

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**UTILIZAÇÃO DE *Saccharomyces cerevisiae* E DO BAGAÇO
DE MALTE SECO NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS
LEITEIROS**

Autora: Andressa Faccenda
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos
Coorientadora: Profa. Dra. Maximiliane Alavarse Zambom

MARINGÁ
Estado do Paraná
Setembro – 2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**UTILIZAÇÃO DE *Saccharomyces cerevisiae* E DO BAGAÇO
DE MALTE SECO NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS
LEITEIROS**

Autora: Andressa Faccenda
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos
Coorientadora: Profa. Dra. Maximiliane Alavarse Zambom

“Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de concentração Produção Animal”

MARINGÁ
Estado do Paraná
Setembro - 2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

F137u Faccenda, Andressa
Utilização de *Saccharomyces cerevisiae* e do bagaço de malte seco na alimentação de bovinos leiteiros / Andressa Faccenda. -- Maringá, 2018.
96 f.

Orientador: Prof. Dr.Geraldo Tadeu dos Santos.

Coorientadora: Prof. Dra Maximiliane Alavarse Zambom

Tese (Doutora em Zootecnia)-Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-graduação em Zootecnia.

1.Nutrição de ruminantes.
2.*Saccharomyces cerevisiae* - Nutrição de bovinos de leite. 3.Bagaço de malte seco - Bovinos de leite. 4.Nutrição animal - Bovino de leite. 5.Digestibilidade.6.Qualidade de leite. 7.Selênio.8.Parâmetros ruminais.
I.Santos, Geraldo Tadeu dos Santos, orient.
II.Zambom, Maximiliane Alavarse, coorient.
III.Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia, Pós-graduação em Zootecnia. IV. Título.

636.2142 21.ed.

Cicilia Conceição de Maria
CRB9- 1066



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

UTILIZAÇÃO DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*
E DO BAGAÇO DE MALTE SECO NA ALIMENTAÇÃO
DE BOVINOS LEITEIROS

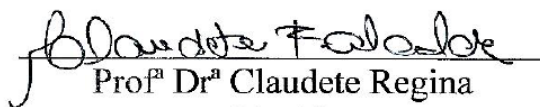
Autora: Andressa Faccenda
Presidente: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

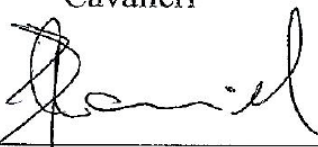
APROVADA em 14 de setembro de 2018.



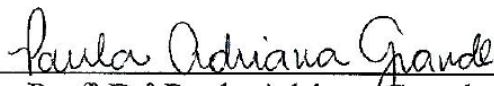
Prof. Dr. Fabio Luiz Bim
Cavalieri



Profª Drª Claudete Regina
Alcalde



Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel



Profª Drª Paula Adriana Grande



Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos
Presidente

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.
Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”

Martin Luther King

Às pessoas mais importantes da minha vida, meus pais, Darci e Lourdes, pelo amor incondicional, pela confiança e por todos os valores ensinados;
Aos meus irmãos, Arlei e Alcione, minha tia Salete, pelo apoio, confiança e incentivo;
Ao meu sobrinho e afilhado Arthur, por ser tão especial e trazer mais alegria, pureza e vida aos meus dias;
À minha avó Margarida (*in memoriam*), pelo eterno afeto, conselhos e confiança;
Ao meu noivo André, pela compreensão, ajuda, paciência e por caminhar ao meu lado nessa jornada.
Com todo meu amor, a vocês...

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida;

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, pela oportunidade de realização do doutorado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de doutorado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos e minha coorientadora, Profa. Dra. Maximiliane Alavarse Zambom, pelos ensinamentos, confiança e amizade;

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, por sempre estarem dispostos a contribuir para o desenvolvimento dos trabalhos;

Aos professores, Dr. João Daniel, Dra. Magali Pozza, Dra. Claudete Alcalde, Dra. Francilaine de Marchi, Dra. Paula Adriana Grande e o Dr. Fábio Luiz Bim Cavalieri, pelas valiosas contribuições dadas ao trabalho durante o Exame de Qualificação e à Defesa da Tese.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela excelente oportunidade proporcionada em desenvolver minha pesquisa;

À Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná, pelo financiamento da pesquisa;

À empresa Lalleman, por meio do Zootecnista Edson Poppi, pelo fornecimento da levedura selenizada;

A todos os colegas do grupo Qualhada, pelo convívio, amizade e ajuda na condução dos experimentos.

Ao Luiz Felipe e à Isabele, pela paciência e auxílio com as análises de ácidos graxos de cadeia curta e protozoários ruminais.

Aos funcionários da Fazenda Experimental Prof. Antonio Carlos dos Santos Pessoa, em especial Giovan, Ernesto, Emerson e Valdir, pelo auxílio na condução dos experimentos.

Aos laboratoristas Luana, Edinéia e Lucas, pela ajuda nas análises.

Ao Prof. Dr. Antonio Faciola, pela oportunidade de realização do doutorado sanduíche sob sua supervisão;

Aos colegas e amigos, Eduardo, Lorryny, Hugo, Virginia, Jose, Xiaoxia, Ana Laura, Ana Luiza, Perivaldo, Leni, Rasiel, Roney, Ali, Michael e Felipe, pela ajuda na chegada aos Estados Unidos, pelos conhecimentos divididos e pela amizade.

A Pós Doutoranda Mirna, pela paciência, serenidade, conselhos, incentivo e ajuda.

A todos os amigos de Marechal, em especial, Everline, Cibele, Douglas, Carol, Fernando, Jessica, Luana, Samantha, Josias, Maria, Kléves e Estrela, por estarem presentes quando precisei, pela amizade, pelos favores, brincadeiras, risadas, jantares... vocês sempre terão um lugar especial em meu coração.

À amiga Bruna, pelo suporte e ajuda nas minhas idas e vindas a Maringá.

À minha família que sempre me apoiou, aceitou minhas decisões e compreendeu minha ausência mesmo nos momentos difíceis pelos quais passamos.

Ao meu noivo, pelo companheirismo, amor, paciência e por buscar comigo a realização dos meus sonhos.

A todos que, de maneira direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

ANDRESSA FACCENDA, filha de Darci Faccenda e Lourdes Milani Faccenda, nasceu em Sarandi, Rio Grande do Sul, no dia 16 de maio de 1990.

Em março de 2008, iniciou o Curso de Graduação em Zootecnia pela Universidade Federal de Santa Maria, no campus de Palmeira das Missões. Em junho de 2012, cumpriu as exigências para obtenção do título de Zootecnista.

Em março de 2013, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Nível Mestrado, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Ruminantes, submetendo-se à defesa de dissertação em fevereiro de 2015.

Em março de 2015, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, em Nível de Doutorado, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Nutrição de Ruminantes. Em abril de 2017 até março de 2018, realizou doutorado sanduíche na University of Nevada, Reno e na University of Florida, Gainesville. Submeteu-se ao Exame Geral de Qualificação em 15 de junho de 2018 e, em 14 de setembro de 2018, submeteu-se à defesa da Tese.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
I. INTRODUÇÃO	14
1.1 A indústria cervejeira e a geração de seus subprodutos	15
1.1.1 Modificações do malte e sua influência na composição do bagaço de malte	17
1.1.1.1 Degradação dos nutrientes durante a maltagem	18
1.1.2 Utilização do bagaço de malte na alimentação de ruminantes	20
1.1.2.1 Efeito na ingestão e nos parâmetros metabólicos e digestivos	21
1.1.2.2 Efeito na produção e composição do leite	23
1.2 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> na alimentação de ruminantes	25
1.2.1 Mecanismos de ação e efeitos no desempenho de ruminantes	25
1.2.2 Levedura enriquecida com selênio	29
1.2.2.1 Metabolismo do selênio	29
1.2.2.2 Defesa antioxidante e seus efeitos na saúde da glândula mamária e na estabilidade oxidativa do leite	32
II. OBJETIVOS GERAIS	44
III. DESEMPENHO E QUALIDADE DO LEITE DE VACAS DA RAÇA HOLANDÊS ALIMENTADAS COM BAGAÇO DE MALTE SECO E <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ENRIQUECIDA COM SELÊNIO	45
RESUMO	45
Introdução	46
Material e Métodos	47
Resultados	52
Discussão	53
Conclusão	58

Referências.....	58
IV. DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES E PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS ALIMENTADOS COM BAGAÇO DE MALTE SECO E <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	72
RESUMO	72
Introdução	73
Material e Métodos	74
Resultados	78
Discussão	79
Conclusão.....	84
Referências.....	84
V. CONSIDERAÇÕES FINAIS	96

RESUMO

Foram conduzidos dois experimentos: No experimento 1, objetivou-se de avaliar o efeito de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio e do bagaço de malte seco sobre o desempenho, composição e qualidade do leite. Foram utilizadas oito vacas da raça Holandês, distribuídas em quadrado latino 4 x 4 replicado. Os tratamentos foram em esquema fatorial 2 x 2: sem ou com inclusão de bagaço de malte seco x com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio. A levedura foi fornecida uma vez ao dia na quantidade de 15 g e era composta pela cepa CNCM I-1077, contendo $1,0 \times 10^9$ UFC/g e 200 mg de selênio/kg. A levedura não influenciou na ingestão e digestibilidade dos nutrientes. Vacas que receberam as dietas contendo bagaço de malte ingeriram menor quantidade diária de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT), e maior quantidade de extrato etéreo (EE) e fibra em detergente neutro (FDN) ($P < 0,05$). Dietas contendo bagaço de malte apresentaram digestibilidade da MS e CNF inferiores em relação às dietas sem esse ingrediente ($P < 0,05$). A levedura não influenciou os parâmetros sanguíneos, entretanto a ureia sanguínea apresentou interação entre bagaço e levedura, sendo que vacas alimentadas com bagaço de malte apresentaram maiores concentrações em relação às vacas alimentadas sem bagaço ou sem bagaço, mas com levedura ($P < 0,05$). Vacas que receberam dieta sem bagaço de malte com levedura apresentaram maior produção de proteína microbiana do que as alimentadas apenas com bagaço de malte ($P < 0,05$). A *Saccharomyces cerevisiae* selenizada não teve efeito para a produção, composição e estabilidade oxidativa do leite. A inclusão de bagaço de malte reduziu a produção de leite corrigida para energia, o teor de gordura, proteína, caseína e sólidos totais do leite ($P < 0,05$) e aumentou as concentrações de nitrogênio ureico e dienos conjugados do leite ($P < 0,01$). Desse modo, conclui-se que a utilização de

Saccharomyces cerevisiae enriquecida com selênio não melhorou a produção e a estabilidade oxidativa do leite e a inclusão de bagaço de malte seco reduziu a ingestão de energia, a produção de leite corrigida e os teores de gordura e proteína do leite. No experimento 2, objetivou-se avaliar o efeito da *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio sobre a ingestão e digestibilidade dos nutrientes e nos parâmetros de fermentação ruminal de bovinos alimentados com dietas contendo bagaço de malte seco. Foram utilizados quatro bovinos mestiços, castrados e providos de cânula ruminal. Os animais foram distribuídos em um quadrado latino 4 x 4. Os tratamentos testados e a quantidade de levedura fornecida foram os mesmos descritos para o experimento 1. O de bagaço de malte e a levedura não apresentaram efeito para a ingestão da MS, PB, EE, FDN e NDT. Bovinos alimentados com bagaço de malte ingeriram menores quantidades diárias de CNF ($P < 0,01$). A adição de *Saccharomyces cerevisiae* não melhorou a digestibilidade da MS e dos nutrientes, entretanto, as dietas com bagaço de malte apresentaram digestibilidade da MS ($P < 0,05$) e CNF ($P < 0,01$) inferiores. A utilização de bagaço de malte reduziu a população de protozoários dos gêneros *Entodinium* ($P < 0,05$) e *Isotricha* ($P < 0,01$). Os valores de pH não foram influenciados pelo bagaço e pela levedura. As concentrações de nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) apresentaram interação entre tempo e o bagaço de malte ($P < 0,05$), sendo que às duas horas, após a alimentação, as concentrações de $N-NH_3$ ruminal foram menores para os animais alimentados com bagaço. As concentrações ruminais de acetato, propionato e butirato não foram influenciadas pelo bagaço de malte e levedura, no entanto, bovinos que receberam dietas com o subproduto cervejeiro apresentaram menor produção de ácidos graxos voláteis totais ($P < 0,05$). Desse modo, conclui-se que a utilização de levedura na dieta de bovinos não influenciou na digestibilidade dos nutrientes e os parâmetros de fermentação ruminal, enquanto que a inclusão de bagaço de malte não interferiu na ingestão de nutrientes digestíveis totais e nas concentrações de acetato, propionato e butirato.

Palavras-chave: aditivo, levedura, selênio, subproduto cervejeiro

ABSTRACT

Two experiments were conducted: Experiment 1 aimed to evaluate the effect of selenium-enriched *Saccharomyces cerevisiae* and dried malt bagasse on performance, composition and quality of milk. Eight Holstein cows were distributed in a 4 x 4 replicated Latin square. The treatments were in a 2 x 2 factorial scheme: with or without the inclusion of dried malt bagasse x with or without the addition of selenium-enriched *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast was supplied once daily in the amount of 15 g and was composed of strain CNCM I-1077 containing 1.0×10^9 CFU/g and 200 mg selenium/kg. Yeast did not affect nutrient intake and digestibility. Cows that received diets containing malt bagasse ingested a lower daily amount of dry matter (DM), crude protein (CP), non-fibrous carbohydrates (NFC) and total digestible nutrients (TDN) and a higher amount of ethereal extract (EE) and neutral detergent fiber (NDF) ($P < 0.05$). Diets containing malt bagasse presented lower DM and NFC digestibility than diets without this ingredient ($P < 0.05$). Yeast did not influence the blood parameters, however the blood urea had interaction between malt bagasse and yeast, wherein cows fed malt bagasse had higher concentrations in relation to cows fed without malt bagasse or without malt bagasse with yeast. Cows that received diets without malt bagasse with yeast had higher microbial protein production than those fed only malt bagasse ($P < 0.05$). Selenized *Saccharomyces cerevisiae* had no effect on milk production, composition and oxidative stability. The inclusion of malt bagasse reduced energy, corrected milk production, milk fat, protein, casein and total solids content ($P < 0.05$), and increased concentrations of milk urea, nitrogen and conjugated ($P < 0.01$). Thus, it is concluded that the use of selenium-enriched *Saccharomyces cerevisiae* did not improve milk production and oxidative stability and the inclusion of dried malt bagasse reduced energy intake, corrected milk production and fat and protein contents of milk.

Experiment 2, aimed to evaluate the effect of selenium-enriched *Saccharomyces cerevisiae* and malt bagasse on nutrient intake and digestibility and ruminal fermentation parameters of cattle fed diets containing dried malt bagasse. Four ruminally cannulated crossbreed steers were distributed in a 4 x 4 Latin square. The treatments tested and the amount of yeast supplied were the same described for experiment 1. Malt bagasse and yeast had no effect on DM, CP, EE, NDF and TDN intakes. Animals fed with malt bagasse had lower NFC intake ($P<0.01$). The addition of *Saccharomyces cerevisiae* did not improve the DM and nutrients digestibility, however, diets with malt bagasse had lower DM ($P<0.05$) and NFC digestibility ($P<0.01$). The use of malt bagasse reduced the protozoa population of the genus *Entodinium* ($P<0.05$) and *Isotricha* ($P<0.01$). Ruminal pH was not influenced by bagasse and yeast. Ammoniacal nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) concentrations showed interaction between time and malt bagasse ($P<0.05$), wherein at two hours after feeding, ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentrations were lower for animals fed with bagasse. Ruminal concentrations of acetate, propionate and butyrate were not influenced by malt bagasse and yeast, however, animals fed diets with brewer by-product had lower total volatile fatty acids production ($P<0.05$). Thus, it was concluded that the use of yeast in the cattle diet did not influence nutrient digestibility and ruminal fermentation parameters, while the inclusion of malt bagasse did not interfere on the total digestible nutrients intake and on the acetate, propionate and butyrate concentrations.

Key words: additive, yeast, selenium, brewer by-product

I. INTRODUÇÃO

O bagaço de malte é um subproduto cuja origem provém da filtração do mosto cervejeiro, sendo, portanto composto de resíduos da cevada maltada ou de cereais adjuvantes que não se solubilizaram durante a fabricação da cerveja (Gupta et al., 2010). Dentre as possibilidades de utilização do bagaço de malte, a introdução deste na alimentação de bovinos leiteiros, é uma das alternativas mais interessantes, pois gera redução de custos com alimentação do rebanho, reduz a dependência por alimentos convencionais como o farelo de soja e milho, contribui para a sustentabilidade dos sistemas de produção e auxilia as indústrias a destinar adequadamente seus rejeitos, o que reduz a poluição ambiental.

Esse subproduto pode ser introduzido na alimentação de bovinos leiteiros, entretanto, a limitação na utilização do bagaço de malte se deve ao seu elevado conteúdo de fibras que pode comprometer a ingestão de matéria seca (MS) da dieta, devido aos efeitos de enchimento físico do rúmen (Faccenda et al., 2017; Younker et al., 1998). Assim, a associação do bagaço de malte com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* pode se tornar interessante, uma vez que estas proporcionam aumento no número de bactérias celulolíticas do rúmen (Mosoni et al., 2007) que promovem melhorias na digestibilidade da fibra (Marden et al., 2008). Além disso, quando enriquecida com selênio, as leveduras podem promover benefícios na qualidade do leite (Moeini et al., 2009), devido à redução na peroxidação lipídica.

Desse modo, considerando que a utilização de bagaço de malte na alimentação de bovinos leiteiros traz benefícios tanto para a cadeia leiteira, quanto para a indústria cervejeira, é necessário avaliar diferentes estratégias de uso para esse subproduto a fim de maximizar seu aproveitamento pelos animais e aumentar seu potencial de utilização. Estudos que avaliaram o efeito das leveduras vivas em dietas contendo bagaço de malte

são escassos, o que justifica a realização de pesquisas em bovinos leiteiros com esse propósito.

1.1 A indústria cervejeira e a geração de seus subprodutos

A indústria da cerveja está consolidada pelo mundo devido à globalização do mercado e às fusões de grandes cervejarias. A produção mundial de cerveja é liderada pela China, tendo os Estados Unidos, na segunda posição. O Brasil ocupa o terceiro lugar no *ranking*, tendo produzido 14 bilhões de litros de cerveja em 2016 (CervBrasil, 2016).

A cerveja é definida como uma bebida alcoólica produzida pelo processo fermentativo do malte de cevada, podendo parte desse malte ser substituído por outros cereais maltados ou não (Brasil, 2009), tais como milho, arroz, sorgo, aveia, centeio, milheto e trigo (Geron et al., 2007; Schwarz e Li, 2010). Dessa maneira, o malte de cevada é a base para qualquer tipo de cerveja, sendo que cervejas classificadas como puro malte devem conter 100% de malte de cevada, cerveja normais devem conter no mínimo de 50% e cervejas especializadas devem conter no mínimo 20% de malte de cevada e esta deve levar o nome do cereal predominante (Brasil, 2009).

O processo industrial da cerveja segue um fluxograma com várias etapas de produção (Figura 1), gerando além do produto final, diversos subprodutos. A primeira etapa é a maltagem que visa promover uma alteração física e bioquímica do grão, tornando-o mais friável (Gupta et al., 2010).

Após o recebimento dos grãos de cevada pela maltaria, esses são limpos e classificados. Os grãos são imersos em água com o objetivo de aumentar o teor de umidade do grão de 12% para aproximadamente 48% (Schwarz e Li, 2010), desencadeando o processo de germinação (Schmitt et al., 2013). Depois de germinado, o malte passa pelo cozimento e secagem onde os grãos atingem 4 a 5% de umidade, finalizando a etapa de maltagem (Schwarz e Li, 2010).

Sequencialmente, o malte é destinado à produção do mosto cervejeiro. A laminação do malte é realizada por rolos que visa manter as cascas de malte intactas e reduzir o tamanho de partícula do endosperma para extração do malte e conversão de amido em açúcares fermentáveis. Na caldeira de mostura, é adicionada uma proporção de água e malte laminado os quais são aquecidos para favorecer a formação de maltose.

Nesse estágio, há a produção de um líquido doce denominado de mosto (Gupta et al., 2010). A parte insolúvel, composta basicamente das camadas de revestimento que cobriam o grão de cevada original, é separada através da filtração e denominada de bagaço de malte (Del Rio et al., 2013).

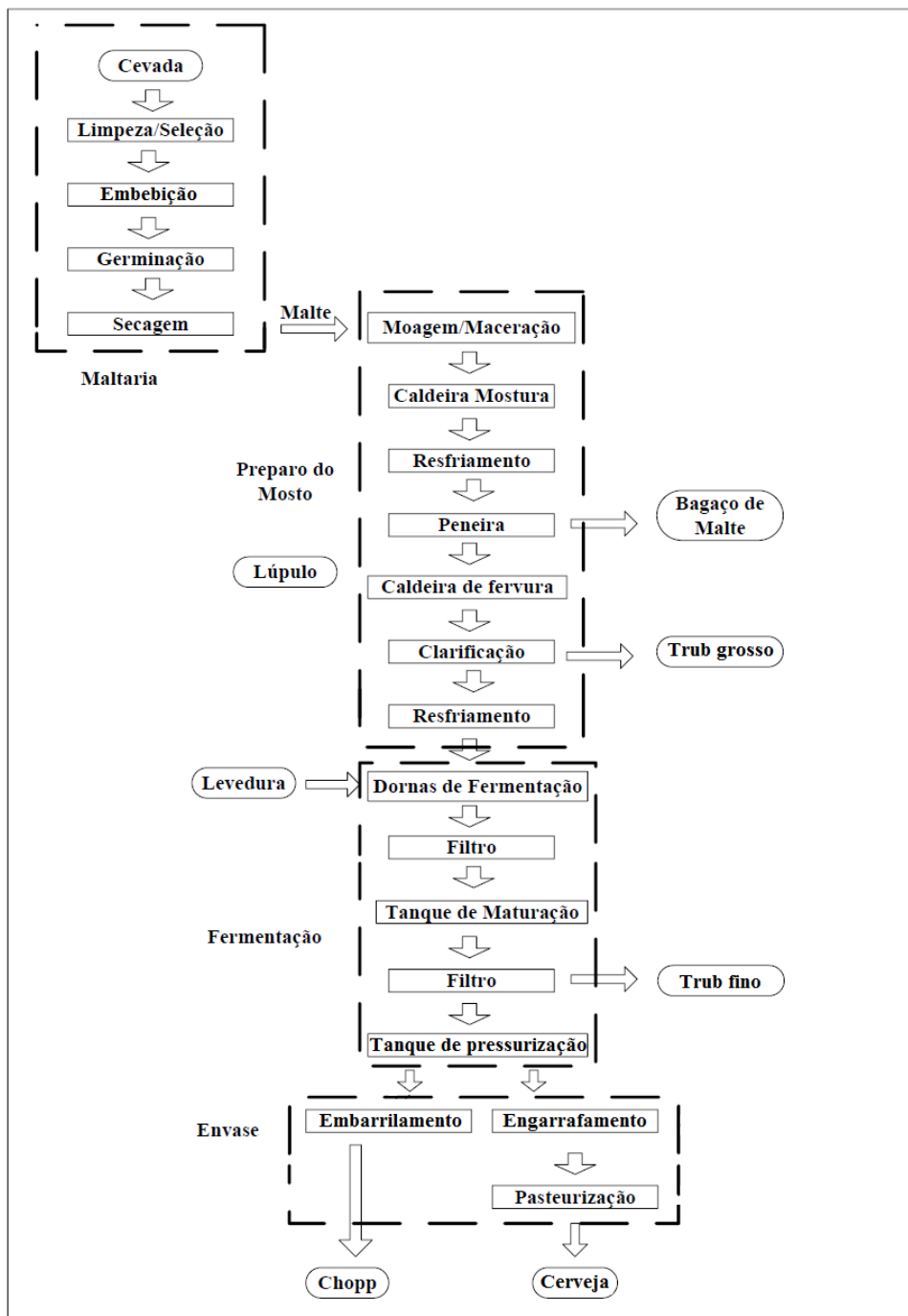


Figura 1: Fluxograma do processo da produção de cerveja. Fonte: Adaptado de Santos e Ribeiro (2005).

