor fecal destes animais (Lowe e Kershaw, 1997).

O ácido siálico, parâmetro indicativo de agressão à mucosa intestinal (Pirgozliev et al., 2005), não foi alterado pela adição de fibras provenientes do DDGS nas dietas. Tal resultado indica que o ingrediente não é nocivo à mucosa do TGI. O mesmo foi observado por Sabchuk et al. (2017) que avaliaram diferentes níveis de fibras em dietas para cães sem haver diferenças na produção do ácido siálico fecal dos animais.

O nitrogênio amoniacal fecal não foi alterado pela adição do DDGS na dieta, o que também foi relatado por Silva et al. (2016). Neste experimento, os autores não detectaram nenhuma alteração fecal ocasionada mesmo pelo maior nível de inclusão (18%) de DDGS em dietas para cães.

4.3 Ensaio de Palatabilidade

A adição de DDGS com ou sem as enzimas não interferiu na primeira escolha dos animais, diferente dos resultados encontrados na literatura. No experimento de Silva et al. (2016) os cães optaram inicialmente pelo alimento contendo 18% de DDGS.

No teste de RI para as dietas sem enzimas, a adição de 20% de DDGS não provocou diferença de palatabilidade entre as dietas. Este resultado difere da literatura para cães (Silva et al., 2016; Corbin et al., 1984). De acordo com Silva et al. (2016) a dieta contendo 18% de DDGS mostrou-se mais palatável aos cães do que aquela sem a inclusão do ingrediente. Segundo Corbin et al. (1984) a adição de 10% de DDGS

também foi capaz de aumentar a ingestão do alimento fornecido e este fenômeno foi atribuído ao alto nível de gordura presente no DDGS. Apesar do nível de EEA do DDGS ser maior do que o do milho, no presente estudo as dietas não apresentaram variação na composição química final para este nutriente. Deve-se considerar também os diferentes níveis de inclusão do ingrediente que podem ter sido responsáveis pelas diferenças de resultado encontradas entre os experimentos.

No teste de RI comparando-se as dietas 0%XP vs 20%XP os animais preferiram a dieta sem o DDGS. Somente com os dados adquiridos por este experimento não é possível atribuir esta diferença de preferência a uma causa específica, uma vez que a palatabilidade é um parâmetro extremamente complexo e influenciado por diversos fatores. Dentre os fatores que podem influenciar a palatabilidade estão as características organolépticas do alimento, imprinting social e comportamento neofílico ou neofóbico inerentes ao próprio animal (Félix et al., 2010). Sendo assim, o próprio fato dos animais terem sido alimentados previamente com as dietas testadas ou qualquer interação entre as enzimas e a composição da dieta que possa ter alterado algum destes fatores já seria capaz de alterar a palatabilidade dos alimentos. Além disso, de acordo com Félix et al. (2010) o próprio sabor de um dos alimentos pode interferir no outro dificultando a escolha do animal e mascarando os resultados. Desta forma, é necessário realizar outro estudo para buscar compreender melhor a interação entre o DDGS, as enzimas e a palatabilidade em cães.

5 CONCLUSÕES

A adição de 20% de DDGS na dieta para cães promove redução na digestibilidade da dieta sem alterar as características do extrusado. Com relação às enzimas, a adição combinada ou isolada de xilanase e protease, nas concentrações utilizadas neste experimento, não ocasionou alterações nos CDA dos nutrientes e EM das dietas ou nas características fecais dos cães. A palatabilidade do alimento é reduzida com a adição das enzimas na dieta.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, S.E.; FAHEY, G.C.; CORBIN, J.E.; PUGH, J.E.; FRANKLIN, R.A.; Evaluation of byproduct feedstuffs as dietary ingredients for dogs. **Journal of Animal Science**, v.53, p.1537-1544, 1981.

Association of American Feed Control Officials, 2004. **Dog and cat nutrient profiles**. Official Publications of the Association of American Feed Control Officials Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA.

AOAC. 1995. **Association of Official Analytical Chemists Official methods- AOAC**. 16 ed.; Arlington, VA.

BAREKATAIN, M.R.; ANTIPATIS, C.; CHOCT, M.; IJI, P.A. Interaction between protease and xylanase in broiler chicken diets containing sorghum distillers' dried grains with solubles. **Animal feed science and technology**, v. 182, n. 1, p. 71-81, 2013.

BINGHAM, S.A. Meat, starch, and nonstarch polysaccharides and large bowel cancer. **The American journal of clinical nutrition**, v. 48, n. 3, p. 762-767, 1988.

BEDFORD, M.R.; SCHULZE, H.; 1998.Exogenous enzymes for pigs and poultry, **Nutrition Research Reviews**, v.11, p.91-114.

BELOBRAJDIC, D.P.; BIRD, A.R.; CONLON, M.A.; WILLIAMS, B.A.; KANG, S.; MCSWEENEY, C.S.; TOPPING, D.L. An arabinoxylan-rich fraction from wheat enhances caecal fermentation and protects colonocyte DNA against diet-induced damage in pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 107, n. 09, p. 1274-1282, 2012.

BRASIL. Resolução RDC nº 7, de 22 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre os “**Limites máximos toleráveis (LMT) para micotoxinas em alimentos**”. Órgão emissor: ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2968262/RDC_07_2011_COMP.pdf/afe3f054-bc99-4e27-85c4-780b92e2b966. Acesso em 27 de novembro de 2016.

BRITO, C.B.M.; FÉLIX, A.P.; DE JESUS, R.M.; DE FRANÇA, M.I.; DE OLIVEIRA, S.G.; KRABBE, E.L.; MAIORKA, A. Digestibility and palatability of dog foods containing different moisture levels, and the inclusion of a mould inhibitor. **Animal feed science and technology**, v. 159, n. 3, p. 150-155, 2010.