O mosto filtrado é fervido juntamente com o lúpulo que confere o sabor e o aroma característico a bebida (Mega et al., 2011). A etapa seguinte é a clarificação que é realizada por centrifugação que dará origem a outro resíduo sólido denominado trub grosso (Santos e Ribeiro, 2005) composto por proteínas de alta massa molar coagulada e compostos fenólicos (Mathias et al., 2015).

O estágio seguinte ocorre nas caldeiras de fermentação, onde as leveduras são adicionadas (Schwarz e Li, 2010). As leveduras possuem a função de metabolizar os açúcares simples produzidos pela degradação do amido e convertê-los em álcool e dióxido de carbono (Gonzalez-Pereyra et al., 2011; Tang et al., 2005). À medida que a concentração de açúcar reduz, as leveduras entram na fase estacionária, começam a flocular e são removidas através de filtração (Schwarz e Li, 2010), gerando um terceiro resíduo denominado de trub fino (Santos e Ribeiro, 2005). A cerveja então é maturada, pressurizada e envasada (Schwarz e Li, 2010).

Dos três tipos de resíduos gerados durante a fabricação de cerveja, o bagaço de malte é o mais abundante, correspondendo a aproximadamente 85% do total de subprodutos gerados. A cada 100 litros de cerveja produzidos, são gerados 20 kg de bagaço de malte (Reinold, 1997).

1.1.1 Modificações do malte e sua influência na composição do bagaço de malte

Os constituintes do bagaço de malte são altamente dependentes das modificações físicas e bioquímicas que ocorreram durante a maltagem. Dessa maneira, para entender a composição química desse subproduto, é necessário compreender a composição do cereal base (cevada) e as distintas reações enzimáticas ocorridas nos grãos destinados à produção do malte.

O grão de cevada é constituído basicamente pela casca, o pericarpo, a camada de aleurona, endosperma e embrião. O endosperma ocupa 70% da semente (Pinto, 2013) e possui parede celular composta por 75% de β -glucanos e 20% de arabinosilanos (Gupta et al., 2010). O endosperma é composto majoritariamente por grânulos de amido envolvidos por uma matriz protéica (Pinto, 2013). O amido compõe cerca de 65% a 68% do grão integral da cevada (Gupta et al., 2010) e é composto por amilose e a amilopectina (Källman et al., 2015). A matriz proteica é formada por hordeínas e

glutelinas que representam 37% e 30% do total de proteína, respectivamente. Outras proteínas como as globulinas (15%) e albuminas (11%) também estão presentes na cevada, porém em menores quantidades (Steiner et al., 2011). A cevada contém de 2% a 3% de lipídeos livres (Gupta et al., 2010). Dentre os principais ácidos graxos destaca-se o ácido linoléico com valores entre 10,5% a 12,9% do total de ácidos graxos (Cozzolino et al., 2014).

1.1.1.1 Degradação dos nutrientes durante a maltagem

A degradação das paredes celulares do endosperma dos grãos durante a maltagem é em grande parte relacionada à atividade das β -glucanases, que despolimerizam os β -glucanos (Gupta et al., 2010). Em relação aos arabinoxilanos, apenas uma pequena porção de aproximadamente 20% são degradados durante a maltagem.

A casca, o pericarpo e a parede celular da camada de aleurona não sofrem degradação durante a maltagem. Dessa forma, o bagaço de malte consiste basicamente dessas camadas que cobriam o grão de cevada: casca, pericarpo e paredes das células de aleurona vazias (Mussato et al., 2006). Esse subproduto apresenta valores de fibra em detergente neutro (FDN) variando de 48,5% a 64,4% (Cabral Filho et al., 2007; Westendorf et al., 2014). Desse total, 17% a 25% é celulose, 25% a 35% são carboidratos não celulósicos (Del Rio et al., 2013) compostos na maior parte por arabinoxilanos e glucanos (Mussato et al., 2006; Robertson et al., 2010) e 5,51% a 19,4% é lignina (Meneses et al., 2013; Westendorf et al., 2014).

A degradação das proteínas é mais complexa e envolve um número elevado de enzimas. Bamforth (2009) destacou que foram identificadas mais de 40 endopeptidases no malte além de exopeptidases e carboxipeptidases. Essas enzimas degradam as proteínas de armazenamento e produzem aminoácidos livres durante a germinação. A degradação das proteínas de armazenamento que formam uma matriz em torno dos grânulos de amido afeta diretamente a disponibilidade do amido, pois torna esses grânulos mais expostos ao ataque das enzimas amilolíticas (Steiner et al., 2011).

Levando-se em consideração um malte bem modificado, o mesmo irá conter menos da metade da quantidade de hordeínas presentes na cevada original. As glutelinas não são quebradas e passam inalteradas para o malte, pois possuem fraca solubilidade de seus componentes. A fração de globulina da cevada dissolve-se durante a formação

do mosto e as albuminas são completamente precipitadas durante a fervura (Steiner et al., 2011).

Diante disso, as proteínas predominantes no bagaço de malte (hordeínas e glutelinas) são insolúveis e de baixa degradabilidade ruminal (Clark et al., 1987). O teor de proteína bruta (PB) pode variar de 14,5% a 33,6% na MS (Del Rio et al., 2013; Westendorf et al., 2014), sendo que as proteínas solúveis desse subproduto representam em torno de 8,3% do total de proteínas (Westendorf et al., 2014). Em relação ao perfil aminoacídico, o bagaço de malte possui maior teor de ácido glutâmico (19,5% da PB), seguido da prolina (8,73% da PB) e leucina (8,58% da PB). Os teores de lisina e metionina são de 3,65% e 2,22% da PB, respectivamente (Westendorf et al., 2014).

A hidrólise do amido é realizada por quatro enzimas, sendo elas a α -amilase, β -amilase, α -glucosidase e dextrinase limite, que atuam na amilose e na amilopectina (Schmitt et al., 2013). Essas enzimas amilolíticas que desempenham atividade durante a maltagem também se tornam ativas novamente quando o malte é misturado com a água para a formação do mosto (Schwarz e Li, 2010). A maior parte do amido de cevada é removido durante a maceração do malte (Gupta et al., 2010), sendo que o bagaço de malte contém baixa concentração desse carboidrato. Reis e Abu-Ghannam (2014) observaram um teor de 3,3% de amido na MS enquanto Duthie et al. (2015) obtiveram valor de 2,6%.

Os triglicerídeos do grão de cevada estão presentes predominantemente no embrião. A lipase catalisa a hidrólise desses triglicerídeos para produzir ácidos graxos livres (Schwarz e Li, 2010). A maioria dos lipídeos é removida do mosto e permanece no bagaço de malte (Bamforth, 2009). O teor de lipídios varia de 5,3% a 9,2% na MS (Del Rio et al., 2013; Negesse et al., 2009), o que significa um valor duas vezes maior, em relação aos cereais utilizados no malte (Westendorf et al., 2014) e ocorre devido à remoção da maioria do amido o que, conseqüentemente, concentra os lipídios (Tang et al., 2005). Dentre os lipídios identificados no bagaço de malte 67% são triglicerídeos e 18% são ácidos graxos livres, sendo os mais abundantes os ácidos linoleico, palmítico e oleico (Del Rio et al., 2013). Geron et al. (2007) obtiveram valores de 50,2 g de ácido linoleico, 19,5 g de ácido palmítico e 17,9 g de ácido oleico por 100 gramas de gordura ao avaliarem bagaço de malte úmido.

1.1.2 Utilização do bagaço de malte na alimentação de ruminantes

O bagaço de malte produzido durante a confecção da cerveja representa 30% dos grãos de malte inicial utilizado (Del Rio et al., 2013). A composição desse subproduto sofre variações em função das cultivares dos grãos utilizados, tipo de malte, adjuvantes adicionados ao malte, métodos e tecnologia de fabricação e diferentes procedimentos de recuperação de resíduos (Celus et al., 2006; Robertson et al., 2010; Westendorf et al., 2014).

Bradford e Mullins (2012) destacaram que esta variabilidade na composição dos subprodutos agroindustriais merece atenção por parte dos nutricionistas, ao incorporar esses ingredientes nas dietas animais. Além disso, também enfatizaram a limitada estabilidade de subprodutos úmidos, que precisam ser consumidos entre 4 a 10 dias para evitar deterioração e contaminação fúngica que podem desencadear casos de botulismo e intoxicação por *Aspergillus clavatus* (Brust et al., 2015). A desidratação é um método de conservação que auxilia também na redução do volume do produto e diminui os custos com transporte e armazenamento, entretanto, o alto custo de energia para desidratação faz com que esse processo não seja viável economicamente para as indústrias cervejeiras (Aliyu e Bala, 2011). Além disso, tratamentos à base de processo térmico tendem a diminuir a disponibilidade da proteína do bagaço de malte (Pereira et al., 1998). Dessa maneira, a desidratação ao sol é uma alternativa que garante a conservação do material, utilizando uma fonte de energia barata e renovável, corroborando com Mussato et al. (2006) que destacaram a necessidade de mais esforços para encontrar métodos alternativos de secagem economicamente sustentáveis.

A introdução do bagaço de malte na alimentação animal reduz os custos de produção (Aliyu e Bala, 2011; Brust et al., 2015) e o impacto ambiental (Cao et al., 2011) melhorando a sustentabilidade de todo o sistema (Bradford e Mullins, 2012). Além disso, Negesse et al. (2009) destacaram que a utilização do bagaço de malte deve ser considerada mesmo que a sua eficiência de utilização seja baixa, pois esta prática reduz a dependência por alimentos convencionais que possuem elevado custo. Estes autores ainda ressaltaram que estudos para avaliar os potenciais de uso dos subprodutos em uma variedade de configurações são necessárias para alcançar melhores resultados.

1.1.2.1 Efeito na ingestão e nos parâmetros metabólicos e digestivos

Uma das dificuldades do uso de ingredientes que não são forragens na dieta de ruminantes, mas que contém alta quantidade de fibra, como o bagaço de malte, é definir uma estratégia adequada de uso, pois seu valor nutritivo é diferente dos alimentos tradicionais. Isso ocorre, pois esse subproduto é rico em fibras (48,5% a 64,4%) como as forragens, mas passa pelo compartimento do rúmen de maneira mais rápida como os concentrados. Dessa maneira, é importante considerar que a substituição das forragens por bagaço de malte pode reduzir significativamente o tamanho médio de partícula da dieta (Bradford e Mullins 2012), provocando menor estímulo de mastigação e ruminação (Cabral Filho et al., 2007; Firkins et al., 2002).

Por outro lado Younker et al. (1998) observaram que quando o bagaço de malte seco substituiu o concentrado, a ingestão de MS diminuiu devido aos efeitos de enchimento ruminal da forragem combinado ao do bagaço. Redução na ingestão de MS também foram reportados em outros estudos com vacas em lactação que testaram níveis de 26% de bagaço de malte úmido (Johnson et al., 1987), 31,4% de bagaço seco (Faccenda et al., 2017) e 40% de bagaço prensado na dieta total (Davis et al., 1983). Entretanto, outros trabalhos que avaliaram níveis inferiores a 31,6% no total de MS não obtiveram diferenças para esse parâmetro (Belibasakis e Tsirgogianni, 1996; Chiou et al., 1998; Duthie et al., 2015; Firkins et al., 2002; Geron et al., 2010; Imaizumi et al., 2015; Miyazawa et al., 2007; Polan et al., 1985; Santos et al., 1984; West et al., 1994).

O bagaço de malte pode interferir na microbiota ruminal, e consequentemente, alterar o padrão fermentativo da dieta, dependendo da maneira como é incluído na dieta e do nível de utilização. Miyazawa et al. (2007) avaliaram a inclusão de 9,3% de bagaço de malte úmido para vacas da raça Holandês e não observaram efeito na população de protozoários do rúmen, no entanto, Rogers et al. (1986) destacaram que a utilização do bagaço de malte úmido aumentou a população de bactérias e protozoários ruminais em bovinos da raça Holandês, em relação ao bagaço seco.

Quando o bagaço de malte nas formas úmida, seca e prensada foi utilizado em substituição ao concentrado, a produção de propionato reduziu e a concentração de acetato e a relação acetato:propionato aumentaram (Davis et al., 1983; Duthie et al., 2015; Younker et al., 1998). Entretanto, outros trabalhos demonstraram não haver alteração na concentração dos ácidos graxos voláteis (AGV) (Aguilera Soto et al., 2007;

Cozzi e Polan, 1994; Dhiman et al., 2003; Miyazawa et al., 2007; Santos et al., 1984;) bem como no pH ruminal (Chiou et al., 1998; Dhiman et al., 2003; Geron et al., 2008; Santos et al., 1984; West et al., 1994).

Em relação aos parâmetros digestivos, Bradford e Mullins (2012) reportaram que a utilização de subprodutos fibrosos pode reduzir a digestibilidade da dieta quando utilizado em substituição a alimentos concentrados por reduzir o teor de carboidratos não fibrosos (CNF). Silva et al. (2010) obtiveram redução linear na digestibilidade da MS ao substituir gradativamente o concentrado por bagaço de malte úmido na dieta de cabras. Geron et al. (2010) e Faccenda et al. (2017) obtiveram aumento na digestibilidade da MS de dietas para vacas em lactação, utilizando bagaço de malte ensilado e seco, respectivamente. Todavia, a maioria dos estudos com bagaço de malte não tem apresentado efeito na digestibilidade aparente da MS (Aguilera Soto et al., 2007; Cabral Filho et al., 2007; Cozzi e Polan 1994; Geron et al., 2008; Rogers et al., 1986) e da FDN (Aguilera Soto et al., 2007; Cabral Filho et al 2007; Geron et al., 2008; Silva et al., 2010; Younker et al., 1998).

O aproveitamento da proteína do bagaço de malte pelos ruminantes ocorre em sua maior parte no intestino, visto que mais de 50% da PB passa pela degradação microbiana no rúmen e chega ao intestino sem ser degradada (Clark et al., 1987). Armentano et al. (1986) e Geron et al. (2007) reportaram que a taxa de degradação da fração lentamente degradável da PB foi menor para o bagaço de malte em relação ao farelo de soja. Isso ocorre, pois para a degradação ruminal da proteína é preciso que inicialmente aconteça a hidrólise das ligações peptídicas para posterior desaminação dos aminoácidos. Todavia, a quebra das ligações peptídicas parece ser o passo limitante para a degradação das proteínas do bagaço de malte, pois este subproduto contém principalmente proteínas do tipo hordeínas e glutelinas que possuem baixa solubilidade no fluído ruminal e são menos acessíveis pelas enzimas proteolíticas devido às ligações dissulfeto de sua estrutura (Clark et al., 1987).

No entanto, apesar da baixa degradabilidade, a digestibilidade intestinal da proteína do bagaço de malte úmido foi elevada chegando a 75,8% em ensaio *in vitro* (Geron et al., 2007). Santos et al. (1984) compararam dietas com inclusão de 31,6% de bagaço de malte úmido e obtiveram redução na digestibilidade da PB em relação a dieta com farelo de soja, mas não observaram efeito na digestibilidade dos aminoácidos essenciais. Alguns trabalhos com bagaço de malte na alimentação de ruminantes reportaram acréscimos na digestibilidade da PB (Cabral Filho et al., 2007; Faccenda et

al., 2017; Geron et al., 2010; Rogers et al., 1986), enquanto outros não obtiveram diferenças (Aguilera Soto et al., 2007; Geron et al., 2008).

Polan et al. (1985) destacaram que a inclusão de bagaço de malte seco reduziu a concentração de nitrogênio amoniacal do rúmen e da ureia plasmática em relação a dietas com farelo de soja, porém mesmo com essa redução, a concentração de nitrogênio amoniacal apresentou valores 10,4 mg/dL o que está acima do mínimo preconizado para maximizar a síntese microbiana. Resultados divergentes foram obtidos por Aguilera Soto et al. (2007) e Cabral Filho et al. (2007) que observaram aumento no nitrogênio amoniacal do rúmen com a utilização de bagaço de malte úmido na dieta de ovinos. Para vacas em lactação, a maioria dos estudos não apresentaram efeito desse subproduto na concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (Chiou et al., 1998; Cozzi e Polan, 1994; Santos et al., 1984; West et al., 1994), de ureia plasmática (Belibasakis e Tsirgogianni, 1996; Imaizumi et al., 2015; Miyazawa et al., 2007), de nitrogênio ureico do leite (Dhiman et al., 2003; Faccenda et al., 2017; Geron et al., 2010) e na eficiência de síntese microbiana (Faccenda et al., 2017; Santos et al., 1984;).

1.1.2.2 Efeito na produção e composição do leite

Alterações na produção de leite com o uso de bagaço de malte são divergentes. Em cenários onde a dieta inicial é rica em carboidratos altamente fermentáveis, a substituição de concentrados por subprodutos fibrosos pode melhorar a produção e a gordura do leite (Bradford e Mullins, 2012). Além disso, Clark et al. (1987) destacaram que a metionina e a lisina são os aminoácidos mais limitantes para a produção leiteira e que o uso simultâneo de bagaço de malte e farelo de soja na dieta de vacas em lactação também podem promover acréscimos na produção de leite, visto que o bagaço de malte apresenta maior concentração de metionina e o farelo de soja é mais rico em lisina. Alguns trabalhos que utilizaram esses dois ingredientes simultaneamente obtiveram aumentos na produção leiteira (Belibasakis e Tsirgogianni, 1996; Chiou et al., 1998; Cozzi e Polan, 1994; Imaizumi et al., 2015), entretanto, outros não observaram diferenças (Dhiman et al., 2003; Firkins et al., 2002; Geron et al., 2010; Johnson et al., 1987; Miyazawa et al., 2007; Moate et al., 2011; Younker et al., 1998).

Em cenários onde a dieta inicial contém níveis de carboidratos fermentáveis moderado, a substituição do concentrado pelo bagaço de malte pode reduzir a

produtividade devido à diminuição na oferta de energia digestível (Bradford e Mullins, 2012). Esse evento foi comprovado por Davis et al. (1983) e Faccenda et al. (2017) que obtiveram declínio na ingestão de MS e, conseqüentemente, na produção de leite ao utilizarem 40% de bagaço de malte úmido prensado e 31,4% de bagaço de malte seco, respectivamente.

Em relação ao percentual de proteína, Imaizumi et al. (2015) sugeriram que o elevado teor de proteína não degradada no rúmen do bagaço de malte poderia proporcionar maior aporte de aminoácidos para o intestino e aumentar a concentração de proteína do leite. Esta hipótese, contudo não se confirmou visto que a maioria dos ensaios com animais não apresentaram efeito para essa variável (Belibasakis e Tsirgogianni, 1996; Chiou et al., 1998; Cozzi e Polan, 1994; Firkins et al., 2002; Geron et al., 2010; Imaizumi et al., 2015; Johnson et al., 1987; Miyazawa et al., 2007; Moate et al., 2011; Polan et al., 1985; Younker et al., 1998). Tal fato, corrobora com Clark et al. (1987) que destacaram que embora haja uma alta concentração de aminoácidos na dieta, isso não garante que uma grande quantidade de aminoácidos passará para o intestino delgado. Redução no teor de proteína do leite também foi obtido por alguns autores (Davis et al., 1983; Faccenda et al., 2017; West et al., 1994) o que pode estar relacionado ao aumento de proteína indisponível como resultado do processamento térmico do malte.

Os efeitos do bagaço de malte sobre o teor de gordura do leite não foram significativos na maioria dos estudos (Chiou et al., 1998; Cozzi e Polan, 1994; Dhiman et al., 2003; Firkins et al., 2002; Geron et al., 2010; Johnson et al., 1987; Moate et al., 2011; West et al., 1994). Aumentos nos teores de gordura foram reportados em estudos que utilizaram o bagaço de malte úmido ou prensado na forma de inclusão ou em substituição ao concentrado (Belibasakis e Tsirgogianni 1996; Davis et al., 1983; Miyazawa et al., 2007). Tal resposta é decorrente do aumento no conteúdo de FDN da dieta que proporciona maior produção de acetato ruminal (Duthie et al., 2015).

Declínio nas concentrações de gordura do leite de vacas alimentadas com bagaço de malte seco ou úmido também foi observado em alguns trabalhos (Faccenda et al., 2017; Polan et al., 1985). Quando o bagaço de malte é usado em substituição a alimentos concentrados, a redução pode ocorrer devido ao elevado teor de ácidos graxos insaturados dos subprodutos fibrosos que podem promover a depressão da gordura do leite (Bradford e Mullins, 2012). Esse efeito ocorre devido à inibição das enzimas

responsáveis pela síntese de *novo* na glândula mamária provocada por ácidos graxos com configuração *trans-10* formados a partir do ácido linoleico (Piperova et al., 2000).

1.2 *Saccharomyces cerevisiae* na alimentação de ruminantes

Nos últimos anos, a restrição do uso de antibióticos como aditivo alimentar na dieta animal devido ao acúmulo de resíduos nos produtos e a evolução de agentes patogênicos resistentes, tem impulsionado a utilização de aditivos microbianos (Leicester et al., 2016; Vohra et al., 2016). Leveduras vivas, principalmente a *Saccharomyces cerevisiae* vem sendo utilizada com o intuito de manipular a fermentação ruminal e promover melhorias no desempenho animal (Bruno et al., 2009).

Leveduras vivas são naturalmente encontradas no rúmen, todavia as condições ótimas para proliferação desse microrganismo ocorre em ambiente aeróbio (Hristov et al., 2010), a uma temperatura em torno de 25°C (Leicester et al., 2016) e pH de 4,5 (Nicodemo, 2001). Desse modo, as condições de um rúmen normal não favorecem o crescimento desses microrganismos que têm pouca capacidade de permanecerem viáveis por mais de 24 horas, sendo necessária uma suplementação diária constante (Bitencourt et al., 2011; Leicester et al., 2016).

1.2.1 Mecanismos de ação e efeitos no desempenho de ruminantes

Por se tratar de microrganismos aeróbios, as leveduras consomem o oxigênio (Figura 2) que adentrou no rúmen juntamente com as partículas de alimento, tornando o ambiente ruminal mais propício ao crescimento de bactérias anaeróbias (Vohra et al., 2016). Menores concentrações de oxigênio (Newbold et al., 1995) e menor potencial redox (Marden et al., 2008) foram observados em estudos que utilizaram leveduras vivas na dieta de ovelhas e vacas, respectivamente.

A utilização de *Saccharomyces cerevisiae* tem efeito também sobre o metabolismo do lactato, visto que essa levedura tem a capacidade de produzir ácido málico que propicia o crescimento de bactérias utilizadoras de ácido láctico como as *Selenomonas spp*, *Anaerovibrio spp*, *Megasphaera spp* e *Propionibacterium spp*, reduzindo o acúmulo deste ácido (Wallace, 1994). Considerando o baixo valor de pKa (3.7) do ácido láctico, a redução na concentração ruminal deste ácido, conseqüentemente, reflete no aumento no pH do rúmen (Chaucheyras-Durand et al., 2008). Vários estudos

que utilizaram levedura viva na dieta de diferentes espécies de ruminantes obtiveram maiores valores de pH ruminal e menores concentrações de lactato ruminal (Abd El-Ghani, 2004; Desnoyers et al., 2009; Guedes et al., 2008; Marden et al., 2008; Salvati et al., 2015; Thrune et al., 2009), todavia, outros não observaram diferenças nesses parâmetros (Bayat et al., 2015; Doreau e Jouany, 1998, Enjalbert et al., 1999; Erasmus et al., 2005; Hristov et al., 2010; Newbold et al., 1995).

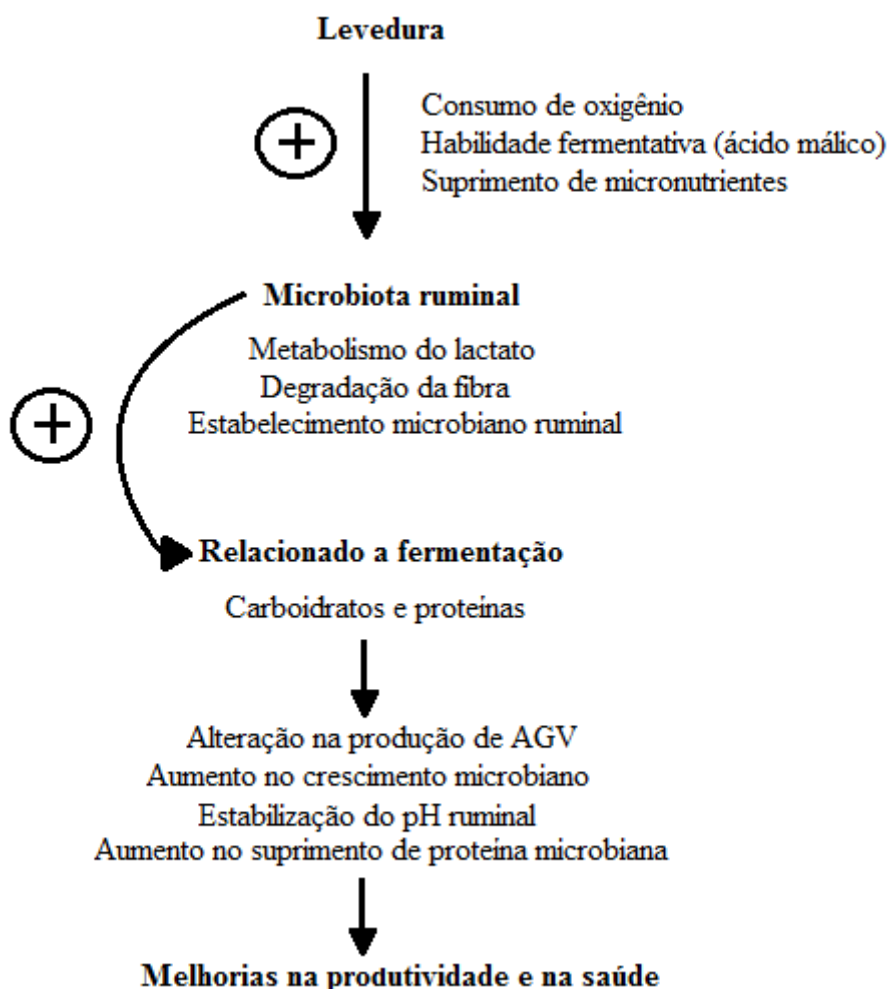


Figura 2 – Esquema sobre os modos de ação das leveduras sobre a microbiota e seus efeitos na fermentação ruminal. Fonte: Adaptado de Chaucheyras-Durand et al. (2008)

O aumento do pH ruminal em consequência do uso de *Saccharomyces cerevisiae*, bem como as enzimas, vitaminas e aminoácidos liberados por essa levedura são responsáveis por incrementar a atividade das bactérias fibrolíticas do rúmen (Guedes et al., 2008; Wohlt et al., 1998). Mosoni et al. (2007) observaram aumentos das bactérias celulolíticas como *Ruminococcus albus*, *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus*

flavefaciens, ao avaliarem a adição de levedura na alimentação de ovelhas. Newbold et al. (1995) também reportaram aumentos na população de bactérias celulolíticas, mas não observaram efeito para a população de protozoário, o que corrobora com outros estudos que também ressaltaram ausência de efeito da levedura sobre os protozoários (Bayat et al., 2015; Bitencourt et al., 2011; Doreau e Jouany, 1998; Hristov et al., 2010).

O crescimento populacional e da atividade das bactérias fibrolíticas é um dos principais mecanismos responsáveis pelo aumento da concentração de AGV do rúmen e/ou da digestibilidade da fibra, em estudos que avaliaram o efeito de levedura viva (Abd El-Ghani, 2004; Bitencourt et al., 2011; Desnoyers et al., 2009; Guedes et al., 2008; Marden et al., 2008). Entretanto, outros autores não obtiveram diferenças na produção de AGV do rúmen e/ou na digestibilidade da fibra (Bayat et al., 2015; Doreau e Jouany, 1998; Enjalbert et al., 1999; Erasmus et al., 2005; Hristov et al., 2010; Moallem et al., 2009; Salvati et al., 2015), o que demonstra uma grande divergência de resultados.

Essa divergência pode ocorrer devido a vários fatores que afetam a resposta da suplementação de levedura, dentre os quais, a espécie, cepa e dose de levedura utilizada, o estado fisiológico do animal, proporção volumoso:concentrado, teor de fibra da dieta e o tipo de forragem (Bitencourt et al., 2011; Chaucheyras-Durand et al., 2008; Desnoyers et al., 2009; Guedes et al., 2008; Lehloenya et al., 2008; Yuan et al., 2015). Guedes et al., (2008) observaram que leveduras vivas foram mais eficientes em proporcionar melhorias na digestão das fibras de vacas alimentadas com forragens de baixa qualidade. Do mesmo modo, Newbold et al. (1995) testaram o efeito *in vitro* de diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae* sobre a degradabilidade da FDN de feno de azevém e da palha de cevada e não observaram diferenças desse parâmetro para o feno, mas obtiveram aumento na degradabilidade da palha de cevada com o uso de levedura.

Além de influenciar na digestibilidade da fibra, as bactérias fibrolíticas ruminais têm elevada preferência por amônia, desse modo, o aumento na sua população em decorrência da suplementação com levedura provoca aumento na utilização da amônia ruminal para a síntese de proteína microbiana (Hristov et al., 2010) e redução nas perdas de nitrogênio (Vohra et al., 2016). Redução nas concentrações de amônia ruminal e sanguínea, aumento na digestibilidade da PB (Wohlt et al., 1998) e na produção de nitrogênio microbiano (Hristov et al., 2010) foram reportados em alguns estudos com o

uso de *Saccharomyces cerevisiae*, o que confirma esse possível melhoria no metabolismo de nitrogênio.

O conjunto de efeitos benéficos provindos da utilização da levedura na dieta de bovinos leiteiros, tal como melhoria na condição ruminal, aumento da digestibilidade das frações fibrosas da dieta e alteração no metabolismo da proteína pode fornecer uma maior aporte de energia para a síntese do leite (Bruno et al., 2009). Incremento na produção leiteira com o uso de *Saccharomyces cerevisiae* foram relatados em estudos com vacas (Bitencourt et al., 2011; Leicester et al., 2016; Moallem et al., 2009; Poppy et al., 2012; Salvati et al., 2015; Zaworski et al., 2014) e cabras leiteiras (Abd El-Ghani, 2004). Em outros casos, os efeitos da adição de levedura viva não foram suficientes para alterar a quantidade de leite produzido (Bayat et al., 2015; Bitencourt et al., 2011; Dann et al., 2000; Erasmus et al., 2005; Hristov et al., 2010; Lehloenya et al., 2008; Masek et al., 2008; Robinson e Garret, 1999; Yuan et al., 2015).

Em relação à composição do leite, de maneira geral, a adição de levedura não tem demonstrado efeito sobre o teor de gordura e proteína (Bayat et al., 2015; Bitencourt et al., 2011; Dann et al., 2000; Hristov et al., 2010; Lehloenya et al., 2008; Moallem et al., 2009; Robinson e Garret, 1999; Salvati et al., 2015; Zaworski et al., 2014). Todavia, Erasmus et al. (2005) destacaram que aumento na digestão de fibras poderia potencializar a produção de gordura no leite, o que de fato ocorreu em alguns estudos realizados com cabras (Abd El-Ghani, 2004), ovelhas (Masek et al., 2008) e vacas em lactação (Leicester et al., 2016; Yuan et al., 2015).

Aumentos nos teores de proteína do leite (Leicester et al., 2016) e tendência de aumento para essa variável (Yuan et al., 2015) também foram relatados quando vacas receberam leveduras vivas. Essa resposta pode ocorrer devido ao aumento na síntese de proteína microbiana e da maior disponibilidade de proteína metabolizável para as vacas a nível intestinal, todavia esse resultado foi obtido em poucos estudos não sendo uma resposta consistente (Bruno et al., 2009).

A suplementação com levedura parece não afetar a concentração de nitrogênio ureico do leite (Bayat et al., 2015; Bitencourt et al., 2011; Dann et al., 2000; Erasmus et al., 2005; Masek et al., 2008; Moallem et al., 2009; Salvati et al., 2015; Yuan et al., 2015), embora Vohra et al. (2016) destacaram que a utilização desse aditivo microbiano poderia reduzir a excreção geral de amônia.

1.2.2 Levedura enriquecida com selênio

A utilização de leveduras na nutrição animal como probiótico é uma prática já bastante conhecida, no entanto, o uso de levedura selenizada vem ganhando destaque na produção animal. Este produto visa promover maior biodisponibilidade de selênio para o animal e, conseqüentemente, aumentar o aporte antioxidante, o desempenho produtivo e reprodutivo, além de propiciar maior incorporação de selênio nos tecidos e leite, quando comparados com animais recebendo fontes inorgânicas desse mineral (Melo et al., 2015).

O enriquecimento das leveduras consiste no crescimento das mesmas sobre um substrato contendo selênio (Gierus, 2007), visto que a *Saccharomyces cerevisiae* tem potencial para acumular selênio na forma orgânica (Lavu et al., 2016). Esse processo se baseia no fato de que as propriedades químicas e físicas do Se e do enxofre são muito semelhantes, desse modo, quando o Se estiver disponível, as células de levedura podem absorver o Se sob a forma de selenito ou selenato e incorporam esse mineral na síntese de seus aminoácidos (Lyons et al. 2007).

Determinadas cepas de leveduras são capazes de acumular mais de 3.000 µg de Se na forma orgânica por grama de biomassa seca de levedura quando o enxofre do meio de crescimento for substituído por selênio e as condições de crescimento forem adequadas (Demirci et al., 1999). Dentre os selenoaminoácidos sintetizados, a selenometionina (SeMet) é a principal (Ganther, 1999), podendo chegar a representar até 76% do Se total presente na levedura enriquecida (Polatajko et al., 2005).

Todavia, embora a SeMet seja a forma de Se dominante, cada levedura possui uma combinação única de compostos orgânicos que variam com espécie da levedura, condições de crescimento e técnicas utilizadas. Esse fato sugere que nem todas as leveduras selenizadas apresentarão os mesmos resultados e que estudos obtidos com um produto não podem ser generalizados para todas as leveduras (Lyons et al., 2007).

1.2.2.1 Metabolismo do selênio

A absorção e biodisponibilidade do selênio é dependente de sua forma química, de sua concentração na dieta, do método de processamento do alimento, da interação com outros nutrientes (Melo et al., 2015), além da espécie, status de selênio e estado

fisiológico do animal (Lyons et al., 2007). Fatores como o elevado nível de enxofre e glicosídeos cianogênicos na dieta podem comprometer a absorção de selênio. Tanto a alta quanto baixa concentração de cálcio dietético também podem reduzir a absorção de selênio (Spears, 2003).

A utilização de fontes de Se orgânica (levedura selenizada) ou inorgânica (selenito e selenato) também interfere na biodisponibilidade visto que estas são absorvidas e utilizadas de maneiras distintas. No rúmen, as fontes de selenito e selenato podem ser parcialmente reduzidas pelos microrganismos ruminais a Se elementar (Se^0) ou selenidas como um meio de detoxificação, o que as torna pouco solúveis (Del Claro, 2007; Spears 2003;). Os microrganismos também têm a capacidade de incorporar Se na proteína microbiana (Kim et al., 1997) sendo que o Se presente na dieta de forma orgânica pode ser absorvido no intestino delgado na forma orgânica (Gierus, 2007).

A absorção de selênio em ruminantes se dá principalmente no duodeno (Del Claro, 2007), sendo que o selenito é absorvido por difusão passiva, enquanto que o selenato e a SeMet por transporte ativo. O selenato compartilha a mesma via de absorção que o enxofre enquanto que a SeMet por ser análoga à metionina é absorvida pelo mesmo mecanismo que esta (Daniels, 1996; Gierus, 2007).

Após a absorção, o selenito é captado pelos eritrócitos, reduzido a seleneto de hidrogênio e acoplado a albumina plasmática para ser transportado ao fígado (Gierus, 2007). O selenato é transportado através do sistema de transporte dos sulfatos (Figura 3) pela corrente sanguínea (Cominetti et al., 2011) e incorporado pelos hepatócitos (Melo et al., 2015). Nos eritrócitos, pode ser reduzido a selenito pela atividade da tioredoxina redutase e, posteriormente, a seleneto de hidrogênio (Fairweather-Tait et al., 2011).

A SeMet e selenocisteína (SeCis) podem ser metabolizadas como aminoácidos. A SeMet pode ser incorporada a proteínas pelo mesmo códon AUG da metionina tornando-se selenoproteínas não-funcionais, de modo que o selênio desses aminoácidos somente será liberado após o catabolismo protéico (Daniels, 1996; Gierus, 2007). A SeMet quando catabolizada será transformada em SeCis pela mesma rota que a metionina é convertida a cisteína (Melo et al., 2015). Tanto a SeCis derivada da SeMet, bem como a SeCis da dieta é degradada pela selenocisteína β -liase e produz selênio livre que será convertido em seleneto de hidrogênio através da adição de hidrogênio provido da glutatona (Gropper et al., 2009).

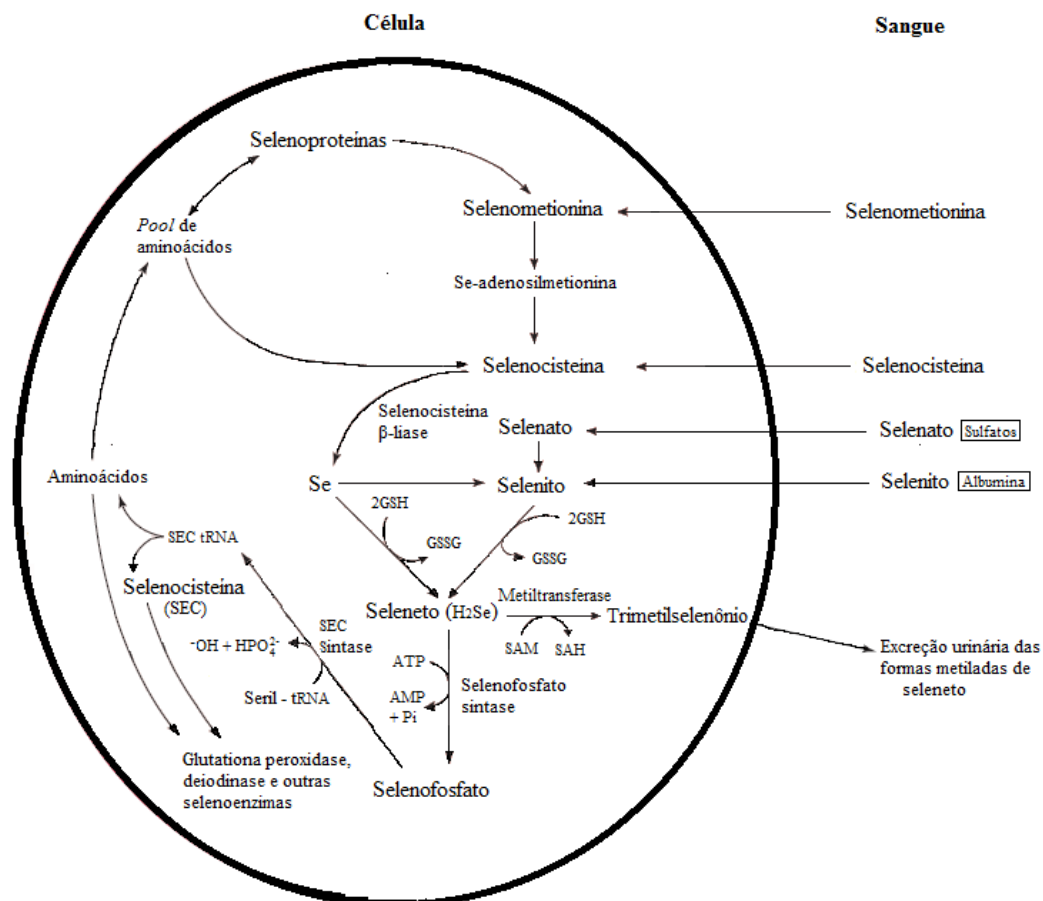


Figura 3 – Metabolismo do selênio. Fonte: Adaptado de Gropper et al. (2009)

Para que o seleneto de hidrogênio produzido a partir das fontes de selênio inorgânicas e orgânicas seja incorporado nas selenoproteínas funcionais, é necessário que este seja metabolizado a SeCis. Desse modo, a enzima selenofosfato sintetase catalisa uma reação onde o seleneto reage com ATP, formando o selenofosfato que ao juntar-se com um resíduo de serina, dará origem a SeCis (Gierus, 2007; Melo et al., 2015). Esta SeCis será utilizada para a síntese de selenoproteínas, dentre as quais as enzimas glutathiona peroxidase, deiodinase, tioredoxina redutase, selenoproteína P, entre outras (Gropper et al., 2009).

A excreção de selênio ocorre via fezes e urina. Em condições de ingestão normal de selênio, a urina é a principal via de excreção. Pelo menos cinco metabólitos de Se foram observados na urina, mas o trimetilselenônio é o mais importante (Daniels, 1996). A formação desse metabólito ocorre no fígado e rins, pela ação da metiltransferase que adiciona um grupo metila no seleneto de hidrogênio (Fairweather-Tait et al., 2011; Gierus, 2007). Em relação às fezes, o selênio eliminado por essa via se refere à

proporção desse mineral provinda da dieta e da secreção biliar que não foram absorvidas (Daniels, 1996).

Melo et al. (2015) destacaram que o selênio orgânico tem maior taxa de deposição nos tecidos, enquanto que as formas inorgânicas têm seu excesso excretado, pois não podem ser incorporados nas proteínas corporais. Este fato pode ser confirmado pelas maiores concentrações de Se no plasma (Alhidary et al., 2015; Faixová et al., 2007; Gong et al., 2014; Juniper et al., 2008), no leite (Gong et al., 2014; Knowles et al., 1999; Ortman e Pehrson, 1999; Paschoal et al., 2007) e nos músculos (Juniper et al., 2008) de animais suplementados com levedura selenizada em relação a animais sem suplementação ou suplementados com fontes inorgânicas. Stockdale et al. (2011) relataram aumento na concentração de Se no leite cinco dias após o início da suplementação e redução do mesmo, três semanas após o término da suplementação com levedura selenizada.

1.2.2.2 Defesa antioxidante e seus efeitos na saúde da glândula mamária e na estabilidade oxidativa do leite

O organismo animal está constantemente sujeito aos efeitos nocivos provocados por radicais livres que são gerados naturalmente pelos processos fisiológicos das células (Ondei et al., 2014). Radicais livres são átomos ou moléculas contendo um ou mais elétrons não pareados, tornando-se por esse motivo instáveis e capazes de danificar biologicamente moléculas de DNA, proteínas, lipídios ou carboidratos (Surai, 2006). Os radicais livres incluem o superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) o radical hidroxila (OH^{\cdot}), óxido nítrico (NO^{\cdot}), entre outros (Matés, 2000).

A principal reação biológica em cadeia provocada pelos radicais livres é a peroxidação lipídica (Cominetti et al., 2011). O primeiro passo dessa reação (Figura 4) ocorre com o sequestro do hidrogênio do ácido graxo poli-insaturado (LH) da membrana celular pela hidroxila (OH^{\cdot}) formando o radical lipídico (L^{\cdot}). Durante a fase de propagação, o L^{\cdot} reage rapidamente com oxigênio, resultando no radical peroxila (LOO^{\cdot}) que sequestra um novo hidrogênio do ácido graxo poli-insaturado, formando um novo radical. O término da peroxidação ocorre quando os radicais L^{\cdot} e LOO^{\cdot} propagam-se até destruírem a si próprios (Ferreira e Matsubara, 1997).

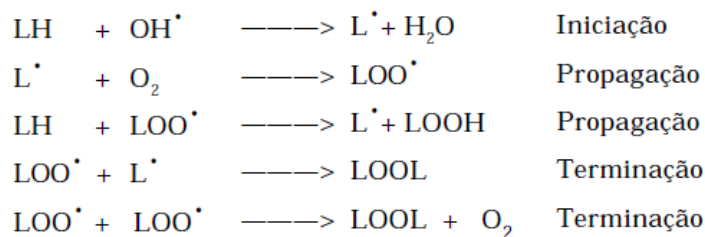


Figura 4 –Reação em cadeia da lipoperoxidação. Fonte: Adaptado Ferreira e Matsubara (1997)

Reduzir a peroxidação lipídica é processo essencial para todos os organismos aeróbicos (Matés 2000). Desse modo, o sistema de defesa antioxidante pode ser dividido em não-enzimático e enzimático. O não-enzimático inclui antioxidantes oriundos na dieta como vitaminas, minerais e compostos fenólicos, enquanto que o enzimático inclui a família de enzimas superóxido dismutase, catalase e glutaciona peroxidase (Ondei et al., 2014).