BOLER, B.M.V.; SERAO, M.C.R.; BAUER, L.L.; STAEGER, M.A.; BOILEAU, T.W.; SWANSON, K.S.; FAHEY, G.C. Digestive physiological outcomes related to polydextrose and soluble maize fibre consumption by healthy adult men. **British journal of nutrition**, v. 106, n. 12, p. 1864-1871, 2011.

BURKHALTER, T.M.; MERCHEN, N.R.; BAUER, L.L.; MURRAY, S. M.; PATIL, A.R.; BRENT, J.L.; FAHEY, G.C. The ratio of insoluble to soluble fiber components in soybean hulls affects ileal and total-tract nutrient digestibilities and fecal characteristics of dogs. **The Journal of nutrition**, v. 131, n. 7, p. 1978-1985, 2001.

CALABRÒ, S.; CARCIOFI, A.C.; MUSCO, N.; TUDISCO, R.; GOMES, M.O.; CUTRIGNELLI, M.I. Fermentation characteristics of several carbohydrate sources for dog diets using the in vitro gas production technique. **Italian Journal of Animal Science**, v. 12, n. 1, p. 4, 2013.

CARCIOFI, A.C.; DE-OLIVEIRA, L.D.; VALÉRIO, A.G.; BORGES, L.L.; DE CARVALHO, F.M.; BRUNETTO, M.A.; VASCONCELLOS, R.S.; Comparison of micronized whole soybeans to common protein sources in dry dog and cat diets. **Animal feed science and technology**, v.151, p.251-260, 2009.

CASE, L.P., CAREY, D.P., HIRAKAWA, D.A., DARISTOTLE, L., 2000. **Canine and Feline Nutrition: A Resource for Companion Animal Professionals**, 2nd ed. Mosby, St. Louis.

CHRENKOVÁ, M.; Chrenková, M.; Čerešňáková, Z.; Formelová, Z.; Poláčiková, M.; Mlyneková, Z.; Flak, P. Chemical and nutritional characteristics of different types of DDGS for ruminants. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 663, p. 127, 2012.

CORBIN, J.; FAHEY, G.C.; PUGH, J.L.; 1984. Distillers dried grains with solubles for growing puppies. Em Distillers feed conference. **Proceedings...** p.29-34.

ENGLYST, H.; WIGGINS, H.S.; CUMMINGS, J.H. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. **Analyst**, v. 107, n. 1272, p. 307-318, 1982.

FAVA, F.; MÄKIVUOKKO, H.; SILJANDER-RASI, H.; PUTAALA, H.; TIIHONEN, K.; STOWELL, J.; RAUTONEN, N. Effect of polydextrose on intestinal microbes and immune functions in pigs. **British journal of nutrition**, v. 98, n. 01, p. 123-133, 2007.

FÉLIX, A.P.; OLIVEIRA, S.G.; MAIORKA, A.; **Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães e gatos**, Em: Vieira S.L.; 1^o Ed.; Consumo e Preferência alimentar dos animais domésticos. PhytobioticsBrasil, Londrina, p. 162-199, 2010.

HOPKINS, M.J.; ENGLYST, H.N.; MACFARLANE, S.; FURRIE, E.; MACFARLANE, G.T.; MCBAIN, A.J. Degradation of cross-linked and non-cross-linked arabinoxylans by the intestinal microbiota in children. **Applied and environmental microbiology**, v. 69, n. 11, p. 6354-6360, 2003.

HOSSEINI, E.; GROOTAERT, C.; VERSTRAETE, W.; VAN DE WIELE, T. Propionate as a health-promoting microbial metabolite in the human gut. **Nutrition Reviews**, v. 69, n. 5, p. 245-258, 2011.

JOURDIAN, G.W.; DEAN, L.; ROSEMAN, S.; The sialic acids XI. A periodate-resorcinol method for the quantitative estimation of free sialic acids and their glycosides. **Journal of Biological Chemistry**, v.246, p.430-435, 1971.

KAWAUCHI, I.M.; SAKOMURA, N.K.; VASCONCELLOS, R.S.; DE-OLIVEIRA, L.D.; GOMES, M.O.S.; LOUREIRO, B.A.; CARCIOFI, A.C. Digestibility and metabolizable

energy of maize gluten feed for dogs as measured by two different techniques. **Animal feed science and technology**, v.169, n.1, p.96-103, 2011.

LOPEZ, H.W.; LEVRAT, M.A.; GUY, C.; MESSENGER, A.; DEMIGNÉ, C.; RÉMÉSY, C. Effects of soluble corn bran arabinoxylans on cecal digestion, lipid metabolism, and mineral balance (Ca, Mg) in rats. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 10, n. 9, p. 500-509, 1999.

LOWE, J.A.; KERSHAW, S.J. The ameliorating effect of *Yucca schidigera* extract on canine and feline faecal aroma. **Research in veterinary science**, v. 63, n. 1, p. 61-66, 1997.

LU, Z.X.; GIBSON, P.R.; MUIR, J.G.; FIELDING, M.; O'DEA, K. Arabinoxylan fiber from a by-product of wheat flour processing behaves physiologically like a soluble, fermentable fiber in the large bowel of rats. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 8, p. 1984-1990, 2000.

Ministério da agricultura pecuária e abastecimento (MAPA). **Portaria nº 130, de 24 de maio de 2006**. Disponível em:<http://www.lamic.ufsm.br/MAPA.pdf>. Acesso em 24/12/2016.

MONTI, M. **Fibra para cães: efeitos sobre o processo de extrusão, digestibilidade, fermentação microbiana, tempo de retenção intestinal e palatabilidade de rações para cães**. Dissertação (mestrado em ciências veterinárias) – Programa de pós graduação em ciências veterinárias da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP Jaboticabal 2015.