Dentro desse sistema de defesa, o selênio compõe o sítio catalítico da enzima glutaciona peroxidase (Cominetti et al., 2011), que usa a glutaciona reduzida (GSH) para doar elétrons para o peróxido de hidrogênio, produzindo água (Figura 5). A glutaciona oxidada (GSSG) volta ao seu estado reduzido (GSH) pela ação da glutaciona redutase que é dependente da disponibilidade de NADPH, oriundo da via das pentoses (Del Claro, 2007).

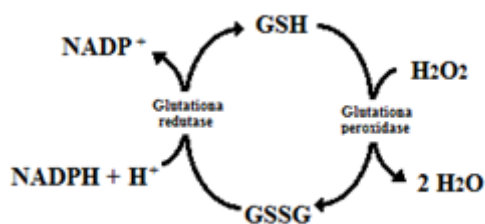


Figura 5 –Ciclo de oxidação e redução da glutaciona; Fonte: Adaptado de Cominetti et al. (2011)

Alguns estudos reportaram aumento na concentração de glutaciona peroxidase no sangue de animais suplementados com levedura selenizada (Faixová et al., 2007; Juniper et al., 2008) em relação a dietas sem suplementação ou com Se inorgânico. Todavia, Calamari et al. (2010) e Ortman and Pehrson (1999) não obtiveram diferenças

na concentração de glutathione peroxidase ao compararem animais suplementados com Se orgânico e inorgânico. A redução na atividade das enzimas de defesa antioxidante, dentre as quais a glutathione peroxidase, foi observada em vacas que apresentaram mastite clínica (Jhambh et al., 2013). A redução da mastite e da concentração de células somáticas do leite tem sido relatada quando vacas em lactação foram suplementadas com Se e/ou Vit E (Moeini et al., 2009; Paschoal et al. 2003; Smith et al., 1984), pois além destes nutrientes reduzirem os danos oxidativos, também melhoram a capacidade bactericida dos neutrófilos (Yang e Li, 2015). Isso ocorre, pois quando um patógeno invade a glândula mamária, os neutrófilos do sangue são a primeira linha de defesa e por isso são atraídos para o local de infecção. A função dessa célula é fagocitar e matar as bactérias causadoras da infecção. Esse processo produz uma alta concentração de radicais livres que podem ajudar a matar a bactéria, mas se não controlados, podem matar o próprio neutrófilo (Smith, 1998) e desencadear oxidação lipídica e a formação de metabólitos específicos conhecidos como marcadores de estresse oxidativo (Ondei et al., 2014).

Dentre esses metabólitos, os dienos conjugados são um dos produtos primários da oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados que têm origem a partir da formação de hidroperóxidos e deslocamento das duplas ligações (Silva et al., 1999). Outro metabólito importante é o malondialdeído (MDA) que é um produto secundário da ruptura da endociclicização dos ácidos graxos poli-insaturados (França et al., 2013). Suriyasathaporn et al. (2006) reportaram que o leite com maior contagem de células somáticas esteve positivamente associado ao nível de MDA no leite.

Atakisi et al. (2010) destacaram que tanto a mastite clínica, bem como a subclínica estão associadas ao aumento da capacidade oxidante total e à diminuição da capacidade total de antioxidantes no leite. Estudos que compararam fontes inorgânicas de Se com levedura selenizada, embora tenham observado maiores concentrações de Se no leite (Gong et al. 2014) e no músculo *multífido lombar* (Juniper et al., 2008), não detectaram diferenças na estabilidade oxidativa dos produtos.

Referências

(Normas Livestock Science)

- Abd El-Ghani, A.A., 2004. Influence of diet supplementation with yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance of Zaraibi goats. *Small Rumin. Res.* 52, 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.06.002>
- Aguilera-Soto, J.I., Ramirez, R.G., Arechiga, C.F., López, M.A., Bañuelos, R., Duran, M., Rodrigues, E., 2007. Influence of wet brewers grains on rumen fermentation, digestion, and performance in growing lambs. *J. Anim. Vet. Adv.* 6, 641–645.
- Alhidary, I.A., Shini, S., Al Jassim, R.A.M., Abudabos, A.M., Gaughan, J.B., 2015. Effects of selenium and vitamin E on performance, physiological response, and selenium balance in heat-stressed sheep. *J. Anim. Sci.* 93, 576–588. <https://doi.org/10.2527/jas2014-8419>
- Aliyu, S., Bala, M., 2011. Brewer's spent grain: A review of its potentials and applications. *African J. Biotechnol.* 10, 324–331. <https://doi.org/10.4314/ajb.v10i3>.
- Armentano, L.E., Herrington, T.A., Polan, C.E., Moe, A.J., Herbein, J.H., Umstadt, P., 1986. Ruminant degradation of dried brewers grains, wet brewers grains, and soybean meal. *J. Dairy Sci.* 69, 2124–2133. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80644-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80644-0)
- Atakisi, O., Oral, H., Atakisi, E., Merhan, O., Metin Pancarci, S., Ozcan, A., Marasli, S., Polat, B., Colak, A., Kaya, S., 2010. Subclinical mastitis causes alterations in nitric oxide, total oxidant and antioxidant capacity in cow milk. *Res. Vet. Sci.* 89, 10–13. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.01.008>
- Bamforth, C.W., 2009. Current perspectives on the role of enzymes in brewing. *J. Cereal Sci.* 50, 353–357. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.03.001>
- Bayat, A.R., Kairenius, P., Stefański, T., Leskinen, H., Comtet-Marre, S., Forano, E., Chaucheyras-Durand, F., Shingfield, K.J., 2015. Effect of camelina oil or live yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal methane production, rumen fermentation, and milk fatty acid composition in lactating cows fed grass silage diets. *J. Dairy Sci.* 98, 3166–3181. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-7976>
- Belibasakis, N.G., Tsirgogianni, D., 1996. Effects of sodium carbonate on milk yield, milk composition and blood components of dairy cows in hot weather. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57, 171–181. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(91\)90053-U](https://doi.org/10.1016/0377-8401(91)90053-U)
- Bitencourt, L.L., Silva, J.R.M., Oliveira, B.M.L. de, Dias Júnior, G.S., Lopes, F., Siécola Júnior, S., Zacaroni, O. de F., Pereira, M.N., 2011. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. *Sci. Agric.* 68, 301–307. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162011000300005>
- Bradford, B.J., Mullins, C.R., 2012. Invited review: Strategies for promoting productivity and health of dairy cattle by feeding nonforage fiber sources. *J. Dairy Sci.* 95, 4735–4746. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5393>
- Brasil, 2009. Decreto N° 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. *Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil*.
- Bruno, R.G.S., Rutigliano, H.M., Cerri, R.L., Robinson, P.H., Santos, J.E.P., 2009. Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. *Anim. Feed Sci. Technol.* 150, 175–186. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.09.001>

- Brust, L.A.C., Aragão, A.P., Bezerra, P.S., Galvão, A., França, T.N., Graça, F.A.S., Peixoto, P. V., 2015. Enfermidades em bovinos associadas ao consumo de resíduos de cervejaria. *Pesqui. Vet. Bras.* 35, 956–964. <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2015001200004>
- Cabral Filho, S.L.S., Bueno, I.C. da S., Abdalla, A.L., 2007. Substituição do feno de tifton pelo resíduo úmido de cervejaria em dietas de ovinos em manutenção. *Ciência Anim. Bras.* 8, 7573.
- Calamari, L., Petrera, F., Bertin, G., 2010. Effects of either sodium selenite or Se yeast (Sc CNCM I-3060) supplementation on selenium status and milk characteristics in dairy cows. *Livest. Sci.* 128, 154–165. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.12.005>
- Cao, Y., Cai, Y., Hirakubo, T., Fukui, H., Matsuyama, H., 2011. Fermentation characteristics and microorganism composition of total mixed ration silage with local food by-products in different seasons. *Anim. Sci. J.* 82, 259–266. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2010.00840.x>
- Celus, I., Brijs, K., Delcour, J.A., 2006. The effects of malting and mashing on barley protein extractability. *J. Cereal Sci.* 44, 203–211. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.06.003>
- CervBrasil, 2016. Anuário 2016. Associação Brasileira da Indústria da Cerveja.
- Chaucheyras-Durand, F., Walker, N.D., Bach, A., 2008. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 5–26. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.019>
- Chiou, P.W.-S., Chen, C.-R., Chen, K.-J., Yu, B., 1998. Wet brewers' grains or bean curd pomace as partial replacement of soybean meal for lactating cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 74, 123–134. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(98\)00170-9](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(98)00170-9)
- Clark, J.H., Murphy, M.R., Crooker, B.A., 1987. Supplying the protein needs of dairy cattle from by-product feeds. *J. Dairy Sci.* 70, 1092–1109. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80116-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80116-9)
- Cominetti, C., Bortoli, M.C., Abdalla, D.S.P., Cozzolino, S.M.F., 2011. Considerações sobre estresse oxidativo, selênio e nutrigenética. *Nutrire* 36, 131–153.
- Cozzi, G., Polan, C.E., 1994. Corn gluten meal or dried brewers grains as partial replacement for soybean meal in the diet of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77, 825–34. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77017-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77017-X)
- Cozzolino, D., Roumeliotis, S., Eglinton, J.K., 2014. The role of total lipids and fatty acids profile on the water uptake of barley grain during steeping. *Food Chem.* 151, 231–235. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.073>
- Daniels, L.A., 1996. Selenium metabolism and bioavailability. *Biol. Trace Elem. Res.* 54, 185–199. <https://doi.org/10.1007/BF02784430>
- Dann, H.M., Drackley, J.K., McCoy, G.C., Hutjens, M.F., Garrett, J.E., 2000. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 83, 123–127. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74863-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74863-6)
- Davis, C.L., Grenawalt, D.A., McCoy, G.C., 1983. Feeding value of pressed brewers' grains for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 66, 73–79. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(83\)81755-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)81755-X)
- Del Claro, G.R., 2007. Influência da suplementação de cobre e selênio no metabolismo de lipídeos em bovinos. Universidade de São Paulo.
- Del Río, J.C., Prinsen, P., Gutiérrez, A., 2013. Chemical composition of lipids in brewer's spent grain: A promising source of valuable phytochemicals. *J. Cereal Sci.* 58, 248–254. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.07.001>
- Demirci, A., Pometto, A.L., Cox, D.J., 1999. Enhanced organically bound selenium

- yeast production by fed-batch fermentation. *J. Agric. Food Chem.* 47, 2496–2500. <https://doi.org/10.1021/jf9811976>
- Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Bertin, G., Duvaux-Ponter, C., Sauvant, D., 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *J. Dairy Sci.* 92, 1620–1632. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1414>
- Dhiman, T.R., Bingham, H.R., Radloff, H.D., 2003. Production response of lactating cows fed dried versus wet brewers' grain in diets with similar dry matter content. *J. Dairy Sci.* 86, 2914–2921. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73888-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73888-0)
- Doreau, M., Jouany, J.P., 1998. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on nutrient digestion in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81, 3214–3221. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75885-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75885-0)
- Duthie, C.A., Rooke, J.A., Hyslop, J.J., Waterhouse, A., 2015. Methane emissions from two breeds of beef cows offered diets containing barley straw with either grass silage or brewers' grains. *Animal* 9, 1680–1687. <https://doi.org/10.1017/S1751731115001251>
- Enjalbert, F., Garrett, J.E., Moncoulon, R., Bayourthe, C., Chicoteau, P., 1999. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal digestion in non-lactating dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 76, 195–206. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(98\)00230-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(98)00230-2)
- Erasmus, L.J., Robinson, P.H., Ahmadi, A., Hinders, R., Garrett, J.E., 2005. Influence of prepartum and postpartum supplementation of a yeast culture and monensin, or both, on ruminal fermentation and performance of multiparous dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 122, 219–239. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.03.004>
- Faccenda, A., Zambom, M.A., Castagnara, D.D., de Avila, A.S., Fernandes, T., Eckstein, E.I., Anschau, F.A., Schneider, C.R., 2017. Use of dried brewers' grains instead of soybean meal to feed lactating cows. *Rev. Bras. Zootec.* 46, 39–46. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000100007>
- Fairweather-Tait, S.J., Bao, Y., Broadley, M.R., Collings, R., Ford, D., Hesketh, J.E., Hurst, R., 2011. Selenium in human health and disease. *Antioxid Redox Signal* 14, 1337–1383. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3275> [doi]
- Faixová, Z., Faix, Š., Leng, L., Váczi, P., Maková, Z., Szabóová, R., 2007. Haematological, blood and rumen chemistry changes in lambs following supplementation with se-yeast. *Acta Vet. Brno* 76, 3–8. <https://doi.org/10.2754/avb200776010003>
- Ferreira, A.L.A., Matsubara, L.S., 1997. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 43, 61–68. <https://doi.org/10.1590/S0104-42301997000100014>
- Firkins, J.L., Harvatine, D.I., Sylvester, J.T., Eastridge, M.L., 2002. Lactation performance by dairy cows fed wet brewers grains or whole cottonseed to replace forage. *J. Dairy Sci.* 85, 2662–2668. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74351-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74351-8)
- França, B.K., Melo Alves, M.R., Silveira Souto, F.M., Tiziane, L., Freire Boaventura, R., Guimarães, A., Alves, A., 2013. Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. *GE J. Port. Gastroenterologia* 20, 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.jpg.2013.04.002>
- Ganther, H.E., 1999. Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: Complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis* 20, 1657–1666. <https://doi.org/10.1093/carcin/20.9.1657>
- Geron, J.L.V., Zeoula, L.M., Branco, A.F., 2007. Caracterização, fracionamento

- protéico, degradabilidade ruminal e digestibilidade in vitro da matéria seca e proteína bruta do resíduo de cervejaria úmido e fermentado. *Acta Sci. Anim. Sci.* 29, 291–299.
- Geron, L.J.V., Zeoula, L.M., Erkel, J.A., Do Prado, I.N., Jonker, R.C., Guimarães, K.C., 2008. Coeficiente de digestibilidade e características ruminais de bovinos alimentados com rações contendo resíduo de cervejaria fermentado. *Rev. Bras. Zootec.* 37, 1685–1695. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982008000900023>
- Geron, L.J.V., Zeoula, L.M., Erkel, J.A., Prado, I.N. do, Bublitz, E., Prado, O.P.P. do, 2010. Consumo, digestibilidade dos nutrientes, produção e composição do leite de vacas alimentadas com resíduo de cervejaria fermentado - DOI: 10.4025/actascianimsci.v32i1.6990. *Acta Sci. Anim. Sci.* 32, 69–76. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v32i1.6990>
- Gierus, M., 2007. Fontes orgânicas e inorgânicas de selênio na nutrição de vacas leiteiras: digestão, absorção, metabolismo e exigências. *Ciência Rural* 37, 1212–1220. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782007000400052>
- Gong, J., Ni, L., Wang, D., Shi, B., Yan, S., 2014. Effect of dietary organic selenium on milk selenium concentration and antioxidant and immune status in midlactation dairy cows. *Livest. Sci.* 170, 84–90. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.10.003>
- Gonzalez Pereyra, M.L., Rosa, C.A.R., Dalcero, A.M., Cavaglieri, L.R., 2011. Mycobiota and mycotoxins in malted barley and brewer's spent grain from Argentinean breweries. *Lett. Appl. Microbiol.* 53, 649–655. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03157.x>
- Gropper, S.S., Smith, J.L., Groff, J.L., 2009. Microminerals. Selenium, in: Gropper, S.S., Smith, J.L., Groff, J.L. (Eds.), *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. Wadsworth, Cengage Learning, Belmont, pp. 506–512.
- Guedes, C.M., Gonçalves, D., Rodrigues, M.A.M., Dias-da-Silva, A., 2008. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 27–40. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.037>
- Gupta, M., Abu-Ghannam, N., Gallagher, E., 2010. Barley for brewing: Characteristic changes during malting, brewing and applications of its by-products. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 9, 318–328. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00112.x>
- Hristov, A.N., Varga, G., Cassidy, T., Long, M., Heyler, K., Karnati, S.K.R., Corl, B., Hovde, C.J., Yoon, I., 2010. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93, 682–692. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2379>
- Imaizumi, H., Batistel, F., de Souza, J., Santos, F.A.P., 2015. Replacing soybean meal for wet brewer's grains or urea on the performance of lactating dairy cows. *Trop. Anim. Health Prod.* 47, 877–882. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0802-y>
- Jhambh, R., Dimri, U., Gupta, V.K., Rathore, R., 2013. Blood antioxidant profile and lipid peroxides in dairy cows with clinical mastitis. *Vet. World* 6, 271–273. <https://doi.org/10.5455/vetworld.2013.271-273>
- Johnson, C.O.L.E., Huber, J.T., King, K.J., 1987. Storage and utilization of brewers wet grains in diets for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 70, 98–107. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)79984-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)79984-6)
- Juniper, D.T., Phipps, R.H., Ramos-Morales, E., Bertin, G., 2008. Effect of dietary supplementation with selenium-enriched yeast or sodium selenite on selenium tissue distribution and meat quality in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 86, 3100–3109. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0595>
- Källman, A., Bertoft, E., Koch, K., Sun, C., Åman, P., Andersson, R., 2015. Starch

- structure in developing barley endosperm. *Int. J. Biol. Macromol.* 81, 730–735. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.09.013>
- Kim, J., Van Soest, P.J., Combs, G.F., 1997. Studies on the effects of selenium on rumen microbial fermentation in vitro. *Biol. Trace Elem. Res.* 56, 203–213. <https://doi.org/10.1007/BF02785393>
- Knowles, S.O., Grace, N.D., Wurms, K., Lee, J., 1999. Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk, and casein selenium concentrations in grazing cows. *J. Dairy Sci.* 82, 429–437. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75249-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75249-5)
- Lavu, R.V.S., Van De Wiele, T., Pratti, V.L., Tack, F., Du Laing, G., 2016. Selenium bioaccessibility in stomach, small intestine and colon: Comparison between pure Se compounds, Se-enriched food crops and food supplements. *Food Chem.* 197, 382–387. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.001>
- Lehloeny, K. V., Stein, D.R., Allen, D.T., Selk, G.E., Jones, D.A., Aleman, M.M., Rehberger, T.G., Mertz, K.J., Spicer, L.J., 2008. Effects of feeding yeast and propionibacteria to dairy cows on milk yield and components, and reproduction. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* 92, 190–202. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2007.00726.x>
- Leicester, H.C.W., Robinson, P.H., Erasmus, L.J., 2016. Effects of two yeast based direct fed microbials on performance of high producing dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 215, 58–72. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.03.003>
- Lyons, M.P., Papazyan, T.T., Surai, P.F., 2007. Selenium in food chain and animal nutrition: Lessons from nature - Review. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 20, 1135–1155. <https://doi.org/10.5713/ajas.2007.1135>
- Marden, J.P., Julien, C., Monteils, V., Auclair, E., Moncoulon, R., Bayourthe, C., 2008. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? *J. Dairy Sci.* 91, 3528–3535. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0889>
- Masek, T., Mikulee, Z., Valpotié, H., Kusée, L., Mikulee, N., Antunac, N., 2008. The influence of live yeast cells on the performance of grazing dairy sheep in late lactation. *Vet. Arh.* 78, 95–104.
- Matés, J.M., 2000. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology* 153, 83–104. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(00\)00306-1](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00306-1)
- Mathias, T.R. dos S., Alexandre, V.M.F., Cammarota, M.C., de Mello, P.P.M., Sérvulo, E.F.C., 2015. Characterization and determination of brewer's solid wastes composition. *J. Inst. Brew.* 121, 400–404. <https://doi.org/10.1002/jib.229>
- Mega, J.F., Neves, E., Andrade, R.J. De, 2011. A produção da cerveja no Brasil. *Rev. CITINO* 1, 34–42.
- Melo, M.G.P. De, Dian, P.H.M., Bertipaglia, L.M.A., Ribeiro, S.F., Silva, J.R.R.I., Alves, J.C., Roque, C., 2015. Selênio levedura. *Boletim Técnico da Universidade Camilo Castelo Branco, Departamento de Produção Animal*, 15.
- Meneses, N.G.T., Martins, S., Teixeira, J.A., Mussatto, S.I., 2013. Influence of extraction solvents on the recovery of antioxidant phenolic compounds from brewer's spent grains. *Sep. Purif. Technol.* 108, 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.02.015>
- Miyazawa, K., Sultana, H., Hirata, T., Kanda, S., Itabashi, H., 2007. Effect of brewer's grain on rumen fermentation, milk production and milk composition in lactating dairy cows. *Anim. Sci. J.* 78, 519–526. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2007.00471.x>

- Moallem, U., Lehrer, H., Livshitz, L., Zachut, M., Yakoby, S., 2009. The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. *J. Dairy Sci.* 92, 343–351. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0839>
- Moate, P.J., Williams, S.R.O., Grainger, C., Hannah, M.C., Ponnampalam, E.N., Eckard, R.J., 2011. Influence of cold-pressed canola, brewers grains and hominy meal as dietary supplements suitable for reducing enteric methane emissions from lactating dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166–167, 254–264. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.069>
- Moeini, M.M., Karami, H., Mikaeili, E., 2009. Effect of selenium and vitamin E supplementation during the late pregnancy on reproductive indices and milk production in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 114, 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.09.012>
- Mosoni, P., Chaucheyras-Durand, F., Béra-Maillet, C., Forano, E., 2007. Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: Effect of a yeast additive. *J. Appl. Microbiol.* 103, 2676–2685. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03517.x>
- Mussatto, S.I., Dragone, G., Roberto, I.C., 2006. Brewers' spent grain: Generation, characteristics and potential applications. *J. Cereal Sci.* 43, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.06.001>
- Negesse, T., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2009. Nutritive value of some non-conventional feed resources of Ethiopia determined by chemical analyses and an in vitro gas method. *Anim. Feed Sci. Technol.* 154, 204–217. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.09.010>
- Newbold, C.J., Wallace, R.J., Che, X.B., McIntosh, F.M., 1995. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. *J. Anim. Sci.* 73, 1811–1818. <https://doi.org/10.2527/1995.7361811x>
- Nicodemo, M.L.F.M.L., 2001. Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte, Embrapa Gado de Corte. <https://doi.org/10.4025/actascihumansoc.v25i1.2211>
- Ondei, L.D.S., Teresa, F.B., Bonini-domingos, C.R., 2014. Avaliação de fatores preditivos de estresse oxidativo em pessoas saudáveis 27, 167–173.
- Ortman, K., Pehrson, B., 1999. Effect of selenate as a feed supplement to dairy cows in comparison to selenite and selenium yeast. *J. Anim. Sci.* 77, 3365–3370. <https://doi.org/10.2527/1999.77123365x>
- Paschoal, J.J., Zanetti, M.A., Cunha, J.A., 2003. Suplementação de selênio e vitamina E sobre a contagem de células somáticas no leite de vacas da raça Holandesa. *Rev. Bras. Zootec.* 32, 2032–2039. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982003000800029>
- Paschoal, J.J., Zanetti, M.A., Del Claro, G.R., Melo, M.P., Pugine, S.P., Cunha, J.A., 2007. Efeito da dieta contendo alta inclusão de soja extrusada e fonte orgânica de selênio sobre a composição, teor de CLA, perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vacas Holandesas. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 42, 1793–1799.
- Pereira, J.C., Carro, M.D., Gonzalez, J., Alvir, M.R., Rodriguez, C.A., 1998. Rumen degradability and intestinal digestibility of brewers' grains as affected by origin and heat treatment and of barley rootlets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 74, 107–121.
- Pinto, A.R.M., 2013. Avaliação do processo de secagem no fabrico de malte. Universidade Técnica de Lisboa.
- Piperova, L.S., Teter, B.B., Bruckental, I., Sampugna, J., Mills, S.E., Yurawecz, M.P., Fritsche, J., Ku, K., Erdman, R.A., 2000. Mammary lipogenic enzyme activity,

- trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. *J. Nutr.* 130, 2568–74.
- Polan, C.E., Herrington, T.A., Wark, W.A., Armentano, L.E., 1985. Milk production response to diets supplemented with dried brewers grains, wet brewers grains, or soybean meal. *J. Dairy Sci.* 68, 2016–2026. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)81063-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)81063-8)
- Połatajko, A., Banaś, B., Encinar, J.R., Szpunar, J., 2005. Investigation of the recovery of selenomethionine from selenized yeast by two-dimensional LC-ICP MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 381, 844–849. <https://doi.org/10.1007/s00216-004-2996-0>
- Poppy, G.D., Rabiee, A.R., Lean, I.J., Sanchez, W.K., Dorton, K.L., Morley, P.S., 2012. A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95, 6027–6041. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5577>
- Reinold, M.R., 1997. Manual prático de cervejaria, first edit. ed. Aden Editora e Comunicações Ltda, São Paulo.
- Reis, S.F., Abu-Ghannam, N., 2014. Antioxidant capacity, arabinoxylans content and invitro glycaemic index of cereal-based snacks incorporated with brewer's spent grain. *LWT - Food Sci. Technol.* 55, 269–277. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.004>
- Robertson, J.A., P'Anson, K.J.A., Treimo, J., Faulds, C.B., Brocklehurst, T.F., Eijsink, V.G.H., Waldron, K.W., 2010. Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. *LWT - Food Sci. Technol.* 43, 890–896. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.019>
- Robinson, P.H., Garrett, J.E., 1999. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to diets postpartum. *J. Dairy Sci.* 77, 988–999. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76038-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76038-7)
- Rogers, J.A., Conrad, H.R., Dehority, B.A., Grubb, J.A., 1986. Microbial numbers, rumen fermentation, and nitrogen utilization of steers fed wet or dried brewers' grains. *J. Dairy Sci.* 69, 745–753. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80463-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80463-5)
- Salvati, G.G.S., Morais Júnior, N.N., Melo, A.C.S., Vilela, R.R., Cardoso, F.F., Aronovich, M., Pereira, R.A.N., Pereira, M.N., 2015. Response of lactating cows to live yeast supplementation during summer. *J. Dairy Sci.* 98, 4062–4073. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9215>
- Santos, K.A., Stern, M.D., Satter, L.D., 1984. Protein degradation in the rumen and amino acid absorption in the small intestine of lactating dairy cattle fed various protein sources. *J. Anim. Sci.* 58, 244–255. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2007.03.023>
- Santos, M.S., Ribeiro, F.M., 2015. Cervejas e Refrigerantes, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental -CETESB. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Schmitt, M.R., Skadsen, R.W., Budde, A.D., 2013. Protein mobilization and malting-specific proteinase expression during barley germination. *J. Cereal Sci.* 58, 324–332. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.05.007>
- Schwarz, P., Li, Y., 2011. Malting and brewing uses of barley, in: Ullrich, S.E. (Ed.), *Barley: Production, Improvement, and Uses*. Wiley-Blackwell, Chichester, pp. 478–521. <https://doi.org/10.1002/9780470958636.ch15>
- Silva, F.A.M., Borges, M.F.M., Ferreira, M.A., 1999. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Quim. Nova* 22, 94–103. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000100016>

- Silva, V.B., da Fonseca, C.E.M., Morenz, M.J.F., Peixoto, E.L.T., Moura, E. dos S., de Carvalho, I. das N.O., 2010. Resíduo úmido de cervejaria na alimentação de cabras. *Rev. Bras. Zootec.* 39, 1595–1599. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000700028>
- Smith, K.L., Harrison, J.H., Hancock, D.D., Todhunter, D.A., Conrad, H.R., 1984. Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. *J. Dairy Sci.* 67, 1293–1300. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81436-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81436-8)
- Smith, K.L., Weiss, W.P., Hogan, J.S., 1998. Influence of vitamin E and selenium on mastitis and Milk quality in dairy cows, in: Texas Animal Nutrition Council. pp. 55–62.
- Spears, J.W., 2003. Comparative trace element nutrition- Trace mineral bioavailability in ruminants. *J. Nutr.* 133, 1506–1509.
- Stockdale, C.R., Shields, P.M., McKenna, a, Walker, G.P., Dunshea, F.R., Doyle, P.T., 2011. Selenium levels in cows fed pasture and concentrates or a total mixed ration and supplemented with selenized yeast to produce milk with supra-nutritional selenium concentrations. *J. Dairy Sci.* 94, 262–72. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3590>
- Surai, P.F., 2006. Antioxidant systems in animal body, in: Surai, P.F. (Ed.), *Selenium in Nutrition and Health*. Nottingham University Press, Nottingham, pp. 985–994.
- Suriyasathaporn, W., Vinitketkumnuen, U., Chewonarin, T., Boonyayatra, S., Kreausukon, K., Schukken, Y.H., 2006. Higher somatic cell counts resulted in higher malondialdehyde concentrations in raw cows' milk. *Int. Dairy J.* 16, 1088–1091. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.11.004>
- Tang, Z., Cenkowski, S., Izydorczyk, M., 2005. Thin-layer drying of spent grains in superheated steam. *J. Food Eng.* 67, 457–465. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.04.040>
- Throne, M., Bach, A., Ruiz-Moreno, M., Stern, M.D., Linn, J.G., 2009. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows. Yeast supplementation on rumen fermentation. *Livest. Sci.* 124, 261–265. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.02.007>
- Vohra, A., Syal, P., Madan, A., 2016. Probiotic yeasts in livestock sector. *Anim. Feed Sci. Technol.* 219, 31–47. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.05.019>
- Wallace, R.J., 1994. Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. *J. Anim. Sci.* 72, 2992–3003.
- West, J.W., Ely, L.O., Martin, S.A., 1994. Wet brewers grains for lactating dairy-cows during hot, humid weather. *J. Dairy Sci.* 77, 196–204. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)76942-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)76942-3)
- Westendorf, M.L., Wohlt, J.E., Sniffen, C.J., Ward, R.T., 2014. Nutrient content of brewers grains produced at a commercial brewery: Variation in protein/nitrogen, fiber, carbohydrate, fat, and minerals. *Prof. Anim. Sci.* 30, 400–406. <https://doi.org/10.15232/pas.2013-01272>
- Wohlt, J.E., Corcione, T.T., Zajac, P.K., 1998. Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed diets based on corn silage during early lactation. *J. Dairy Sci.* 81, 1345–1352. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75697-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75697-8)
- Yang, F., Li, X., 2015. Role of antioxidant vitamins and trace elements in mastitis in dairy cows. *J. Adv. Vet. Anim. Res.* 2, 1. <https://doi.org/10.5455/javar.2015.b48>
- Younker, R.S., Winland, S.D., Firkins, J.L., Hull, B.L., 1998. Effects of replacing forage fiber or nonfiber carbohydrates with dried brewers grains. *J. Dairy Sci.* 81, 2645–2656. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75822-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75822-9)

- Yuan, K., Liang, T., Muckey, M.B., Mendonça, L.G.D., Hulbert, L.E., Elrod, C.C., Bradford, B.J., 2015. Yeast product supplementation modulated feeding behavior and metabolism in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98, 532–540. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8468>
- Zaworski, E.M., Shriver-Munsch, C.M., Fadden, N.A., Sanchez, W.K., Yoon, I., Bobe, G., 2014. Effects of feeding various dosages of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97, 3081–3098. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7692>

II. OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a suplementação de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio em dietas de bovinos leiteiros contendo bagaço de malte seco, com base na ingestão e digestibilidade dos nutrientes, parâmetros sanguíneos e de fermentação ruminal, síntese microbiana, produção, composição e qualidade do leite.

III. DESEMPENHO E QUALIDADE DO LEITE DE VACAS DA RAÇA HOLANDÊS ALIMENTADAS COM BAGAÇO DE MALTE SECO E *Saccharomyces cerevisiae* ENRIQUECIDA COM SELÊNIO

(Normas Livestock Science)

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio sobre o desempenho, composição e qualidade do leite de vacas alimentadas com dietas contendo bagaço de malte seco. Foram utilizadas oito vacas da raça Holandês distribuídas em um duplo quadrado latino 4 x 4. Os tratamentos foram em esquema fatorial 2 x 2: com ou sem inclusão de bagaço de malte x com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio. A inclusão do bagaço de malte seco correspondeu a 24% na matéria seca (MS) da dieta e a quantidade de levedura fornecida foi 15g/dia sendo que a mesma era *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 contendo $1,0 \times 10^9$ UFC/g e 200 mg de selênio/kg. Vacas alimentadas com dietas contendo bagaço de malte apresentaram menor ingestão de MS, proteína bruta, carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) e maior ingestão de extrato etéreo e fibra em detergente neutro ($P < 0,05$). A digestibilidade da MS, CNF e o NDT observado das dietas com bagaço de malte foram inferiores em relação as dietas sem esse ingrediente ($P < 0,05$). A adição de levedura não influenciou a ingestão e digestibilidade dos nutrientes e os parâmetros sanguíneos. Os níveis de colesterol e triglicerídeos de vacas alimentadas com bagaço de malte foram superiores as que não receberam esse subproduto ($P < 0,05$). Houve interação significativa para ureia sanguínea, sendo que as concentrações da dieta com bagaço de malte foi superior as dietas sem bagaço e sem bagaço com levedura ($P < 0,05$). Vacas que receberam dieta sem bagaço de malte com levedura produziram mais proteína microbiana do que as que foram alimentadas apenas com bagaço de malte ($P < 0,05$). A utilização de *Saccharomyces cerevisiae* selenizada não teve efeito sobre a produção, composição e estabilidade oxidativa do leite. A inclusão de bagaço de malte reduziu a produção de leite corrigida para energia, o teor de gordura, proteína, caseína e sólidos totais do leite ($P < 0,05$), aumentou o nitrogênio

ureico do leite e a concentração de dienos conjugado ($P < 0,01$). Desse modo, a utilização de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio na dieta de vacas lactantes não melhorou a produção e a estabilidade oxidativa do leite e a inclusão de bagaço de malte seco reduziu a ingestão de energia, a produção de leite corrigida e os teores de gordura e proteína do leite.

Palavras chave: digestibilidade, levedura selenizada, oxidação lipídica, proteína, subproduto

1. Introdução

Nas últimas décadas, a pressão para o uso mais sustentável das áreas de terra destinadas à produção animal vem crescendo consideravelmente, além disso, o aumento nos preços dos cereais tem resultado em elevação dos custos com a alimentação do rebanho leiteiro. Todavia, estas tendências têm sido acompanhadas por uma oferta crescente de subprodutos agroindustriais que podem ser incorporados na alimentação do gado de leite, tornando os sistemas de produção mais sustentáveis (Bradford e Mullins, 2012).

A indústria cervejeira é uma importante fornecedora de subprodutos que podem ser incluídos na alimentação de vacas leiteiras, pois a cada 100 litros de cerveja produzidos são gerados 20 kg de bagaço de malte úmido (Reinold, 1997). Esse subproduto, também chamado de resíduo de cervejaria, possui teor proteico entre 14,5% a 33,6% na MS (Del Rio et al., 2013; Westendorf et al., 2014) e também elevado teor de fibras o que pode reduzir a digestibilidade da dieta quando utilizado em substituição a alimentos concentrados (Bradford e Mullins, 2012). Apesar disso, a utilização do bagaço de malte deve ser considerada mesmo que a sua eficiência de utilização seja baixa, pois esta prática reduz a dependência por alimentos convencionais que possuem elevado custo (Negesse et al., 2009).

Diante desse cenário, a inclusão de aditivos pode auxiliar na melhoria do aproveitamento do bagaço de malte pelos animais. A *Saccharomyces cerevisiae* é uma levedura viva que tem demonstrado efeitos positivos na digestibilidade da fibra (Guedes et al., 2008; Marden et al., 2008) e na produção leiteira (Salvati et al., 2015; Zaworski et al., 2014). Quando cultivada em um meio contendo selênio, essa levedura tem potencial

de acumular esse mineral na forma orgânica (Lavu et al., 2016). O selênio exerce papel importante na defesa antioxidante do organismo e o fornecimento desse nutriente para vacas leiteiras têm proporcionado melhorias na qualidade do leite através da redução da contagem de células somáticas (Moeini et al., 2009).

Dessa maneira, a hipótese é que a adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio em dieta para vacas em lactação contendo bagaço de malte melhore a digestibilidade da fibra e a utilização de nitrogênio promovendo incremento na produção, composição e estabilidade oxidativa do leite e redução na contagem de células somáticas. Objetivou-se avaliar o efeito da *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio sobre o desempenho, composição e qualidade do leite de vacas lactantes alimentadas com dietas contendo bagaço de malte seco.

2. Material e Métodos

O cuidado e a manipulação de animais para realização do protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Unioeste (Protocolo 12/16).

2.1. Delineamento experimental e dietas

O estudo foi conduzido em duplo quadrado latino 4 x 4, utilizando-se oito vacas da raça Holandês com média de 107 ± 39 dias de lactação. Os animais foram distribuídos em um quadrado latino de primíparas com produção de leite de $27,6 \pm 1,6$ kg e peso vivo de $582,8 \pm 51,8$ kg e outro quadrado latino de multíparas com produção leiteira de $36,2 \pm 2,0$ kg e peso vivo de $617,8 \pm 56,9$ kg. O experimento teve duração de 80 dias, sendo quatro períodos experimentais de 20 dias (14 dias destinados a adaptação dos animais a dieta e seis dias para as coletas de dados).

Os tratamentos testados foram distribuídos em esquema fatorial 2 x 2 (inclusão ou não de bagaço de malte x com ou sem adição de levedura enriquecida).

- ◆ Dieta sem inclusão de bagaço de malte seco
- ◆ Dieta sem inclusão de bagaço de malte seco + *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio;
- ◆ Dieta com inclusão de bagaço de malte seco

◆ Dieta com inclusão de bagaço de malte seco + *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio;

O bagaço de malte foi adquirido na forma úmida e seco ao sol durante dois dias. O material foi espalhado em uma quadra de concreto e durante o período de sol foi revolvido a cada hora. Depois de seco, o mesmo foi armazenado em galpão coberto (Tabela 1). As dietas foram calculadas de acordo com o NRC (2001) para atender às exigências nutricionais de vacas da raça Holandês com peso médio de 600 kg, com 100 dias de lactação, produção de 30 kg de leite por dia contendo 3,5% de gordura, 3% de proteína e 4,8% de lactose (Tabela 2). A levedura utilizada continha: *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 $1,0 \times 10^9$ UFC/g; selênio 200 mg/kg; cobalto 175 mg/kg e zinco 17.520 mg/kg de produto. A quantidade de levedura selenizada ofertada foi de 15 g por animal por dia. Esse aditivo foi misturado em 100 g de concentrado e ofertado sobre a dieta total misturada na forma de *top dress*, durante a alimentação matutina.

Os animais foram alojados em estábulo coberto, em baias individuais com cocho e bebedouro. A água foi fornecida *ad libitum* e a dieta total foi fornecida duas vezes ao dia sendo 70% do total de matéria seca (MS) fornecida diariamente às 6:30 h e 30% às 16:30 h. Após as 18:00 h, as vacas eram conduzidas a um piquete para descanso, sem disponibilidade de pastagem, onde permaneciam durante a noite. Os animais foram pesados ao início e final de cada período para ajuste da quantidade de ração fornecida de modo a assegurar sobras de aproximadamente 5% do total de MS ofertada. As ordenhas foram realizadas duas vezes ao dia às 6:00 h e 16:00 h.

2.2. Procedimentos de coletas e análises

Durante os seis dias de coleta de cada período experimental, a ingestão de alimentos foi mensurada, individualmente, pela pesagem da quantidade ofertada e de suas respectivas sobras. Amostras diárias dos alimentos fornecidos e das sobras foram coletadas e congeladas. Para a avaliação da digestibilidade, no 15° ao 20° dia do período experimental, foram coletadas amostras de fezes diretamente do reto, seguindo a distribuição: 15° dia (8:00 h), 16° dia (10:00 h), 17° dia (12:00 h), 18° dia (14:00 h), 19° dia (16:00 h), 20° dia (18:00 h).

Após as amostras de alimentos, sobras e fezes foram secas em estufa com ventilação forçada (55°C – 72 h), processadas em moinho do tipo Willey (1 mm) e

compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, formando uma amostra por animal/período. As amostras foram analisadas para os teores de MS (método 934.01), cinzas (CZ; método 938.08), proteína bruta (PB; método 981.10) e extrato etéreo (EE; método 920.85) segundo AOAC (1990) e fibra em detergente neutro (FDN) segundo Van Soest et al. (1991). A matéria orgânica (MO) foi calculada pela diferença da MS e CZ. Os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados segundo Weiss et al. (1999).

Para estimativa da excreção fecal diária, foi utilizado como indicador interno a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi). A FDAi foi determinada nas amostras do fornecido, sobras e composições fecais por intermédio de procedimento de digestibilidade *in situ* descrita por Casali et al. (2008) que consiste na incubação ruminal por 264 h e posterior extração com solução em detergente ácido.

O teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi calculado de acordo com o Sniffen et al. (1992). Para o balanço energético, a energia líquida ingerida, energia líquida de manutenção e de lactação foram calculadas de acordo com as equações do NRC (2001).

A produção diária individual das vacas foi registrada diariamente por meio de medidores acoplados ao equipamento de ordenha. A secreção diária de energia no leite foi calculada pela equação (NRC, 2001). A produção de leite corrigida para energia (PLCE) foi calculada pela equação: $PLCE = \text{Secreção diária de energia}/0,7$, assumindo que o conteúdo de energia em leite com 3,7% de gordura, 3,2% de proteína e 4,6% de lactose é 0,70 Mcal/kg. Nos dias 18º e 19º de cada período experimental, amostras de leite foram coletadas sendo que as mesmas foram compostas proporcionalmente pelo leite da ordenha da manhã e da tarde. Alíquotas de 50 mL foram acondicionadas em um frasco com bronopol para análise dos teores de gordura, proteína, caseína, lactose e sólidos totais por espectrofotometria de infravermelho (Bentley 2000; Bentley Instrument Inc., Chaska, MN), nitrogênio ureico do leite (NUL) pela metodologia de Berthelot (Chemspec 150; Bentley Instrument Inc., Chaska, MN) e contagem de células somáticas (CCS) por meio de citometria de fluxo (Somacount 300; Bentley Instrument Inc., Chaska, MN).

O poder redutor do leite foi determinado como descrito por Zhu et al. (2002) com modificações. As proteínas do leite foram precipitadas por adição de 1 mL de solução de ácido tricloroacético (20:80 w/v) a 1 mL de leite com posterior centrifugação a 3000 x g durante 10 min. Uma alíquota de 1 mL do sobrenadante foi misturada com

2,5 mL de tampão fosfato (50 mmol/L; pH 7) e 2,5 mL da solução de ferricianeto de potássio (1:99 w/v) e ácido clorídrico (1:99 v/v) e submetido a incubação a 50°C por 20 min. Posteriormente, 2,5 mL de ácido tricloroacético (10:90 w/v) foi adicionado e realizou-se nova centrifugação a 3000 x g durante 10 min. Uma alíquota de 2,5 mL de sobrenadante foi misturada a 0,5 mL de cloreto férrico (0,1:99,9 w/v) e procedeu-se a leitura da absorbância a 700 nm em espectrofotômetro (UV-M51; Bel Photonics, Piracicaba, SP). O poder redutor foi expresso em equivalente ácido gálico (EAG; mg/L).

A produção de hidroperóxidos dieno conjugados do leite foi realizada como descrito por Kiokias et al. (2006). À amostra de leite (50 µL), foram adicionados 2,5 mL de solução isooctano/2-propanol (2:1, v/v) e misturados por vortex durante 1 min. A mistura foi filtrada em filtro de membrana PTFE, 0,22 µm, e a absorbância foi medida a 232 nm. A quantidade de dienos conjugados foi expressa como mmol/kg de gordura.

A oxidação lipídica também foi mensurada com uso do ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) como descrito por Vyncke (1970) com modificações. A 500 µL de leite foram misturados 2 mL de uma solução composta de ácido tiobarbitúrico (1:99 w/v), ácido tricloroacético (15:85 w/v) e ácido clorídrico (0,005:99,995 v/v), e a mistura foi aquecida a 100 °C durante 15 min. Depois, um banho frio de 5 min e uma centrifugação (3000 x g, 10 min,) foram realizados. O sobrenadante foi lido a 538 nm em espectrofotômetro. Os valores de TBARS foram expressos como mmol de malonaldeído por kg de gordura (MDA; mmol/kg de gordura).

Para avaliação de síntese microbiana, foi realizada coleta de urina *spot*, aproximadamente quatro horas após a alimentação da manhã do 18º dia do período experimental. A urina foi filtrada em quatro camadas de gaze e 50 mL de urina foram acondicionados em frascos para análise imediata de ácido úrico e creatinina, pelos métodos enzimáticos e colorimétricos, respectivamente. Uma alíquota de 10 mL de urina filtrada foi acidificada com 40 mL de ácido sulfúrico (0,036 N) a qual foi destinada à quantificação da concentração de alantoína pela metodologia de Chen e Gomes (1992). Para a análise da alantoína do leite, uma amostra de 50 mL de leite foi coletada no mesmo dia da coleta de urina e desproteinizadas em papel-filtro utilizando 5 mL de ácido tricloroacético a 25% para cada 10 mL de leite. Posteriormente, o filtrado foi utilizado para determinação de alantoína pelo mesmo método utilizado para a urina. A excreção diária de creatinina considerada para estimar o volume urinário foi de 24,05

mg/kg de peso corporal (Chizzotti et al., 2007). A síntese microbiana foi calculada de acordo com as equações descritas por Verbic et al. (1990).

No 20º dia de cada período experimental, foi realizada a coleta de sangue dos animais em jejum e quatro horas após a alimentação da manhã, a partir da veia coccídea em tubos a vácuo sem anticoagulante. Posteriormente, foi realizada uma centrifugação a 3.200 x g por 15 min, para separação do soro. Nas amostras de soro sanguíneo referentes ao momento de jejum, foram analisados os teores de ureia, triglicerídeos, colesterol e glicose pelo método enzimático, creatinina e gama glutamiltransferase (Gama GT) pelo método cinético e fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase (ASAT), alanina aminotransferase (ALAT), cálcio, fósforo e magnésio pelo método colorimétrico, utilizando espectrofotômetro de calibração automática com leitura de alto desempenho (Flexor Biochemical Analisador EL 200; ELITech Group, Vitoria, ES). Nas amostras referentes às quatro horas após a alimentação, foram analisados os teores de ureia, triglicerídeos, colesterol e glicose.

2.3. Análises estatísticas

A normalidade das variáveis foi verificada utilizando-se o teste de Shapiro-Wilk. Os dados de CCS, por não apresentarem distribuição normal, foram transformados em Log na base 10. Os dados foram analisados considerando duplo quadrado latino 4 x 4 em esquema de fatorial 2 x 2, utilizando o procedimento MIXED do SAS 9.3 (SAS Institute, 2002). O modelo utilizado foi:

$$Y_{ijklm} = \mu + q_i + a_{j(i)} + p_k + B_1 + L_m + BL_{lm} + \epsilon_{ijklm}$$

Onde:

Y_{ijklm} = variável dependente; μ = média geral; q_i = efeito aleatório do quadrado latino; $a_{j(i)}$ = efeito aleatório do animal dentro do quadrado latino; p_k = efeito aleatório do período; B_1 = efeito fixo do bagaço de malte (inclusão ou não); L_m = efeito fixo da levedura selenizada (adição ou não); BL_{lm} = efeito da interação entre bagaço de malte e adição da levedura selenizada; ϵ_{ijklm} = erro residual associado a cada observação. As interações entre quadrado latino e os tratamentos foram incluídas no modelo, contudo como não foram significativas, as mesmas foram excluídas do modelo.

Quando houve diferença estatística, o teste de Tukey foi utilizado para fornecer comparações múltiplas. As diferenças foram declaradas quando $P \leq 0,05$.

3. Resultados

A adição de levedura viva não alterou a ingestão de MS e dos nutrientes (Tabela 3). Vacas alimentadas com dietas com a inclusão de bagaço de malte apresentaram menor ingestão de MS, MO, PB, CNF e NDT e maior ingestão de EE e FDN em relação a dietas sem bagaço de malte ($P < 0,05$).

A inclusão de bagaço de malte reduziu a digestibilidade da MS, MO, CNF e o teor de NDT ($P < 0,05$) (Tabela 4). As digestibilidades da PB, EE e FDN não apresentaram efeito para a levedura ou para a inclusão de bagaço de malte.

Os parâmetros sanguíneos não foram influenciados pela adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (Tabela 5). Os níveis de colesterol, triglicerídeos e magnésio do sangue de vacas no jejum que receberam dietas com bagaço de malte foram superiores às que receberam dietas sem esse subproduto ($P < 0,05$). A ureia apresentou interação, sendo que vacas alimentadas com bagaço de malte apresentaram maiores valores de ureia no jejum em relação à dieta sem bagaço e sem bagaço com *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio ($P < 0,05$). As concentrações de glicose, creatinina, ASAT, ALAT, Gama GT, cálcio e fósforo dos animais em jejum foram semelhante independente da inclusão ou não de bagaço de malte. Em relação aos parâmetros sanguíneos avaliados quatro horas após a alimentação, o colesterol apresentou concentrações superiores nas vacas alimentadas com inclusão de bagaço de malte sem adição de levedura, em relação aos animais que não receberam bagaço de malte. A utilização de bagaço de malte aumentou a concentração de triglicerídeos e glicose sanguínea ($P < 0,05$). Nas concentrações de ureia houve interação sendo que a mesma foi superior nas vacas alimentadas com bagaço de malte ($P < 0,01$).

A excreção diária de alantoína e a relação alantoína:creatinina foram superiores ($P < 0,05$) nas vacas alimentadas sem bagaço de malte com levedura viva em relação à dieta com bagaço de malte e levedura (Tabela 6). A excreção de ácido úrico foi inferior nas vacas que receberam bagaço de malte ($P < 0,05$), enquanto a adição de levedura aumentou a excreção desse metabólito ($P < 0,05$). Vacas que receberam dieta sem bagaço de malte e com adição de levedura produziram mais proteína microbiana do que as que foram alimentadas com a inclusão do bagaço de malte ($P < 0,05$).

A adição de levedura viva não apresentou efeito sobre a produção e composição do leite (Tabela 7). Vacas alimentadas com bagaço de malte apresentaram produção de

leite semelhante em relação às vacas que consumiram dietas sem esse ingrediente. Entretanto, a inclusão de bagaço de malte reduziu a produção de leite corrigida para energia, a eficiência de produção de leite corrigida, os teores de gordura, proteína, caseína e sólidos totais do leite ($P < 0,05$). O teor de lactose e a CCS não foi influenciado pelo bagaço de malte, nem pela utilização de levedura selenizada. O NUL foi superior no leite de vacas alimentadas com bagaço de malte ($P < 0,01$).

A utilização de *Saccharomyces cerevisiae* selenizada não interferiu na qualidade oxidativa do leite (Tabela 8). A concentração de dienos conjugados do leite aumentou quando as vacas foram alimentadas com bagaço de malte ($P < 0,01$).

A inclusão de bagaço de malte interferiu reduzindo a ingestão diária de energia líquida, a energia líquida de lactação e o balanço energético das vacas ($P < 0,05$; Tabela 9). A energia líquida para manutenção, o peso corporal e o escore de condição corporal não foram influenciados pela inclusão de bagaço de malte, nem pela adição de levedura enriquecida com selênio.

4. Discussão

4.1. Ingestão e digestibilidade dos nutrientes

A ingestão de MS e, conseqüentemente, de MO e PB das vacas que receberam dietas com inclusão do bagaço de malte foram inferiores às vacas que receberam as dietas sem a inclusão desse subproduto. Trabalhos mostram que o teor de fibras é um dos fatores que afetam a ingestão de MS (Silva et al., 2010). Provavelmente, o aumento do conteúdo de FDN da dieta pode ter causado a limitação do consumo pelo enchimento físico do rúmen, o que corrobora com a maior ingestão de FDN das vacas alimentadas com a dieta contendo bagaço de malte. Efeitos negativos na ingestão de MS também foram reportados em outros estudos com vacas em lactação que testaram níveis de 26% (Johnson et al., 1987) e 31,4% de bagaço de malte na dieta total (Faccenda et al., 2017).

A ingestão de EE foi superior quando os animais foram alimentados com bagaço de malte devido à maior concentração de lipídios nessas dietas. O teor de EE do bagaço de malte é duas vezes maior em relação aos cereais antes da maltagem (Westendorf et al., 2014) e isso ocorre devido à remoção da maior parte do amido o que, conseqüentemente, concentra os lipídios (Tang et al., 2005). Desse modo, efeito

contrário ocorreu na ingestão de CNF, que foi inferior para as dietas contendo bagaço de malte. A menor proporção de milho e farelo de soja nas dietas com inclusão de bagaço de malte, provavelmente foi responsável pela redução na concentração desses nutrientes, visto que o bagaço apresentou teor de CNF de 17,9% na MS, valores estes inferiores ao milho (78,4%) e ao farelo de soja (31,2%).

A digestibilidade da PB não foi influenciada pela adição de levedura e pela inclusão de bagaço de malte. O bagaço de malte apresenta predominantemente hordeínas e glutelinas que possuem baixa degradabilidade ruminal (Clark et al., 1987) sendo portanto absorvidas no intestino. Embora estudos *in vitro* tenham mostrado que a digestibilidade intestinal do bagaço de malte úmido (758 g/kg de MS) foi inferior a do farelo de soja (961 g/kg de MS) (Geron et al., 2007), a semelhança na digestibilidade aparente da PB no presente trabalho, provavelmente, ocorreu devido aos efeitos provocadas por alterações na taxa de passagem. Dietas com inclusão de bagaço de malte apresentaram menor ingestão de MS, o que de acordo com (Seo et al., 2006) promove redução na taxa de passagem do alimento pelo trato gastrointestinal e aumenta a digestão da dieta devido ao maior tempo em que o alimento permanece exposto aos processos digestivos.

A adição de levedura enriquecida não melhorou a digestibilidade da FDN. Vohra et al. (2016) destacaram que a inclusão de levedura viva promove aumento no crescimento e na atividade de bactérias fibrolíticas e impactam benéficamente na digestibilidade da fibra. Todavia, estudos têm demonstrado que a ocorrência ou não de efeitos positivos pode estar relacionada à dose e a cepa de levedura utilizada. Bayat et al. (2015) avaliaram a adição de 0,5 g/dia de duas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* e não observaram aumento na população de bactérias fibrolíticas e na digestibilidade da fibra em vacas lactantes, enquanto Guedes et al. (2008) avaliaram as doses de 0,3 e 1 g/dia de *Saccharomyces cerevisiae* e obtiveram melhorias na degradabilidade da FDN quando a maior dose foi utilizada em dietas para vacas secas. Newbold et al. (1995) testaram cinco cepas de *Saccharomyces cerevisiae* e obtiveram efeitos positivos sobre as bactérias fibrolíticas para três das cepas avaliadas *in vitro* (NCYC 240; NCYC 1026 e YEA SACC) e para apenas uma *in vivo* (NCYC 240).

A digestibilidade dos CNF foi inferior nas dietas com inclusão de bagaço de malte, o que pode estar relacionado à menor proporção de milho utilizada nestas dietas. Além disso, a maior parte dos CNF presentes na cevada, principalmente o amido, são removidos durante a maltagem (Gupta et al., 2010), dessa maneira, os CNF

remanescentes no bagaço de malte apresentam uma estrutura mais resistente (Tang et al., 2005) e de menor digestibilidade.

4.2. Parâmetros sanguíneos e produção microbiana

Vacas alimentadas com bagaço de malte apresentaram maiores concentrações sanguíneas de colesterol e triglicérides no jejum e quatro horas após a alimentação, do que animais alimentados sem inclusão desse subproduto. O aumento desses metabólitos possivelmente ocorreu devido à maior concentração de lipídios nas dietas com bagaço de malte, principalmente devido ao elevado teor de ácido linoléico. Estudo realizado por Bu et al. (2007) demonstraram que a inclusão de óleo na dieta de vacas em lactação aumentou a concentração de colesterol sanguíneo, sendo que este aumento foi mais significativo quando o óleo utilizado era rico em ácido linoléico.

Os níveis de glicose quatro horas após a alimentação foram superiores para as dietas com bagaço de malte. Este resultado foi inesperado e difere de outros estudos que não observaram diferenças para esse parâmetro, ao incluir bagaço de malte úmido na dieta de vacas da raça Holandês (Imaizumi et al., 2015; Miyazawa et al., 2007).

As maiores concentrações de ureia sanguínea nas dietas com bagaço de malte demonstraram a menor energia disponível para que os microrganismos do rúmen transformassem a amônia ruminal em proteína microbiana, dessa forma, o excesso de amônia é convertida em ureia e parte é excretada na forma de nitrogênio ureico através do leite (Santos e Pedroso, 2011). Provavelmente, esse desbalanço entre proteína e energia nas dietas com bagaço de malte foi provocado pela remoção da quantidade de milho na dieta e também pela menor digestibilidade dos CNF que proporcionaram menor produção de proteína microbiana diária e maior concentração de NUL. Redução linear na produção de proteína microbiana também foi relatada por Faccenda et al. (2017) ao substituir gradativamente o farelo de soja pelo bagaço de malte seco na dieta de vacas lactantes, em resposta a redução no teor de CNF da dieta que são fontes de energia rapidamente disponível.

4.3. Produção, composição e qualidade do leite

A adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio e a inclusão de bagaço de malte não alteraram a produção de leite. Em contrapartida, a produção de leite corrigida para energia foi menor nas vacas que receberam dietas com bagaço de malte, como resultado da redução nos teores de gordura e proteína do leite, aliado a maior excreção de NUL.

As menores concentrações de gordura no leite com o uso do bagaço de malte pode estar relacionada ao elevado teor de ácidos graxos insaturados dos subprodutos fibrosos que podem promover a depressão da gordura do leite (Bradford e Mullins, 2012). Estudos apontaram que a utilização de óleo poli-insaturado e com elevado teor de ácido linoléico (76%) reduziu a concentração de gordura do leite (Bell et al., 2006). Desse modo, a elevada concentração desse ácido graxo presente no bagaço de malte pode ser um dos fatores responsáveis por esse declínio no teor de gordura, considerando que, de acordo com Geron et al. (2007), o bagaço de malte úmido apresentou concentração em torno de 76,5% de ácidos graxos poli-insaturados, sendo que o ácido linoléico correspondeu a 50,2 g/100 gramas de gordura.

Redução nos teores de proteína e caseína no leite das vacas alimentadas com bagaço de malte, provavelmente ocorreram devido à menor produção de proteína microbiana, o que reduz o aporte de aminoácidos essenciais (AAE), tais como lisina e metionina para a síntese desse nutriente na glândula mamária. Esse fato corrobora com o reportado por Santos e Pedroso (2011) que destacaram que quando a produção de proteína microbiana não é maximizada, o aporte de aminoácidos essenciais para a glândula mamária é menor, pois normalmente fontes de PNDR possuem um perfil aminoacídico de menor qualidade para a produção de leite. Geron et al. (2007) confirmam menores concentrações de lisina (12,1% dos AAE) e metionina (4,2% dos AAE) obtidas no bagaço de malte fermentado em relação à proteína microbiana (16,6% de lisina e 5,1% de metionina nos AAE).

A utilização de *Saccharomyces cerevisiae* selenizada não alterou a concentração de NUL. Hristov et al. (2010) destacaram que a suplementação de levedura pode reforçar o crescimento das bactérias fibrolíticas do rúmen que possuem uma alta preferência por amônia, e com isso, melhorar a utilização do nitrogênio amoniacal e reduzir sua excreção. Todavia, a ausência de melhorias na digestibilidade da fibra, na

síntese de proteína microbiana e no teor protéico do leite com a utilização da levedura selenizada, sugere que a mesma não apresentou efeito sobre as bactérias ruminais, e conseqüentemente, na utilização de nitrogênio.

A suplementação de Se para vacas em lactação foi associada à redução da mastite e da CCS do leite (Moeini et al., 2009; Smith et al., 1984), pois esse nutriente reduz os danos oxidativos e melhoram a capacidade bactericida dos neutrófilos, por meio da ação da glutathione peroxidase (Yang e Li, 2015). Todavia, no presente estudo não foi observada redução da CCS quando as vacas foram suplementadas com a levedura viva selenizada.

A utilização de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio também não melhorou a qualidade oxidativa do leite. Outros estudos que compararam fontes inorgânicas de Se com levedura selenizada, também não detectaram diferenças na estabilidade oxidativa do leite (Gong et al., 2014). Uma possível explicação é que o selênio orgânico pode ter sido depositado nos tecidos, tornando-se selenoproteínas não-funcionais (Juniper et al., 2008) ou excretado através do leite (Gong et al., 2014), não sendo utilizado para a aumentar a atividade da glutathione peroxidase. Esse fato corrobora com Calamari et al. (2010) que não obtiveram diferenças na concentração de glutathione peroxidase ao compararem animais suplementados com Se orgânico e inorgânico.

A inclusão de bagaço de malte aumentou a concentração de dienos conjugados do leite, o que significa uma estabilidade oxidativa inferior. Essas dietas possuíam maiores concentração de lipídios insaturados que podem ter sido repassados para o leite. Estudos comprovaram que a inclusão de bagaço de malte úmido na dieta de vacas leiteiras aumentou a concentração de ácidos graxos poli-insaturados do leite (Miyazawa et al., 2007) e um leite com maior teor de ácidos graxos com duplas ligações é mais suscetível à peroxidação lipídica (Timmons et al., 2001) e à formação de produtos primários da oxidação como os dienos conjugados (Guillén e Cabo, 2002).

4.4. Balanço energético

A adição de *Saccharomyces cerevisiae* não apresentou efeito sobre o balanço energético das vacas, entretanto, a inclusão de bagaço de malte reduziu a ingestão de energia líquida, corroborando com Younker et al. (1998) que também obtiveram menor

ingestão de energia ao substituir o concentrado por bagaço de malte seco. A redução na ingestão de MS e o menor aproveitamento de nutrientes pelos animais que consumiram as dietas contendo bagaço de malte foram os principais fatores responsáveis pelo balanço energético negativo observado nesses tratamentos.

A inclusão de bagaço de malte na dieta reduziu a proporção de CNF das mesmas, impactando diretamente na energia fermentada a nível ruminal e reduzindo a produção de proteína microbiana. Desse modo, animais alimentados com esse subproduto também apresentaram maiores concentrações de NUL, o que demonstra que além da falta de energia ruminal para a síntese proteica, ainda houve gasto energético para transformar o excesso de amônia em ureia.

Todavia, o peso corporal e o escore de condição corporal dos animais foram semelhantes com ou sem a utilização de bagaço de malte. Possivelmente, o curto período de utilização das dietas não foi suficiente para que alterações nesses parâmetros fossem observadas, entretanto se fornecido por um intervalo mais longo pode acarretar em perda de peso e desempenho do rebanho.

5. Conclusão

A utilização de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio na dieta de vacas lactantes não foi vantajosa, pois não melhorou o desempenho, a composição e a estabilidade oxidativa do leite.

A inclusão de 24% de bagaço de malte seco na dieta de vacas em lactação reduziu a ingestão de energia, síntese de proteína microbiana, produção de leite corrigida para energia e os teores de gordura, proteína e estabilidade oxidativa do leite, não sendo indicado para animais dessa categoria com este nível de inclusão.

Referências

- AOAC, 1990. Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists, 15th ed, Association of Official Analytical Chemists. Arlington.
- Bayat, A.R., Kairenius, P., Stefański, T., Leskinen, H., Comtet-Marre, S., Forano, E., Chaucheyras-Durand, F., Shingfield, K.J., 2015. Effect of camelina oil or live yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal methane production, rumen fermentation, and milk fatty acid composition in lactating cows fed grass silage diets. *J. Dairy Sci.* 98, 3166–3181. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-7976>
- Bell, J.A., Griinari, J.M., Kennelly, J.J., 2006. Effect of safflower oil, flaxseed oil,

- monensin, and vitamin E on concentration of conjugated linoleic acid in bovine milk fat. *J. Dairy Sci.* 89, 733–748. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72135-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72135-X)
- Bradford, B.J., Mullins, C.R., 2012. Invited review: Strategies for promoting productivity and health of dairy cattle by feeding nonforage fiber sources. *J. Dairy Sci.* 95, 4735–4746. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5393>
- Bu, D.P., Wang, J.Q., Dhiman, T.R., Liu, S.J., 2007. Effectiveness of oils rich in linoleic and linolenic acids to enhance conjugated linoleic acid in milk from dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90, 998–1007. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71585-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71585-0)
- Calamari, L., Petrera, F., Bertin, G., 2010. Effects of either sodium selenite or Se yeast (Sc CNCM I-3060) supplementation on selenium status and milk characteristics in dairy cows. *Livest. Sci.* 128, 154–165. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.12.005>
- Casali, A.O., Detmann, E., Valadares Filho, S.D.C., Pereira, J.C., Henriques, L.T., De Freitas, S.G., Paulino, M.F., 2008. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. *Rev. Bras. Zootec.* 37, 335–342. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982008000200021>
- Chen, X.B., Gomes, M.J., 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives-an overview of the technical details. *Ocas. Publ. Buchsburnd, Aberdeen Ed. Rowett Res. Inst.* p.21.
- Chizzotti, M.L., Valadares Filho, S.D.C., Valadares, R.F.D., Chizzotti, F.H.M., Marcondes, M.I., Fonseca, M.A., 2007. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. *Rev. Bras. Zootec.* 36, 138–146. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007000100017>
- Clark, J.H., Murphy, M.R., Crooker, B.A., 1987. Supplying the protein needs of dairy cattle from by-product feeds. *J. Dairy Sci.* 70, 1092–1109. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80116-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80116-9)
- Del Río, J.C., Prinsen, P., Gutiérrez, A., 2013. Chemical composition of lipids in brewer's spent grain: A promising source of valuable phytochemicals. *J. Cereal Sci.* 58, 248–254. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.07.001>
- Faccenda, A., Zambom, M.A., Castagnara, D.D., de Avila, A.S., Fernandes, T., Eckstein, E.I., Anschau, F.A., Schneider, C.R., 2017. Use of dried brewers' grains instead of soybean meal to feed lactating cows. *Rev. Bras. Zootec.* 46, 39–46. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000100007>
- Geron, J.L.V., Zeoula, L.M., Branco, A.F., 2007. Caracterização, fracionamento protéico, degradabilidade ruminal e digestibilidade *in vitro* da matéria seca e proteína bruta do resíduo de cervejaria úmido e fermentado. *Acta Sci. Anim. Sci.* 29, 291–299.
- Gong, J., Ni, L., Wang, D., Shi, B., Yan, S., 2014. Effect of dietary organic selenium on milk selenium concentration and antioxidant and immune status in midlactation dairy cows. *Livest. Sci.* 170, 84–90. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.10.003>
- Guedes, C.M., Gonçalves, D., Rodrigues, M.A.M., Dias-da-Silva, A., 2008. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 27–40. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.037>
- Guillén, M.D., Cabo, N., 2002. Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Food Chem.* 77, 503–510. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00371-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00371-5)

- Gupta, M., Abu-Ghannam, N., Gallagher, E., 2010. Barley for brewing: Characteristic changes during malting, brewing and applications of its by-products. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 9, 318–328. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00112.x>
- Hristov, A.N., Varga, G., Cassidy, T., Long, M., Heyler, K., Karnati, S.K.R., Corl, B., Hovde, C.J., Yoon, I., 2010. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93, 682–692. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2379>
- Imaizumi, H., Batistel, F., de Souza, J., Santos, F.A.P., 2015. Replacing soybean meal for wet brewer's grains or urea on the performance of lactating dairy cows. *Trop. Anim. Health Prod.* 47, 877–882. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0802-y>
- Johnson, C.O.L.E., Huber, J.T., King, K.J., 1987. Storage and utilization of brewers wet grains in diets for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 70, 98–107. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)79984-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)79984-6)
- Juniper, D.T., Phipps, R.H., Ramos-Morales, E., Bertin, G., 2008. Effect of dietary supplementation with selenium-enriched yeast or sodium selenite on selenium tissue distribution and meat quality in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 86, 3100–3109. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0595>
- Kiokias, S.N., Dimakou, C.P., Tsaprouni, I. V., Oreopoulou, V., 2006. Effect of compositional factors against the thermal oxidative deterioration of novel food emulsions. *Food Biophys.* 1, 115–123. <https://doi.org/10.1007/s11483-006-9015-2>
- Lavu, R.V.S., Van De Wiele, T., Pratti, V.L., Tack, F., Du Laing, G., 2016. Selenium bioaccessibility in stomach, small intestine and colon: Comparison between pure Se compounds, Se-enriched food crops and food supplements. *Food Chem.* 197, 382–387. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.001>
- Marden, J.P., Julien, C., Monteils, V., Auclair, E., Moncoulon, R., Bayourthe, C., 2008. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? *J. Dairy Sci.* 91, 3528–3535. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0889>
- Miyazawa, K., Sultana, H., Hirata, T., Kanda, S., Itabashi, H., 2007. Effect of brewer's grain on rumen fermentation, milk production and milk composition in lactating dairy cows. *Anim. Sci. J.* 78, 519–526. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2007.00471.x>
- Moeini, M.M., Karami, H., Mikaeili, E., 2009. Effect of selenium and vitamin E supplementation during the late pregnancy on reproductive indices and milk production in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 114, 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.09.012>
- Negesse, T., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2009. Nutritive value of some non-conventional feed resources of Ethiopia determined by chemical analyses and an in vitro gas method. *Anim. Feed Sci. Technol.* 154, 204–217. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.09.010>
- Newbold, C.J., Wallace, R.J., Che, X.B., McIntosh, F.M., 1995. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. *J. Anim. Sci.* 73, 1811–1818. <https://doi.org/10.2527/1995.7361811x>
- NRC, 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. National Academies Press, Washington, D.C. <https://doi.org/10.17226/9825>
- Reinold, M.R., 1997. *Manual prático de cervejaria*, first edit. ed. Aden Editora e Comunicações Ltda, São Paulo.
- Salvati, G.G.S., Morais Júnior, N.N., Melo, A.C.S., Vilela, R.R., Cardoso, F.F., Aronovich, M., Pereira, R.A.N., Pereira, M.N., 2015. Response of lactating cows to live yeast supplementation during summer. *J. Dairy Sci.* 98, 4062–4073.