MURAKAMI, F.Y.; BRITO, C.B.M.; RISOLIA, L.W.; SKROBOT, K.; FÉLIX, A.P.; OLIVEIRA, S. G. Efeito da fibra solúvel sobre as variáveis de extrusão e características do extrusado para cães. In: XV Congresso Brasileiro de Nutrição Animal Pet - CBNA Pet, 2016, Campinas. **Anais...**

Nacional Research Council - NRC. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. National Academy Press: Washington, DC, USA, p. 426, 2006.

NUEZ ORTÍN, W.G.; YU, P. Nutrient variation and availability of wheat DDGS, corn DDGS and blend DDGS from bioethanol plants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.89, p.1754-1761, 2009.

OAKENFULL, D.G., 1993. **Physical properties of dietary fibre**. In: Samman, S., Anison, G. (Eds.), *Dietary Fibre and Beyond — Australian Perspective*, vol. 1. Nutrition Society Australian Occasional, pp. 47–56.

ONWULATA, C.I.; KONSTANCE, R.P.; SMITH, P.W.; HOLSINGER, V.H.; Co-extrusion of dietary fiber and milk proteins in expanded corn products. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v.34, p.424-429, 2001.

PEDERSEN, M.B.; DALSGAARD, S.; KNUDSEN, K. B.; YU, S.; LÆRKE, H.N.; Compositional profile and variation of distillers dried grains with solubles from various

origins with focus on non-starch polysaccharides. **Animal Feed Science and Technology**, v.197, p.130-141, 2014.

PEDERSEN, M.B.; DALSGAARD, S.; ARENT, S.; LORENTSEN, R.; KNUDSEN, K.E.B.; YU, S.; LÆRKE, H.N.; Xylanase and protease increase solubilization of non-starch polysaccharides and nutrient release of corn-and wheat distillers dried grains with solubles. **Biochemical Engineering Journal**, v.98,p.99-106, 2015.

REFAT, B.; ANELE, U.; HE, Z.X.; BASSIONY, S.M.; ABDEL-RAHMAN, G.A.; YANG, W.Z. Effect of sainfoin hay and pomegranate peel extracts on in vitro fermentation and protein degradation using the RUSITEC technique. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 95, n. 3, p. 417-423, 2015.

ROMERO, L.F.; PARSONS, C.M.; UTTERBACK, P.L.; PLUMSTEAD, P.W.; RAVINDRAN, V.; Comparative effects of dietary carbohydrases without or with protease on the ileal digestibility of energy and amino acids and AME n in young broilers. **Animal Feed Science And Technology**, v.181, p.35-44, 2013.

SABCHUK, T.T.; LOWNDES, F.G.; SCHERAIBER, M.; SILVA, L.P.; FÉLIX, A.P.; MAIORKA, A.; OLIVEIRA, S.G. Effect of soya hulls on diet digestibility, palatability, and intestinal gas production in dogs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 225, p. 134-142, 2017.

SCHEPPACH, W. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. **Gut**, v. 35, n. 1 Suppl, p. 35-38, 1994.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002, p. 235.

SILVA, J.R.; SABCHUK, T.T.; LIMA, D.C.; FÉLIX, A.P.; MAIORKA, A.; OLIVEIRA, S.G.; Use of distillers dried grains with solubles (DDGS), with and without xylanase. **Animal Feed Science and Technology**, v.220, p.136-142, 2016.

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**, v.80, p.2639-2645, 2002.

STEIN, H. H.; SHURSON, G.C. Board-invited review: The use and application of distillers dried grains with solubles in swine diets. **Journal of Animal Science**, v.87, n.4, p.1292-1303, 2009.

TODEN, S.; BIRD, A.R.; TOPPING, D.L.; CONLON, M.A. Resistant starch prevents colonic DNA damage induced by high dietary cooked red meat or casein in rats. **Cancer biology & therapy**, v. 5, n. 3, p. 267-272, 2006.

VICAM. **Deoxynivalenol (DON) Testing Solutions**, 2013. DONTest HPLC [Internet]. Disponível em: <http://vicam.com/don-test-kits>. Acessado em 12/12/2016.

WISEK, Willard J. Diet and cell growth modulation by ammonia. **The American journal of clinical nutrition**, v. 31, n. 10, p. S216-S220, 1978.

YAMAKOSHI, J.; TOKUTAKE, S.; KIKUCHI, M.; KUBOTA, Y.; KONISHI, H.; MITSUOKA, T. Effect of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds on human fecal flora and fecal odor. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v. 13, n. 1, p. 25-31, 2001.

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**, v.87, p.103-114, 2007.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O DDGS é bastante usado na nutrição animal em países onde há grande oferta deste ingrediente. No Brasil sua disponibilidade ocorre na entressafra da cana-de-açúcar e seu baixo custo de aquisição associado à boa qualidade nutricional também o torna atrativo para esta indústria.

A composição deste ingrediente é favorável, pois combina elevado teor de PB com os benefícios funcionais das fibras alimentares e dos AGCC. Desta forma, o uso deste ingrediente é bastante visado pela indústria de alimentos para animais de companhia, onde a busca por ingredientes de boa qualidade que reduzam o custo da formulação é cada vez maior.

Com o intuito de melhorar a digestibilidade do DDGS pode-se associar seu uso a enzimas exógenas. A xilanase e a protease são potencialmente eficazes, porém é necessário determinar a concentração enzimática ideal capaz de melhorar o CDA do ingrediente e se os ingredientes utilizados apresentam quantidade de substrato que justifique a adição das enzimas. Para que esta prática seja adotada pelas empresas deve-se realizar a avaliação da viabilidade econômica desta substituição.

O uso do DDGS na nutrição de cães pode ser empregado nas categorias standard, econômica e, eventualmente, na premium, pois elas aceitam alterações na composição da formulação ao longo do ano. Com relação à indicação de categoria, este ingrediente pode ser usado para animais em manutenção e no tratamento de obesidade, uma vez que este grupo é beneficiado pelo elevado teor de fibras do ingrediente.

Por fim, conclui-se que o DDGS pode ser usado com sucesso na nutrição de cães. Porém, para melhorar seu aproveitamento com a associação enzimática deve-se determinar a sua melhor concentração e as possíveis interações em relação à quantidade de substrato necessária para ação enzimática nas dietas formuladas.

Referências bibliográficas do trabalho

ALLEN, S.E.; FAHEY, G.C.; CORBIN, J.E.; PUGH, J.L.; FRANKLIN, R.A. Evaluation of byproduct feedstuffs as dietary ingredients for dogs. **Journal of Animal Science**. v.53, n.6, p.1538-1544, 1981.

AOAC Association of American Feed Control Officials, 1995. **Dog and cat nutrient profiles**. Official Publications of the Association of American Feed Control Officials Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA.

AOAC Association of American Feed Control Officials, 2004. **Dog and cat nutrient profiles**. Official Publications of the Association of American Feed Control Officials Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA.

AVELAR, E.; JHA, R.; BELTRANENA, E.; CERVANTES, M.; MORALES, A.; ZIJLSTRA, R. T. The effect of feeding wheat distillers dried grain with solubles on growth performance and nutrient digestibility in weaned pigs. **Animal Feed Science and Technology**. v.160, n.1, p.73-77, 2010.

BACH KNUDSEN, K.E.; JØRGENSEN, H.; LINDBERG, J.E.; OGLE, B. Intestinal degradation of dietary carbohydrates—from birth to maturity. In: Digestive physiology in pigs. Proceedings of the 8th Symposium, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, **Anais...** CABI Publishing.p.109-120, 2000.

BALAT, M.; BALAT, H. Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. **Applied energy**, v.86, n.11, p.2273-2282, 2009.

BAREKATAIN, M.R.; ANTIPATIS, C.; CHOCT, M.; IJI, P.A. Interaction between protease and xylanase in broiler chicken diets containing sorghum distillers' dried grains with solubles. **Animal feed science and technology**, v. 182, n. 1, p. 71-81, 2013.

BAREKATAIN, M.R.; CHOCT, M.; ANTIPATIS, C. Use of protease and xylanase in broiler diets containing distillers' dried grains with solubles. In ANNUAL AUSTRALIAN POULTRY SCIENCE SYMPOSIUM, 23., 2012, Sidney. **Anais...**Sidney, 2012.p.65.

BARLETTA, A.; BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G. G. Introduction: current market and expected developments. in: Bedford, M.R.; PARTRIDGE, G.G., 2.Ed, **Enzymes in farm animal nutrition**, CAB International, Wiltshire, 2011, p.1-11.

BATAL, A.B.; DALE, N.M. True metabolizable energy and amino acid digestibility of distillers dried grains with solubles. **Journal of Applied Poultry Research**, v.15: p.89-93, 2006.

BAUER J.E.; MASKELL I.E. Fibres alimentaires: perspectives cliniques. In: Simpson, K.W.; Willis, J.M. **Le livre Waltham de la nutrition clinique du chien et du chat**. 1. Ed. Point Vétérinaire, 1996, Cap. 7, p.77-90.

BEDFORD, M.R. Exogenous enzymes in nonruminant nutrition—Their current value and future benefits. **Animal Feed Science and Technology**, v.86, p.1–13, 2000.

BEDFORD, M.R.; SCHULZE, H.; 1998.Exogenous enzymes for pigs and poultry, **Nutrition Research Reviews**, v.11, p.91-114.

BELLES, A.M.; MONTVILLE, T.J.; WASSERMAN, B.P. Enzymatic removal of zeins from the surface of maize starch granules. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.24, n.1, p.71-74, 2000.

BELOBRAJDIC, D.P.; BIRD, A.R.; CONLON, M.A.; WILLIAMS, B.A.; KANG, S.; MCSWEENEY, C.S.; TOPPING, D.L. An arabinoxylan-rich fraction from wheat enhances caecal fermentation and protects colonocyte DNA against diet-induced damage in pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 107, n. 09, p. 1274-1282, 2012.

BELYEA, R.L.; RAUSCH, K.D.; TUMBLESON, M.E. Composition of corn and distillers dried grains with solubles from dry grind ethanol processing. **Bioresource technology**, v. 94, n. 3, p. 293-298, 2004.

BINGHAM, S.A. Meat, starch, and nonstarch polysaccharides and large bowel cancer. **The American journal of clinical nutrition**, v. 48, n. 3, p. 762-767, 1988.

BOLER, B.M.V.; SERAO, M.C.R.; BAUER, L.L.; STAEGER, M.A.; BOILEAU, T.W.; SWANSON, K.S.; FAHEY, G.C. Digestive physiological outcomes related to polydextrose and soluble maize fibre consumption by healthy adult men. **British journal of nutrition**, v. 106, n. 12, p. 1864-1871, 2011.

BRITO, C.B.M.; FÉLIX, A.P.; DE JESUS, R.M.; DE FRANÇA, M.I.; DE OLIVEIRA, S.G.; KRABBE, E.L.; MAIORKA, A.Digestibility and palatability of dog foods containing different moisture levels, and the inclusion of a mould inhibitor. **Animal feed science and technology**, v. 159, n. 3, p. 150-155, 2010.

BURKHALTER, T.M.; MERCHEN, N.R.; BAUER, L.L.; MURRAY, S. M.; PATIL, A.R.; BRENT, J.L.; FAHEY, G.C. The ratio of insoluble to soluble fiber components in soybean hulls affects ileal and total-tract nutrient digestibilities and fecal characteristics of dogs. **The Journal of nutrition**, v. 131, n. 7, p. 1978-1985, 2001.