- <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9215>
- Santos, F.A., Pedrosa, A., 2011. Metabolismo de proteínas, in: Berchielli, T., Pires, A.V., Oliveira, S.G. (Eds.), *Nutrição de Ruminantes*. Funep, Jaboticabal, pp. 265–297.
- Seo, S., Tedeschi, L.O., Lanzas, C., Schwab, C.G., Fox, D.G., 2006. Development and evaluation of empirical equations to predict feed passage rate in cattle 128, 67–83. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.09.014>
- Silva, V.B., da Fonseca, C.E.M., Morenz, M.J.F., Peixoto, E.L.T., Moura, E. dos S., de Carvalho, I. das N.O., 2010. Resíduo úmido de cervejaria na alimentação de cabras. *Rev. Bras. Zootec.* 39, 1595–1599. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000700028>
- Smith, K.L., Harrison, J.H., Hancock, D.D., Todhunter, D.A., Conrad, H.R., 1984. Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. *J. Dairy Sci.* 67, 1293–1300. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81436-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81436-8)
- Sniffen, C.J., O'Connor, J.D., Van Soest, P.J., Fox, D.G., Russell, J., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70, 3562–3577. <https://doi.org/1992.70113562x>
- Tang, Z., Cenkowski, S., Izydorczyk, M., 2005. Thin-layer drying of spent grains in superheated steam. *J. Food Eng.* 67, 457–465. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.04.040>
- Timmons, J.S., Weiss, W.P., Palmquist, D.L., Harper, W.J., 2001. Relationships among dietary roasted soybeans, milk components, and spontaneous oxidized flavor of milk. *J. Dairy Sci.* 84, 2440–2449. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74694-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74694-2)
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583–3597. [https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Verbic, J., Chen, X.B., MacLeod, N.A., Ørskov, E.R., 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. *J. Agric. Sci.* 114, 243. <https://doi.org/10.1017/S0021859600072610>
- Vohra, A., Syal, P., Madan, A., 2016. Probiotic yeasts in livestock sector. *Anim. Feed Sci. Technol.* 219, 31–47. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.05.019>
- Vyncke, W., 1970. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fette, Seifen, Anstrichm.* 72, 1084–1087. <https://doi.org/10.1002/lipi.19700721218>
- Weiss, W.P., 1999. Energy prediction equations for ruminant feeds, in: *Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Ithaca, pp. 176–185.
- Westendorf, M.L., Wohlt, J.E., Sniffen, C.J., Ward, R.T., 2014. Nutrient content of brewers grains produced at a commercial brewery: Variation in protein/nitrogen, fiber, carbohydrate, fat, and minerals. *Prof. Anim. Sci.* 30, 400–406. <https://doi.org/10.15232/pas.2013-01272>
- Yang, F., Li, X., 2015. Role of antioxidant vitamins and trace elements in mastitis in dairy cows. *J. Adv. Vet. Anim. Res.* 2, 1. <https://doi.org/10.5455/javar.2015.b48>
- Yunker, R.S., Winland, S.D., Firkins, J.L., Hull, B.L., 1998. Effects of replacing forage fiber or nonfiber carbohydrates with dried brewers grains. *J. Dairy Sci.* 81, 2645–2656. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75822-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75822-9)
- Zaworski, E.M., Shriver-Munsch, C.M., Fadden, N.A., Sanchez, W.K., Yoon, I., Bobe,

- G., 2014. Effects of feeding various dosages of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97, 3081–3098. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7692>
- Zhu, Q.Y., Hackman, R.M., Ensunsa, J.L., Holt, R.R., Keen, C.L., 2002. Antioxidative activities of oolong tea. *J. Agric. Food Chem.* 50, 6929–6934. <https://doi.org/10.1021/jf0206163>

Tabela 1: Composição nutricional (g/kg de matéria seca) dos ingredientes das dietas

Ingredientes	Bagaço de malte seco	Farelo de soja	Milho moído	Silagem de milho	Feno de aveia
MS (g/kg de matéria verde)	905	881	873	253	855
MO	953	926	987	946	907
PB	185	483	81,7	73,6	116
PIDN	55,2	47,4	9,15	12,5	28,4
PIDA	35,2	37,5	8,16	6,65	7,78
EE	55,2	12,4	34,6	29,5	17,4
FDN	605	156	95,7	505	621
FDNcp	533	119	86,6	485	584
CNF ¹	179	311	784	358	190

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; PIDN: proteína insolúvel em detergente neutro; PIDA: proteína insolúvel em detergente ácido; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; CNF: carboidrato não fibroso.

¹CNF = (100 – (PB + EE + MM)) – FDNcp.

Tabela 2: Ingredientes e composição nutricional (g/kg de matéria seca) das dietas experimentais sem ou com inclusão do bagaço de malte seco (BM)

Ingredientes	Dietas	
	Sem BM	Com BM
Silagem de milho	300	300
Feno de aveia	200	200
Milho moído	337	161
Farelo de soja	144	80,4
Bagaço de malte	-	241
Suplemento mineral ¹	14,8	14,8
Fosfato bicálcico	4,20	2,80
Composição nutricional		
Matéria seca (MS) (g/kg de matéria verde)	688	695
Matéria orgânica (MO)	935	932
Proteína bruta (PB)	142	142
Proteína degradável no rúmen ² (PDR)	85,9	80,0
Proteína não degradável no rúmen ² (PNDR)	56,1	62,0
Extrato etéreo (EE)	24,7	31,9
Fibra em detergente neutro (FDN)	335	463
FDN da forragem	275	275
FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp)	313	428
Carboidratos não fibrosos ³ (CNF)	445	330
Energia líquida ² (Mcal/kg)	1,64	1,55

¹Composição química (quantidades/ kg produto comercial): Ca: 230 g; P: 50 g; Co: 30 mg; Mg: 8 g; Mn: 1000 mg; Zn: 1875 mg; Se: 12 mg; I: 30 mg; S: 15 g; F: 500 mg; Fe: 500 mg; Cu: 235 mg; Na: 55 g

²Estimado pelo NRC (2001)

³CNF = (100 - (PB + EE + MM)) - FDNcp

Tabela 3 – Ingestão de matéria seca e dos nutrientes (kg/d) de vacas alimentadas com dietas contendo ou não bagaço de malte seco (BM) e com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (SCSe)

Variáveis	Sem SCSe		Com SCSe		EPM	BM	SCSe	BM x SCSe
	Sem BM	Com BM	Sem BM	Com BM				
IMS	20,4	17,2	19,5	17,5	1,50	<0,01	0,40	0,14
IMO	19,1	16,1	18,3	16,3	1,40	<0,01	0,41	0,14
IPB	2,88	2,45	2,75	2,48	0,22	<0,01	0,23	0,08
IEE	0,51	0,57	0,49	0,58	0,04	<0,01	0,79	0,41
IFDN	6,19	7,25	5,93	7,40	0,57	<0,01	0,74	0,26
ICNF	9,57	5,84	9,14	5,91	0,58	<0,01	0,38	0,23
INDT	13,9	11,0	13,5	11,2	0,90	<0,01	0,81	0,18

EPM: Erro padrão da média; IMS: ingestão de matéria seca; IMO: ingestão de matéria orgânica; IPB: ingestão de proteína bruta; IEE: ingestão de extrato etéreo; IFDN: ingestão de fibra em detergente neutro; ICNF: ingestão de carboidratos não fibrosos; INDT: ingestão de nutrientes digestíveis totais

Tabela 4 - Digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes e teor de nutrientes digestíveis totais (g/kg de MS) das dietas para vacas lactantes contendo ou não bagaço de malte seco (BM) e com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (SCSe)

Variáveis	Sem SCSe		Com SCSe		EPM	BM	SCSe	BM x SCSe
	Sem BM	Com BM	Sem BM	Com BM				
DMS	681	624	694	627	10,4	<0,01	0,37	0,58
DMO	707	658	721	662	11,0	<0,01	0,28	0,53
DPB	680	669	684	678	10,7	0,51	0,62	0,82
DEE	740	754	744	744	11,6	0,54	0,81	0,56
DFDN	494	512	537	529	18,2	0,73	0,06	0,38
DCNF	853	822	854	812	5,68	<0,01	0,59	0,53
NDT obs. ¹	682	641	697	645	8,74	<0,01	0,21	0,48

EPM: Erro padrão da média; DMS: digestibilidade da matéria seca; DMO: digestibilidade da matéria orgânica; IPB: digestibilidade da proteína bruta; DEE: digestibilidade do extrato etéreo; DFDN: digestibilidade da fibra em detergente neutro; DCNF: digestibilidade dos carboidratos não fibrosos; NDT obs: nutrientes digestíveis totais observado

$$^1\text{NDT} = (\text{PBd} + (\text{EEd} \times 2,25) + \text{CNFd} + \text{FDNd})$$

Tabela 5 – Parâmetros sanguíneos de vacas alimentadas com dietas contendo ou não bagaço de malte seco (BM) e com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (SCSe)

Variáveis	Sem SCSe		Com SCSe		EPM	BM	SCSe	BM x SCSe
	Sem	Com	Sem	Com				
	BM	BM	BM	BM				
Jejum								
Colesterol (mg/dL)	151	213	155	199	9,71	<0,01	0,36	0,08
Triglicerídeos (mg/dL)	9,13	12,6	10,2	11,7	0,70	<0,01	0,86	0,18
Glicose (mg/dL)	64,2	64,3	61,5	62,8	2,42	0,63	0,18	0,69
Ureia (mg/dL)	33,7c	47,0a	38,7bc	44,0ab	1,69	<0,01	0,53	0,02
Creatinina (mg/dL)	0,99	1,03	1,02	1,01	0,06	0,76	0,89	0,54
FAL (UI/L)	121	102	111	115	48,1	0,26	0,81	0,06
ASAT (UI/L)	73,8	71,5	73,8	71,5	6,75	0,16	0,90	0,90
ALAT (UI/L)	28,9	28,1	28,3	26,9	1,25	0,19	0,28	0,74
GGT (UI/L)	20,7	22,5	20,9	21,8	4,20	0,15	0,82	0,60
Cálcio (mg/dL)	9,85	10,1	9,81	9,98	0,17	0,15	0,53	0,73
Fósforo (mg/dL)	6,02	6,11	6,18	6,03	0,29	0,91	0,88	0,65
Magnésio (mg/dL)	2,21	2,40	2,17	2,36	0,10	0,02	0,63	0,96
Quatro horas após a alimentação da manhã								
Colesterol (mg/dL)	145c	213a	165bc	195ab	6,54	<0,01	0,92	0,04
Triglicerídeos (mg/dL)	8,37	11,5	9,00	11,0	0,58	<0,01	0,93	0,47
Glicose (mg/dL)	52,3	55,2	46,1	56,5	3,00	<0,01	0,25	0,09
Ureia (mg/dL)	42,7b	53,3a	46,0b	46,8b	2,53	<0,01	0,15	<0,01

EPM: Erro padrão da média; FP: Fonte de proteína; FAL: fosfatase alcalina; ASAT: aspartato aminotransferase; ALAT: alanina aminotransferase; GGT: gama glutamil transferase

Tabela 6 – Excreção de derivados de purinas e síntese de proteína microbiana de vacas alimentadas com dietas contendo ou não bagaço de malte seco (BM) e com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (SCSe)

Variáveis	Sem SCSe		Com SCSe		EPM	BM	SCSe	BM x SCSe
	Sem BM	Com BM	Sem BM	Com BM				
Alant (mmol/d)	372	356 ab	414a	327b	18,4	<0,01	0,67	0,03
AUr (mmol/d)	38,4	31,8	44,1	34,4	9,83	<0,01	0,05	0,45
Alant:Creat	2,92ab	2,80ab	3,30a	2,61b	0,16	<0,01	0,45	0,04
PMic (g/d)	1618ab	1515b	1835a	1395b	84,7	<0,01	0,52	0,04

EPM: Erro padrão da média; Alant: alantoína; AUr: ácido úrico; PMic.: Síntese de proteína microbiana; Alant:Creat: relação alantoína:creatinina

Tabela 7 – Produção, composição e qualidade do leite de vacas alimentadas com dietas contendo ou não bagaço de malte seco (BM) e com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (SCSe)

Variáveis	Sem SCSe		Com SCSe		EPM	BM	SCSe	BM x SCSe
	Sem BM	Com BM	Sem BM	Com BM				
Leite (kg/d)	28,9	28,4	28,9	28,5	2,45	0,25	0,89	0,93
LCE (kg/d) ¹	28,3	26,6	28,0	26,8	2,88	<0,01	0,84	0,59
LCE/CMS	1,40	1,56	1,44	1,54	0,05	<0,01	0,71	0,41
Gordura (g/kg)	36,0	34,0	35,6	33,9	1,55	0,04	0,75	0,82
Proteína (g/kg)	30,6	28,7	30,0	29,0	0,63	<0,01	0,52	0,11
Caseína (g/kg)	23,3	22,3	23,3	22,5	0,54	<0,01	0,52	0,15
Lactose (g/kg)	46,5	46,4	46,3	46,6	0,54	0,65	0,94	0,60
ST (g/kg)	123	119	122	118	1,63	<0,01	0,55	0,60
NUL (mg/dL)	15,6	20,1	15,9	18,7	0,78	<0,01	0,07	0,24
CCS (Log ₁₀ CCS)	1,57	1,68	1,57	1,67	0,18	0,17	0,98	0,99

EPM: Erro padrão da média; LCE: leite corrigido para energia; LCE/CMS: Eficiência de produção de leite corrigida para energia; ST: sólidos totais; NUL: nitrogênio ureico do leite; CCS: contagem de células somáticas

$$^1\text{PLCE} = (\text{PL} \times (0,0929 \times \% \text{gordura} + 0,0547 \times \% \text{proteína} + 0,0395 \times \% \text{lactose}))/0,7$$

Tabela 8 – Qualidade oxidativa do leite de vacas alimentadas com dietas contendo ou não bagaço de malte seco (BM) e com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (SCSe)

Variáveis	Sem SCSe		Com SCSe		EPM	BM	SCSe	BM x SCSe
	Sem	Com	Sem	Com				
	BM	BM	BM	BM				
DC (mmol/kg gordura)	34,6	47,4	31,3	44,4	1,71	<0,01	0,12	0,96
TBARS (mmol MDA/kg gordura)	1,66	1,61	1,79	1,54	0,17	0,21	0,78	0,41
Poder de redução (mg EAG/L)	19,5	18,5	20,9	20,1	1,65	0,64	0,47	0,96

EPM: Erro padrão da média; DC: Dienos conjugados; TBARS: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

Tabela 9 – Balanço energético (Mcal/dia), peso corporal (kg) e escore de condição corporal de vacas alimentadas com dietas contendo ou não bagaço de malte seco (BM) e com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (SCSe)

Variáveis	Sem SCSe		Com SCSe		EPM	BM	SCSe	BM x SCSe
	Sem BM	Com BM	Sem BM	Com BM				
EL ingerida	31,7	24,9	30,9	25,5	2,02	<0,01	0,86	0,19
EL manutenção	9,75	9,66	9,69	9,62	0,25	0,09	0,23	0,80
EL lactação	19,8	18,6	19,6	18,7	2,01	<0,01	0,84	0,60
BE	2,09	-3,37	1,63	-2,85	0,73	<0,01	0,96	0,41
PC	605	597	599	594	20,3	0,10	0,24	0,82
ECC	3,15	3,03	3,06	3,09	0,10	0,33	0,74	0,11

EPM: Erro padrão da média; EL Ingerida: Energia líquida ingerida; EL manutenção: Energia líquida para manutenção; EL lactação: Energia líquida de lactação; BE: balanço energético; PC: peso corporal; ECC: escore de condição corporal.

¹EL ingerida = IMS x (0,0245 x %NDT – 0,12)

²EL manutenção = 0,08 x PC^{0,75}

³EL lactação = (PL x (0,0929 x %gordura + 0,0547 x %proteína + 0,0395 x %lactose))

IV. DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES E PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS ALIMENTADOS COM BAGAÇO DE MALTE SECO E *Saccharomyces cerevisiae*

(Normas Livestock Science)

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio sobre a ingestão e digestibilidade dos nutrientes, população de protozoários e cinética de fermentação ruminal de bovinos alimentados com dietas contendo bagaço de malte. Foram utilizados quatro bovinos mestiços, castrados e providos de cânula ruminal e estes foram distribuídos em um quadrado latino 4 x 4. Os tratamentos foram em esquema fatorial 2 x 2: sem ou com inclusão de bagaço de malte x com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio. A inclusão do bagaço de malte seco correspondeu a 11,7% na matéria seca (MS) da dieta e a quantidade de levedura fornecida foi 15g/dia sendo que a mesma era *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 contendo $1,0 \times 10^9$ UFC/g e 200 mg de selênio/kg. A utilização de bagaço de malte e a adição de levedura não influenciaram na ingestão da MS, proteína bruta, fibra em detergente neutro e nutrientes digestíveis totais. Bovinos alimentados com bagaço de malte ingeriram menores concentrações de carboidratos não fibrosos (CNF) ($P < 0,01$). A adição de levedura não alterou a digestibilidade da MS e dos nutrientes, porém a inclusão de bagaço de malte reduziu a digestibilidade da MS ($P < 0,05$) e dos CNF ($P < 0,01$). A utilização de bagaço de malte reduziu a população de protozoários dos gêneros *Entodinium* ($P < 0,05$) e *Isotricha* ($P < 0,01$). Os valores de pH ruminal não apresentaram efeito para o bagaço de malte e a adição de levedura. Houve interação entre tempo e inclusão de bagaço de malte ($P < 0,05$) sobre o nitrogênio amoniacal, sendo que duas horas após a alimentação, os bovinos que consumiram esse subproduto apresentaram menores concentrações em comparação aos que não consumiram bagaço. A adição de levedura viva não influenciou a proporção dos AGV e nem concentração total de AGV, porém a inclusão de bagaço de malte reduziu a concentração de AGV e o percentual de isovalerato ($P < 0,05$). Desse modo, a utilização de *Saccharomyces*

Cerevisiae na dieta de bovinos não melhorou a digestibilidade da fibra e os parâmetros de fermentação ruminal, enquanto que a inclusão de 11,7% de bagaço de malte seco não comprometeu a ingestão de nutrientes digestíveis totais, pH ruminal e as concentrações de acetato, propionato e butirato.

Palavras-chave: levedura, subproduto, amônia, protozoário

1. Introdução

Atualmente o sucesso na pecuária leiteira está intimamente ligado à busca pela máxima produtividade aliada a ferramentas que reduzam os custos de produção. Frequentemente, o alto custo e a baixa disponibilidade dos alimentos para os animais exigem que subprodutos agrícolas e industriais sejam introduzidos na alimentação do rebanho (Negesse et al., 2009). Esses subprodutos estão disponíveis em abundância e não só reduzem o custo da alimentação, mas também criam uma demanda para este material que, muitas vezes, pode representar um passivo ambiental (Aliyu e Bala, 2011).

A indústria cervejeira é um potente gerador de subprodutos, visto que a produção de bagaço de malte, também chamado de resíduo de cervejaria, pode representar até 30% do grão maltado inicial (Robertson et al., 2010). A utilização eficiente desse subproduto depende das suas propriedades químicas e físicas (Negesse et al., 2009). Características do bagaço de malte como o elevado teor de fibra em detergente neutro (44,3 a 52,1% na matéria seca) (Westendorf et al., 2014) e de proteína não degradável no rúmen (47,5 a 56,6% da proteína bruta) (NRC, 2001) podem alterar a população de protozoários, os parâmetros de fermentação ruminal (Wang et al., 2009) e o aproveitamento dos nutrientes. Desse modo, estudos que avaliam o potencial de utilização desse subproduto em uma variedade de configurações são necessários para maximizar a eficiência de aproveitamento desse ingrediente (Negesse et al., 2009).

A inclusão de *Saccharomyces cerevisiae* na dieta animal pode promover melhorias na digestibilidade da fibra (Bitencourt et al., 2011; Guedes et al., 2008) e na utilização de nitrogênio, visto que esse aditivo aumenta o crescimento das bactérias fibrolíticas ruminais (Mosoni et al., 2007) que apresentam uma alta preferência pelo nitrogênio amoniacal do rúmen, reduzindo a excreção de amônia (Hristov et al., 2010).

Desse modo, esse aditivo pode ser uma alternativa para potencializar o aproveitamento das fibras e a utilização do nitrogênio presente no bagaço de malte. Além disso, quando a levedura for enriquecida com selênio, esse mineral pode contribuir para a melhoria no desempenho animal, uma vez que está ligado a funções antioxidantes do organismo (Alhidary et al., 2015).