CAINE, W.R.; VERSTEGEN, M.W.A.; SAUER, W.C.; TAMMINGA, S.; SCHULZE, H. Effect of protease treatment of soybean meal on content of total soluble matter and crude protein and level of soybean trypsin inhibitors. **Animal feed Science and technology**, v.71, n.1, p.177-183, 1998.

CALABRÒ, S.; CARCIOFI, A.C.; MUSCO, N.; TUDISCO, R.; GOMES, M.O.; CUTRIGNELLI, M.I. Fermentation characteristics of several carbohydrate sources for dog diets using the in vitro gas production technique. **Italian Journal of Animal Science**, v. 12, n. 1, p. 4, 2013.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V.T. M.; APPELT, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.254-267, 2005.

CARCIOFI, A.C.; DE-OLIVEIRA, L.D.; VALÉRIO, A.G.; BORGES, L.L.; DE CARVALHO, F.M.; BRUNETTO, M.A.; VASCONCELLOS, R.S.; Comparison of micronized whole soybeans to common protein sources in dry dog and cat diets. **Animal feed science and technology**,v.151,p.251-260, 2009.

CASE, L.P., CAREY, D.P., HIRAKAWA, D.A., DARISTOTLE, L., 2000. **Canine and Feline Nutrition: A Resource for Companion Animal Professionals**, 2nd ed. Mosby, St. Louis.

CHANDALIA, M.; GARG, A.; LUTJOHANN, D.; VON BERGMANN, K.; GRUNDY, S.M.; BRINKLEY, L.J. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. **New England Journal of Medicine**, v.342, n.19, p.1392-1398, 2000.

CHEVANAN, N.; ROSENTRATER, K.A.; MUTHUKUMARAPPAN, K. Effects of processing conditions on single screw extrusion of feed ingredients containing DDGS. **Food and Bioprocess Technology**, v.3, n.1, p.111-120, 2010.

CHOCT, M. Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World's Poultry Science Journal**, v.62, n.1, p.5-16, 2006.

CHRENKOVÁ, M.; Chrenková, M.; Čerešňáková, Z.; Formelová, Z.; Poláčíková, M.; Mlyneková, Z.; Fřak, P. Chemical and nutritional characteristics of different types of DDGS for ruminants. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 663, p. 127, 2012.

COLLINS, T.; GERDAY, C.; FELLER, G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. **FEMS microbiology reviews**, v.29, n.1, p.3-23, 2005.

CONAB – **Companhia Nacional de Abastecimento**. 2012. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_03_28_12_11_19_007a-12_-_proc_simplificado_-_prod_etanol_-_milho_-_mt.pdf. Acesso em: 27 abr.2016.

CORBIN, J.; FAHEY, G.C.; PUGH, J.L.; 1984. Distillers dried grains with solubles for growing puppies. Em Distillers feed conference. **Proceedings...** p.29-34.

CORBIN, J.; FAHEY, G.C.J.; PUGH, J.L. Distillers dried grains with solubles in digestibility tests with dogs. Em: DFRC, Conference Proceedings. Distillers Feed Research Council, 1980, Illinois. **Anais...** Illinois, US, p.29-34.

COWIESON, A.J.; HRUBY, M.; PIERSON, E.E.M. Evolving enzyme technology: impact on commercial poultry nutrition. **Nutrition research reviews**, v.19, n.1, p.90-103, 2006.

CROMWELL, G.L.; HERKELMAN, K.L.; STAHLY, T.S. Physical, chemical, and nutritional characteristics of distillers dried grains with solubles for chicks and pigs. **Journal of Animal Science**, v.71, p.679-686, 1993.

CUEVAS, A.C.; CARRILLO, C.A.E.; ELIZALDE, G.S. El uso de granos secos de destilería insolubles (DDGS) em dietas sorgo - soya para pollos de engorda y gallinas de postura. **Revista Mexicana de Ciências Pecuárias**, v.3, n.3, p.331-341, 2012.

DESJARDINS, A.E. **Fusarium Mycotoxins: Chemistry, Genetics, and Biology**. American Phytopathological Society Press; St. Paul, MN, USA, 2006, p.260.

EL KHOURY, D.; CUDA, C.; LUHOVYY, B.L.; ANDERSON, G.H. Beta glucan: health benefits in obesity and metabolic syndrome. **Journal of nutrition and metabolism**, v.2012, 2011.

ELLEUCH, M.; BEDIGIAN, D.; ROISEUX, O.; BESBES, S.; BLECKER, C.; ATTIA, H. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. **Food chemistry**, v. 124, n. 2, p. 411-421, 2011.

ENGLYST, H.; WIGGINS, H.S.; CUMMINGS, J.H. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. **Analyst**, v. 107, n. 1272, p. 307-318, 1982.

FASTINGER, N.D.; 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**, v.85, p.1212–1216, 2006.

FAVA, F.; MÄKIVUOKKO, H.; SILJANDER-RASI, H.; PUTAALA, H.; TIIHONEN, K.; STOWELL, J.; RAUTONEN, N. Effect of polydextrose on intestinal microbes and immune functions in pigs. **British journal of nutrition**, v. 98, n. 01, p. 123-133, 2007.

FÉLIX, A.P.; OLIVEIRA, S.G.; MAIORKA, A.; **Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães e gatos**, Em: Vieira S.L.; 1^o Ed.; Consumo e Preferência alimentar dos animais domésticos. PhytobioticsBrasil, Londrina, p. 162-199, 2010.

HANSON, A.R.; XU, G.; LI, M. Impact of dried distillers grains with solubles (DDGS) and diet formulation method on dry matter, calcium, and phosphorus retention and excretion in nursery pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.172, n.3, p.187-193, 2012.

HILL, G.M.; LINK, J.E.; RINCKER, M.J.; KIRKPATRICK, D.L.; GIBSON, M.L.; KARGES, K. Utilization of distillers dried grains with solubles and phytase in sow lactation diets to meet the phosphorus requirement of the sow and reduce fecal phosphorus concentration. **Journal of Animal Science**, v.86, n.1, p.112-118, 2008.

HOPKINS, M.J.; ENGLYST, H.N.; MACFARLANE, S.; FURRIE, E.; MACFARLANE, G.T.; MCBAIN, A.J. Degradation of cross-linked and non-cross-linked arabinoxylans by the intestinal microbiota in children. **Applied and environmental microbiology**, v. 69, n. 11, p. 6354-6360, 2003.

HOSSEINI, E.; GROOTAERT, C.; VERSTRAETE, W.; VAN DE WIELE, T. Propionate as a health-promoting microbial metabolite in the human gut. **Nutrition Reviews**, v. 69, n. 5, p. 245-258, 2011.

HOWARTH, N.C.; SALTZMAN, E.; ROBERTS, S.B. Dietary fiber and weight regulation. **Nutrition reviews**, v.59, n.5, p.129-139, 2001.

JOURDIAN, G.W.; DEAN, L.; ROSEMAN, S.; The sialic acids XI. A periodate-resorcinol method for the quantitative estimation of free sialic acids and their glycosides. **Journal of Biological Chemistry**, v.246, p.430-435, 1971.

KAWAUCHI, I.M.; SAKOMURA, N.K.; VASCONCELLOS, R.S.; DE-OLIVEIRA, L.D.; GOMES, M.O.S.; LOUREIRO, B.A.; CARCIOFI, A.C. Digestibility and metabolizable energy of maize gluten feed for dogs as measured by two different techniques. **Animal feed science and technology**, v.169, n.1, p.96-103, 2011.

KHATIBI, P.A.; MCMASTER, N.J.; MUSSER, R.; SCHMALE, D.G. Survey of Mycotoxins in Corn Distillers' Dried Grains with Solubles from Seventy-Eight Ethanol Plants in Twelve States in the U.S. in 2011., **Toxins**, v.6, n.4, p.1155–1168, 2014.

KUNZMANN, A.T.; COLEMAN, H.G.; HUANG, W.Y.; KITAHARA, C.M.; CANTWELL, M.M.; BERNDT, S.I. Dietary fiber intake and risk of colorectal cancer and incident and recurrent adenoma in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial. **The American journal of clinical nutrition**, p.1-29, 2015.

LINNEEN, S.K.; DEROUCHÉY, J.M.; DRITZ, S.S.; GOODBAND, R.D.; TOKACH, M.D.; NELSSON, J.L. Effects of dried distillers grains with solubles on growing and finishing pig performance in a commercial environment. **Journal of animal science**, v. 86, n.7, p.1579-1587, 2008.

LITZ, F.H.; ABREU FERNANDES, E.; PIMENTA, C.C. Avaliação bromatológica e digestibilidade "in vitro" de rações para bovinos formuladas com coprodutos da indústria do milho e do ácido cítrico. **Veterinária Notícias**, v.20, n.2, p.42-47, 2015.

LIU, N.; RU, Y.J.; TANG, D.F. Effects of corn distillers dried grains with solubles and xylanase on growth performance and digestibility of diet components in broilers. **Animal Feed Science and Technology**, v.163, n.2, p.260-266, 2011.

LOAR, R.E.; SRINIVASAN, R.; KIDD, M.T. Effects of elutriation and sieving processing (Elusieve) of distillers dried grains with soluble on the performance and carcass characteristics of male broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v.18, p.494-500, 2009.

LOPEZ, H.W.; LEVRAT, M.A.; GUY, C.; MESSENGER, A.; DEMIGNÉ, C.; RÉMÉSY, C. Effects of soluble corn bran arabinoxylans on cecal digestion, lipid metabolism, and mineral balance (Ca, Mg) in rats. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 10, n. 9, p. 500-509, 1999.

LOWE, J.A.; KERSHAW, S.J. The ameliorating effect of *Yucca schidigera* extract on canine and feline faecal aroma. **Research in veterinary science**, v. 63, n. 1, p. 61-66, 1997.

LU, Z.X.; GIBSON, P.R.; MUIR, J.G.; FIELDING, M.; O'DEA, K. Arabinoxylan fiber from a by-product of wheat flour processing behaves physiologically like a soluble, fermentable fiber in the large bowel of rats. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 8, p. 1984-1990, 2000.

LUMPKINS, B.S.; BATAL, A. B. The bioavailability of lysine and phosphorus in distillers dried grains with solubles. **Poultry Science**, v.84, n.4, p.581-586, 2005.

MAZIERO, M.T.; BERSOT, L.D.S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.12, n.1, p.89-99, 2010.

MENEGHETTI, C.C.; DOMINGUES, J.L. Características nutricionais e uso de subprodutos da agroindústria na alimentação de bovinos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.5, n.2, p.512-536, 2008.

Ministério da agricultura pecuária e abastecimento (MAPA). **Portaria nº 130, de 24 de maio de 2006**. Disponível em: <http://www.lamic.ufsm.br/MAPA.pdf>. Acesso em 24/12/2016.

Ministério da agricultura pecuária e abastecimento (MAPA). **Portaria nº 130, de 24 de maio de 2006**. Disponível em: <http://www.lamic.ufsm.br/MAPA.pdf>. Acesso em 24/12/2016.

MIROCHA, C.J.; ABBAS, H.K.; WINDELS, C.E. Variation in deoxynivalenol, 15-acetyldeoxynivalenol, 3-acetyldeoxynivalenol, and zearalenone production by *Fusarium graminearum* isolates. **Applied and Environmental Microbiology**, v.55, p.1315–1316, 1989.

MONTI, M. **Fibra para cães: efeitos sobre o processo de extrusão, digestibilidade, fermentação microbiana, tempo de retenção intestinal e palatabilidade de rações para cães**. Dissertação (mestrado em ciências veterinárias) – Programa de pós graduação em ciências veterinárias da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP Jaboticabal 2015.

MORETINI, C.A.; LIMA, J.A.D.F.; FIALHO, E.T. Avaliação nutricional de alguns alimentos para eqüinos por meio de ensaios metabólicos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.3, p.621-626, 2015.

MURAKAMI, F.Y.; BRITO, C.B.M.; RISOLIA, L.W.; SKROBOT, K.; FÉLIX, A.P.; OLIVEIRA, S. G. Efeito da fibra solúvel sobre as variáveis de extrusão e características do extrusado para cães. In: XV Congresso Brasileiro de Nutrição Animal Pet - CBNA Pet, 2016, Campinas. **Anais...**

NACIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. National Academy Press: Washington, DC, USA, 2009, p.426.

Nacional Research Council - NRC. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. National Academy Press: Washington, DC, USA, p. 426, 2006.

NOLL, S.L.; BRANNON, J.; PARSONS, C. Nutritional value of corn Distiller Dried Grains with solubles (DDGs): Influence of solubles addition. **Poultry Science**, v.86, p.68-68, 2007.

NUEZ ORTÍN, W.G.; YU, P. Nutrient variation and availability of wheat DDGS, corn DDGS and blend DDGS from bioethanol plants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.89, p.1754-1761, 2009.

OAKENFULL, D.G., 1993. **Physical properties of dietary fibre**. In: Samman, S., Anison, G. (Eds.), *Dietary Fibre and Beyond — Australian Perspective*, vol. 1. Nutrition Society Australian Occasional, pp. 47–56.

ONWULATA, C.I.; KONSTANCE, R.P.; SMITH, P.W.; HOLSINGER, V.H.; Co-extrusion of dietary fiber and milk proteins in expanded corn products. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v.34, p.424-429, 2001.

PAIVA, D.A.S.F.; FURLANETOII, B.; CABELLO, C. Estudo energético da produção de biocombustível a partir do milho. **Ciência Rural**, v.40, n.9, p.2017-2022, 2010.

PEDERSEN, C.; BOERSMA, M.G.; STEIN, H. H. Digestibility of energy and phosphorus in ten samples of distillers dried grains with solubles fed to growing pigs. **Journal of animal science**, v.85, n.5, p.1168-1176, 2007.

PEDERSEN, M.B.; DALSGAARD, S.; KNUDSEN, K. B.; YU, S.; LÆRKE, H.N.; Compositional profile and variation of distillers dried grains with solubles from various origins with focus on non-starch polysaccharides. **Animal Feed Science and Technology**, v.197, p.130-141, 2014.

PEDERSEN, M.B.; DALSGAARD, S.; ARENT, S.; LORENTSEN, R.; KNUDSEN, K.E.B.; YU, S.; LÆRKE, H.N. Xylanase and protease increase solubilization of non-starch polysaccharides and nutrient release of corn-and wheat distillers dried grains with solubles. **Biochemical Engineering Journal**, v.98, p.99-106, 2015.

PERRY J.R.; YING W.A Review of Physiological Effects of Soluble and Insoluble Dietary Fibers. **Journal Nutrition Food Sciences** v.6, p.1-6, 2016.

PESTKA, J.J. Deoxynivalenol: Mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. **Archives of Toxicology**, v.84, p.663–679, 2010.

PROBERT, C.S.J.; EMMETT, P.M.; HEATON, K.W. Some determinants of whole-gut transit time: a population based study. **QJM: An International Journal of Medicine**, v.88, p.311–315, 1995.

REFAT, B.; ANELE, U.; HE, Z.X.; BASSIONY, S.M.; ABDEL-RAHMAN, G.A.;YANG, W.Z.Effect of sainfoin hay and pomegranate peel extracts on in vitro fermentation and protein degradation using the RUSITEC technique. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 95, n. 3, p. 417-423, 2015.

RIEMENSPERGER, A., AMERAH, A.; SWANN, D. Body weight gain, feed intake and feed conversion ratio in turkeys from day 1-84.Em: Turkey science and production conference.7th, 2013, **Anais...Utkinton,2013**, p.74-76.

ROBINSON, P.H.; KARGES, K.; GIBSON, M. L. Nutritional evaluation of four co-product feedstuffs from the motor fuel ethanol distillation industry in the Midwestern USA. **Animal Feed Science and Technology**, v.146, p.345-352, 2008.

ROEDIGER, W.E.W. The effect of bacterial metabolism on the nutrition and function of the colon mucosa: a symbiosis between man and bacteria. In: H. Goebbel; H. Kaspar; **Colon and nutrition**. 1. Ed. Lancaster: M.T.P. Press, 1982, p.11-26.

ROMERO, L.F.; PARSONS, C.M.; UTTERBACK, P.L.; PLUMSTEAD, P.W.; RAVINDRAN, V. Comparative effects of dietary carbohydrases without or with protease on the ilealdigestibility of energy and amino acids and AME n in young broilers. **Animal feed science and technology**, v.181, n.1, p.35-44, 2013.

SABCHUK, T.T.; LOWNDES, F.G.; SCHERAIBER, M.; SILVA, L.P.; FÉLIX, A.P.; MAIORKA, A.; OLIVEIRA, S.G. Effect of soya hulls on diet digestibility, palatability, and intestinal gas production in dogs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 225, p. 134-142, 2017.

SALIM, H.M.; KRUK, Z.A.; LEE, B.D. Nutritive value of corn distillers dried grains with solubles as an ingredient of poultry diets: a review. **World's Poultry Science Journal**, v.66, p.411-432, 2010.

SCHEPPACH, W. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. **Gut**, v.35, p.35-38, 1994.

SCHILLING, M.W.; BATTULA V.; LOAR, R.E.; JACKSON V.; KIN K.; CORZO A. Dietary inclusion level effects of distillers dried grains with solubles on broiler meat quality. **Poultry Science**, v.89, n.4, p.752-760, 2010.

SCUSSEL, V. M. **Fungos em grãos armazenados**. Em: Armazenagem de grãos, I.; Miike, L. H. & Scussel, V. M. 1.ed. Campinas: Instituto Biogeneziz, 2002, p.675-691.

SHURSON, J.; ALHAMDI, A. S. **Quality and new technologies to create corn co-products from ethanol production**. SHURSON, J.; ALHAMDI, A. S; In: Using Distillers Grains in the US and International Livestock and Poultry Industries. p. 231-256, 2008.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos) 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002, p. 235.

SILVA, J.R.; NETTO, D.P.; SCUSSEL, V.M. Grãos secos de destilaria com solúveis, aplicação em alimentos e segurança: Revisão. **PUBVET**, v.10, n.3, p.257-270, 2016.

SILVA, J.R.; SABCHUK, T.T.; LIMA, D.C.; FÉLIX, A.P.; MAIORKA, A.; OLIVEIRA, S.G.; Use of distillers dried grains with solubles (DDGS), with and without xylanase. **Animal Feed Science and Technology**, v.220, p.136-142, 2016.

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**, v.80, p.2639-2645, 2002.

STEIN H.H.; GIBSON, M.L.; PEDERSEN, C. Amino acid and energy digestibility in ten samples of distillers dried grain with solubles fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.84, p.853-860, 2006.

STEIN, H. H.; SHURSON, G.C. Board-invited review: The use and application of distillers dried grains with solubles in swine diets. **Journal of Animal Science**, v.87, n.4, p.1292-1303, 2009.

ŚWIĄTKIEWICZ, M.; HANCZAKOWSKA, E.; OLSZEWSKA, A. Effect of corn distillers dried grains with solubles (DDGS) in diets with NSP-hydrolyzing enzymes on growth performance, carcass traits and meat quality of pigs. **Annals of Animal Science**, v.13, n.2, p.313-326, 2013.

TIMOFIECSYK, F. R.; PAWLOWSKY, U. Minimização de resíduos na indústria de alimentos: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.18, n.2, 2000.

TJARDES, J.; WRIGHT, C, **Feeding corn distiller's co-products to beef cattle**, 2002. Disponível em: <http://agbiopubs.sdstate.edu/articles/ExEx2036.pdf>. Acesso em 23/04/2016.

TODEN, S.; BIRD, A.R.; TOPPING, D.L.; CONLON, M.A. Resistant starch prevents colonic DNA damage induced by high dietary cooked red meat or casein in rats. **Cancer biology & therapy**, v. 5, n. 3, p. 267-272, 2006.

TOPPING, D.L.; CLIFTON, P.M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiological reviews**, v.81, n.3, p.1031-1064, 2001.

U.S. Grain Council. 2012. **A guide to Distiller's Dried Grains with Solubles (DDGS)**. Primeira edição. Disponível em: <http://www.grains.org/sites/default/files/ddgs-handbook/Complete%202012%20DDGS%20Handbook.pdf>. Acesso em 23/12/2015.

URRIOLA, P.E.; SHURSON, G.C.; STEIN, H.H. Digestibility of dietary fiber in distillers coproducts fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.88, n.7, p.2373-2381, 2010.

VASCONCELOS, T.S. **Resíduo de abacaxi em programa de restrição alimentar qualitativa para suínos pesados**. 2014. Dracena 54p. Dissertação (Mestrado em ciência e tecnologia animal) – Programa de pós graduação em ciência e tecnologia animal Universidade Estadual Paulista.

VICAM. **Deoxynivalenol (DON) Testing Solutions**, 2013. DONTest HPLC [Internet]. Disponível em: <http://vicam.com/don-test-kits>. Acessado em 12/12/2016.

VISEK, Willard J. Diet and cell growth modulation by ammonia. **The American journal of clinical nutrition**, v. 31, n. 10, p. S216-S220, 1978.

WALDROUP, P.W.; WANG, Z.; COTO, C. Development of a standardized nutrient matrix for corn distillers dried grains with soluble. **Internacional Journal of Poultry Science**, v.6, p.478-483, 2007.

WANG, Z.; CERRATE, S.; COTO, C. Utilization of distillers dried grains with solubles (DDGS) in broiler diets using a standardized nutrient matrix. **International Journal Poultry Science**, v.6, n.7, p.470-477, 2007.

WHITNEY, M.H.; SHURSON, G.C. Availability of phosphorus in distillers dried grains with solubles for growing swine. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1-8, 2001.

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**, v.87, n.1, p.103-114, 2007.

WU F.; MUNKVOLD G.P. Mycotoxins in ethanol co-products: Modeling economic impacts on the livestock industry and management strategies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p.3900–3911, 2008.

WU-HAAN, W.; POWERS, W.; ANGEL, R. The use of distillers dried grains plus solubles as a feed ingredient on air emissions and performance from laying hens. **Poultry Science**, v.89, n.7, p.1355-1359, 2010.

YAMAKOSHI, J.; TOKUTAKE, S.; KIKUCHI, M.; KUBOTA, Y.; KONISHI, H.; MITSUOKA, T. Effect of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds on human fecal flora and fecal odor. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v. 13, n. 1, p. 25-31, 2001.

ZHANG, Y.; CAUPERT, J.; RICHARD, J.; IMERMAN, P.; SHURSON, J. The occurrence and concentration of mycotoxins in US distillers dried grains with solubles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, n.20, p.9828-9837, 2009.

ZHANG, Y.; CAUPERT. Survey of mycotoxins in US distiller's dried grains with solubles from 2009 to 2011. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, p.539-545, 2012.