Dessa maneira, a hipótese é que a adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio em dieta para bovinos contendo bagaço de malte seco altere a fermentação ruminal, melhorando a digestibilidade da fibra e a utilização de nitrogênio. Objetivou-se avaliar o efeito da *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio sobre a população de protozoários, cinética de fermentação ruminal e digestibilidade dos nutrientes de bovinos alimentados com dietas contendo bagaço de malte.

2. Material e Métodos

O cuidado e a manipulação de animais para realização do protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Unioeste (Protocolo 12/16).

2.1. Delineamento experimental e dietas

O estudo foi conduzido em um quadrado latino 4x4, utilizando-se quatro bovinos machos castrados, mestiços, adaptados com cânula ruminal com peso médio inicial de $689 \pm 20,9$ kg. O experimento teve duração de 80 dias, sendo composto por quatro períodos experimentais de 20 dias, (14 destinados a adaptação dos animais a dieta e seis para as coletas de dados).

Os tratamentos testados foram distribuídos em esquema fatorial 2 x 2 (inclusão ou não de bagaço de malte x com ou sem adição de levedura enriquecida).

- ◆ Dieta sem inclusão de bagaço de malte seco
- ◆ Dieta sem inclusão de bagaço de malte seco + *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio;
- ◆ Dieta com inclusão de bagaço de malte seco
- ◆ Dieta com inclusão de bagaço de malte seco + *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio;

O bagaço de malte foi adquirido na forma úmida e seco ao sol sobre uma quadra de concreto, onde era revolvido a cada hora. Após a desidratação, o bagaço de malte seco foi recolhido e armazenado em galpão coberto (Tabela 1).

As dietas foram calculadas para atender às exigências de manutenção dos animais de acordo com o NRC (2001) (Tabela 2). Os animais foram alojados em estábulo coberto, em baias individuais com cocho e bebedouro. Os animais foram pesados ao início e final de cada período, para ajuste da quantidade de ração fornecida. A dieta foi pesada diariamente e fornecida duas vezes ao dia (às 6:30 h e às 16:30 h), na proporção de 70% e 30% da oferta total de matéria seca (MS), respectivamente, e a água foi fornecida à vontade. A levedura foi fornecida durante a alimentação da manhã, na quantidade de 15 g/animal/dia. Essa quantidade foi misturada em 100 g do concentrado e fornecida na forma de *top dress*. A levedura utilizada continha: *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 $1,0 \times 10^9$ UFC/g; selênio 200 mg/kg; cobalto 175 mg/kg e zinco 17.520 mg/kg de produto.

2.2. Procedimentos de coletas e análises

Durante os seis dias de coleta de cada período experimental a ingestão de alimentos foi mensurada, individualmente, pela pesagem da quantidade ofertada e de suas respectivas sobras. Amostras diárias dos alimentos, dos concentrados fornecidos e das sobras foram coletadas e congeladas. Para a avaliação da digestibilidade, do 15º ao 20º dia do período experimental foram coletadas amostras de fezes diretamente da ampola retal seguindo a distribuição: 15º dia (8:00 h), 16º dia (10:00 h), 17º dia (12:00 h), 18º dia (14:00 h), 19º dia (16:00 h), 20º dia (18:00 h).

Após o período de coletas, as amostras de alimentos, sobras e fezes foram secas em estufa com ventilação forçada (55 °C – 72 h), processadas em moinho do tipo Willey (1 mm) e compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, formando uma amostra por animal/período. As amostras foram analisadas para os teores de MS, cinzas (CZ), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) segundo AOAC (1990) pelos métodos 934.01; 938.08; 981.10 e 920.85, respectivamente. As análises de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram realizadas segundo Van Soest et al. (1991). A matéria orgânica (MO) foi determinada pela diferença entre a MS e as CZ. Os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados segundo Weiss et

al. (1999) e o teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) de acordo com Sniffen et al. (1992).

Para estimativa da excreção fecal diária foi utilizado como indicador interno a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi). A FDAi foi determinada nas amostras de alimento, sobras e composições fecais por intermédio de procedimento de digestibilidade *in situ* descrita por Casali et al. (2008) que consiste na incubação ruminal por 264 h e, posterior extração com solução em detergente ácido. A digestibilidade aparente da MS e dos nutrientes foi calculada pela diferença do consumido e do excretado, dividido pelo consumido.

A determinação dos parâmetros ruminais foi realizada nos tempos 0, 2, 4, 6 e 8 h após a primeira alimentação. Amostras de líquido ruminal foram coletadas manualmente nas áreas dorsal, ventral e central do rúmen e filtrado em quatro camadas de gaze. O pH foi mensurado imediatamente após a coleta com o auxílio de um peagâmetro digital. Amostras de 50 mL de líquido ruminal foram acidificadas com 1 mL de ácido sulfúrico (1:1) e armazenados à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posterior análise das concentrações do nitrogênio amoniacal (N-NH_3) através da destilação com hidróxido de potássio (KOH) 2 N conforme técnica descrita por Ferner (1965) adaptada por Vieira et al. (1980).

Uma alíquota de 8 mL de líquido ruminal foi acidificada com 2mL ácido metafosfórico 25% para a determinação dos ácidos graxos de cadeia curta pelo Laboratório de Microbiologia Aplicada e Controle da Universidade Federal de São Carlos/Araras. As concentrações dos ácidos acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico e isovalérico foram determinadas por cromatografia gasosa, utilizando um cromatógrafo (Shimadzu GC-2010 Plus) equipado com injetor automático AOC-20i, coluna capilar Stabilwax-DATM (30m, 0,25mm ID, 0,25 μm df, Restek©) e detector de ionização de chama (FID), após acidificação das mesmas com 1 M de ácido fosfórico e fortificação com o padrão WSFA-2. Uma alíquota de 1 μL de cada amostra foi injetada com taxa de split de 40:1, utilizando hélio como gás de arraste à velocidade linear de 42 cm/s. As temperaturas do injetor e do detector foram, respectivamente, 250 $^{\circ}\text{C}$ e 300 $^{\circ}\text{C}$. A rampa de temperatura da coluna se iniciou com 40 $^{\circ}\text{C}$, elevando-se até 120 $^{\circ}\text{C}$ à taxa de 40 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, seguido de um gradiente de 120 até 180 $^{\circ}\text{C}$ à taxa de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ e de 180 a 240 $^{\circ}\text{C}$ à taxa de 120 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, mantendo-se a temperatura a 240 $^{\circ}\text{C}$ por mais 3 minutos.

Para a contagem de protozoários, foi amostrado líquido ruminal 4 h após a alimentação da manhã. O líquido foi coletado das áreas dorsal, ventral e central do

rúmen sem filtração. Aproximadamente 40 mL de amostra foram preservadas em igual volume de formaldeído 37%. A identificação e a quantificação dos gêneros de ciliados foram realizadas no Laboratório de Zoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, em câmara Sedgewick-Rafter, segundo Dehority (1984). De cada amostra homogeneizada, foi pipetado 1 mL de conteúdo e transferido para tubos de ensaio, onde foram acrescentadas três gotas de lugol, em substituição ao verde brilhante conforme modificação proposta por D'agosto e Carneiro (1999). Após 15 min, o conteúdo recebeu a adição de 9 mL de glicerina a 30%. Para proceder à quantificação de cada tubo de ensaio, foi pipetado 1 mL do conteúdo para preencher a câmara de Sedgewick-Rafter. Utilizando-se uma grade de contagem em uma das oculares, foram quantificados os ciliados presentes em 50 campos e, posteriormente, após rotação da câmara em 180°, mais 50 campos. O cálculo do número total de ciliados por mililitro de conteúdo foi feito multiplicando-se os valores encontrados por 80 e por 20. Tais valores correspondem à superfície total da câmara de contagem e à diluição (Dehority, 1984).

2.3. Análises estatísticas

A normalidade das variáveis foi verificada, utilizando-se o teste de Shapiro-Wilk. Os dados referentes à população de protozoários por não apresentarem distribuição normal, foram transformados em Log na base 10. Os dados foram analisados em quadrado latino 4 x 4 em esquema de fatorial 2 x 2, utilizando o procedimento MIXED do SAS 9.3 (SAS Institute, 2002). O modelo utilizado foi:

$$Y_{ijkl} = \mu + B_i + L_j + a_k + p_l + BL_{ij} + \epsilon_{ijkl}$$

Onde:

Y_{ijkl} = variável dependente; μ = média geral; B_i = efeito fixo do bagaço de malte (inclusão ou não); L_j = efeito fixo da levedura selenizada (adição ou não); a_k = efeito aleatório do animal; p_l = efeito aleatório do período; BL_{ij} = efeito da interação entre inclusão de bagaço de malte e adição da levedura e ϵ_{ijkl} = erro residual associado a cada observação.

Quando a variável em teste possuía medidas repetidas no tempo, dentro de um mesmo período, o efeito fixo da unidade de tempo bem como suas interações foram adicionados ao modelo estatístico:

$$Y_{ijklm} = \mu + B_i + L_j + a_k + p_l + T_m + BL_{ij} + BT_{im} + LT_{jm} + BLT_{ijm} + \epsilon_{ijklm}$$

Em que:

Y_{ijklm} = variável dependente; μ = média geral; F_i = efeito fixo do bagaço de malte (inclusão ou não); L_j = efeito fixo da levedura selenizada (adição ou não); a_k = efeito aleatório do animal; p_l = efeito aleatório do período; T_m = efeito fixo do tempo (0, 2, 4, 6 e 8 h); BL_{ij} = efeito da interação entre inclusão de bagaço de malte e adição da levedura; BT_{im} = efeito da interação inclusão de bagaço de malte e tempo, LT_{jm} = efeito da interação entre adição da levedura e tempo; BLT_{ijm} = efeito da interação tripla entre inclusão de bagaço de malte, adição da levedura e tempo e ϵ_{ijklm} = erro residual associado a cada observação.

Foram testadas várias estruturas de covariância de erros. A estrutura de componentes de variância utilizada foi antidependente de primeira ordem (ANTE(1)) e foi selecionada com base no menor Critério de Informação Bayesiano. Quando houve diferença estatística, o teste de Tukey foi utilizado para fornecer comparações múltiplas. As diferenças foram declaradas quando $P \leq 0,05$.

3. Resultados

A utilização de bagaço de malte e a adição de *Saccharomyces cerevisiae* selenizada não influenciaram na ingestão da MS, MO, PB, EE, FDN e NDT (Tabela 3). A inclusão de bagaço de malte reduziu a ingestão de CNF ($P < 0,01$), sendo que bovinos alimentados com BM ingeriram 0,65 kg a menos desse nutriente em relação a bovinos que receberam dieta sem esse ingrediente.

A adição de levedura viva selenizada não alterou a digestibilidade da MS e dos nutrientes (Tabela 4). A digestibilidade da MS, MO, CNF e o NDT das dietas com inclusão de bagaço de malte foram inferiores as dietas sem bagaço de malte ($P < 0,05$). A digestibilidade da PB, EE e da FDN não apresentaram diferenças com o uso ou não do subproduto cervejeiro.

Independente da dieta, o protozoário do gênero *Entodinium spp.* foi o mais observado, variando entre 87,6% a 92,8% do total de protozoários identificados. A utilização de bagaço de malte na dieta de bovinos reduziu a população de protozoários dos gêneros *Entodinium* ($P < 0,05$) e *Isotricha* ($P < 0,01$; Tabela 5). As populações de *Dasytricha*, *Charonina*, *Metadinium* e *Eremoplastron* não foram alteradas pela inclusão de bagaço de malte e pela adição de levedura selenizada.

Os valores de pH e N-NH₃ ruminal não foram influenciados pela utilização de bagaço de malte e de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (Tabela 6). O pH foi influenciado pelo tempo após a alimentação ($P<0,01$; Figura 1A), enquanto que o N-NH₃ apresentou efeito para tempo, bem como interação entre o tempo e a inclusão de bagaço de malte ($P<0,05$). Bovinos alimentados com bagaço de malte apresentaram menores concentrações de N-NH₃ ruminal às 2 h após a alimentação em comparação à dieta sem esse ingrediente (Figura 1B).

A adição de *Saccharomyces cerevisiae* não influenciou a proporção dos AGV e nem na produção de AGV (Tabela 6). A inclusão de bagaço de malte reduziu a produção de AGV e a proporção de isovalerato ($P<0,05$), mas não alterou as proporções de acetato, propionato, butirato, isobutirato e valerato. O tempo, após arraçoamento, influenciou as concentrações de acetato, propionato e butirato ($P<0,01$; Figura 2).

4. Discussão

4.1. Ingestão e digestibilidade dos nutrientes

A adição de *Saccharomyces cerevisiae* não influenciou na ingestão de MS e dos nutrientes avaliados. O aumento na ingestão de nutrientes com adição da levedura viva normalmente está associado a melhorias na digestibilidade da fibra (Abd El-Ghani, 2004), fato que não ocorreu nesse estudo. Este resultado confirma o reportado em outros trabalhos que utilizaram levedura e observaram ausência de efeito sobre a ingestão de nutrientes (Bayat et al., 2015; Bitencourt et al., 2011; Bruno et al., 2009; Leicester et al., 2016).

A inclusão de bagaço de malte não interferiu nas ingestões de MS, PB, EE, FDN, o que pode estar associado ao baixo percentual de inclusão desse subproduto e também ao baixo nível de ingestão. Normalmente, animais submetidos a um elevado nível de inclusão ou com elevado nível de ingestão de MS em relação ao PC, apresentam limitação no consumo devido ao elevado conteúdo de fibras presentes no bagaço de malte (Faccenda et al, 2017; Silva et al., 2010), entretanto, em animais em manutenção, esse subproduto não tem causado tal efeito. Este resultado corrobora com o observado por Geron et al. (2008) que não evidenciaram efeito na ingestão de MS e dos nutrientes ao incluir níveis de até 24% de bagaço de malte fermentado na dieta de bovinos da raça

Holandês, consumindo entre 1,5% a 1,7% do peso corporal (PC). Duthie et al. (2015) também não observaram diferenças na ingestão de MS de vacas Limousin alimentadas com 22% de inclusão de bagaço de malte úmido ao nível de ingestão de 1,3% a 1,6% do PC.

Devido à menor concentração de CNF do bagaço de malte (12,9%) em relação ao farelo de soja (35,4%) e também pela menor proporção de milho utilizada nas dietas com o subproduto cervejeiro, a ingestão de CNF foi inferior nos bovinos alimentados com bagaço de malte. A baixa concentração de CNF no bagaço de malte se deve à remoção do amido da cevada durante a maltagem, visto que este nutriente é digerido por amilases para produzir açúcares mais simples que serão utilizados pelas leveduras durante a fermentação da cerveja (Gonzalez-Pereyra et al., 2011). Dessa maneira, os CNF remanescentes no bagaço de malte, dentre os quais o amido, são mais resistentes à digestão o que provavelmente contribuiu para a redução na digestibilidade dos CNF e, conseqüentemente, da MS das dietas contendo esse subproduto.

As digestibilidades da FDN, EE e da PB não foram alteradas pela inclusão de bagaço de malte, de maneira que apenas a redução na digestibilidade dos CNF não foi suficiente para afetar a ingestão de NDT destas dietas. Esse resultado corrobora com Geron et al. (2008) que também não relataram diferenças na digestibilidade da FDN, EE e da PB ao incluir até 24% de bagaço de malte fermentado na dieta de bovinos.

A levedura viva não melhorou a digestibilidade da FDN, bem como de nenhum dos nutrientes avaliados. Alguns estudos têm reportado melhorias no aproveitamento dos nutrientes com a inclusão de *Saccharomyces cerevisiae* (Desnoyers et al., 2009; Marden et al., 2008), enquanto outros não observaram resultados significativos (Bayat et al., 2015; Moallen et al., 2009; Salvati et al., 2015). Essa divergência de resultados pode ocorrer devido a vários fatores que interferem na resposta da suplementação de levedura, dentre os quais o tipo de forragem, teor de fibra da dieta, relação volumoso concentrado, dose e cepa de levedura utilizada (Desnoyers et al., 2009; Guedes et al., 2008; Yuan et al., 2015).

Em metanálise realizada sobre o utilização de leveduras vivas em ruminantes, Desnoyers et al. (2009) observaram que o aumento na digestibilidade da MO foi positivamente correlacionada com a dose desse aditivo, e que o efeito da levedura sobre essa variável aumentou com a proporção de FDN da dieta e reduziu com a proporção de concentrado. Além disso, o efeito pode variar em função da própria digestibilidade da forragem, sendo que uma melhoria mais efetiva na digestibilidade tem sido relatada

quando se utilizou forragens de baixa qualidade (Guedes et al., 2008). Newbold et al. (1995) testaram três cepas de *Saccharomyces cerevisiae* sobre a degradabilidade ruminal da MS em ovelhas e obtiveram maior taxa de degradação para a palha de cevada, mas não observaram melhorias para o feno de azevém.

4.2. Parâmetros fermentativos do rúmen

A população de protozoários presentes no rúmen é influenciada pela produção de saliva, ingestão de alimento e água, e características físicas e nutricionais da dieta (Arcuri et al., 2011). Independente da dieta, o protozoário do gênero *Entodinium spp.* foi o mais observado. Esse resultado confirma o relatado por Williams e Coleman (1992) que destacaram que esse gênero de protozoário ciliado é um dos mais comumente observado em diferentes espécies de ruminantes.

Os gêneros *Entodinium* e *Isotricha* apresentaram redução quando os animais foram alimentados com dietas contendo bagaço de malte. O aumento na concentração de FDN e redução da ingestão de CNF das dietas com bagaço de malte pode ser uma das possíveis explicações para esse resultado, considerando que os protozoários, principalmente os do gênero *Entodinium*, possuem elevada capacidade de digerir grânulos de amido como fonte de energia para seu crescimento (Iqbal et al., 2018). Wang et al. (2009) observaram aumento na população de *Entodinium* e *Isotricha* quando o conteúdo de FDN decresceu, o que confirma que o valor de FDN impacta sobre a população desses gêneros de protozoários.

A utilização de bagaço de malte e a adição de *Saccharomyces cerevisiae* não influenciaram o pH ruminal. A ausência de efeito da levedura pode estar relacionada a dose insuficiente ou a elevada quantidade de fibras presente na dieta, uma vez que os efeitos deste aditivo sobre o pH ruminal foram positivamente correlacionado com a dose utilizada e com o nível de concentrado na dieta, e negativamente correlacionada com a proporção de FDN dietético (Desnoyers et al., 2009).

Outros estudos também não observaram efeitos no pH ruminal ao incluir levedura viva na dieta de vacas em lactação (Bayat et al., 2015; Bitencourt et al., 2011; Hristov et al., 2010; Salvati et al., 2015) e destacaram que a ausência de efeito ocorreu em função das leveduras serem mais eficientes em condições de acidose ruminal (Bayat et al., 2015), condição esta que não ocorreu nesse experimento. De acordo com Doreau e

Jouany (1998), a adição de *Saccharomyces cerevisiae* não modifica o pH médio, apenas impede o declínio no pH no rúmen, através da redução no acúmulo de ácido láctico por beneficiar o crescimento de bactérias utilizadoras desse ácido, como as *Selenomonas spp*, *Anaerovibrio spp*, *Megasphaera spp* e *Propionibacterium spp*, (Wallace, 1994).

A adição de *Saccharomyces cerevisiae* não teve efeito na concentração de N-NH₃ ruminal. Alguns estudos reportaram redução no N-NH₃ do rúmen ao utilizar levedura, e destacaram que esse efeito ocorreu devido a esse probiótico beneficiar o crescimento de bactérias fibrolíticas que possuem elevada preferência por amônia como fonte de nitrogênio para a síntese de suas proteínas (Hristov et al., 2010). No entanto, esse fato não foi observado no presente estudo, o que sugere a ausência de efeito da *Saccharomyces cerevisiae* sobre os microrganismos fibrolíticos, uma vez que a digestibilidade da FDN também não foi alterada.

A concentração de amônia ruminal teve interação entre a inclusão de bagaço de malte e os tempos. Antes da alimentação e nos horários das 4, 6 e 8 h após o arraçoamento a concentração de N-NH₃ ruminal das dietas com bagaço de malte foram semelhante às dietas sem esse subproduto, corroborando com outros estudos que observaram ausência de efeito nos valores da amônia quando o bagaço de malte úmido foi adicionado na dieta de vacas leiteiras (Chiou et al., 1998; Miyazawa et al., 2007). Todavia, às duas horas após a alimentação, horário em que ocorreu o pico da concentração de amônia, os animais alimentados com bagaço de malte apresentaram menores valores de amônia, em relação aos animais alimentados sem bagaço.

Esse resultado, provavelmente, ocorreu devido à maior degradabilidade ruminal da proteína do farelo de soja em relação ao bagaço de malte. Geron et al. (2007) destacaram que a degradabilidade potencial da proteína do farelo de soja foi de 97%, enquanto que a do bagaço de malte úmido foi de apenas 65%. Essa diferença se deve ao fato desse subproduto apresentar composição protéica predominantemente composta por hordeínas e glutelinas que são proteínas insolúveis e de menor degradabilidade ruminal (Clark et al., 1987). Durante o processo de maltagem e mostura da cerveja, as frações de proteínas solúveis são removidas, pois a globulina da cevada dissolve-se durante a formação do mosto e as albuminas são completamente precipitadas durante a fervura (Steiner et al., 2011). As hordeínas são parcialmente degradadas, sendo que menos da metade da quantidade presente na cevada original passa para o BM (Celus et al., 2006), enquanto as glutelinas não são quebradas e passam inalteradas para o bagaço de malte, pois possuem fraca solubilidade de seus componentes (Steiner et al., 2011).

Polan et al. (1985) avaliaram a inclusão de bagaço de malte úmido e seco e relataram menores concentrações de amônia ruminal com o bagaço em relação ao farelo de soja, independente da forma de utilização.

A produção de AGV totais do rúmen em animais suplementados com levedura tem sido associada ao aumento da digestibilidade da fibra proporcionada pelo crescimento populacional das bactérias fibrolíticas (Bitencourt et al., 2011). Entretanto, no presente estudo, a adição de *Saccharomyces cerevisiae* não apresentou efeitos positivos na digestibilidade dos nutrientes, não influenciando a concentração de AGV totais e no percentual de acetato, propionato, butirato e ácidos graxos de cadeia ramificada.

A inclusão de bagaço de malte reduziu a concentração de AGV totais, mas não influenciou o percentual e a proporção molar de acetato, propionato e butirato. Menor concentração de AGV totais, provavelmente, está relacionada ao menor teor e digestibilidade dos CNF na dieta com bagaço de malte. Duthie et al. (2015) obtiveram aumento na concentração de acetato e redução de propionato, quando incluíram 22,6% de bagaço de malte úmido na MS da dieta de vacas de corte e sugeriram que esse efeito ocorreu devido ao maior teor de FDN dessas dietas. A ausência de efeito do bagaço de malte sobre as concentrações de acetato e propionato nesse estudo, possivelmente ocorreu devido ao menor percentual de inclusão desse ingrediente na dieta que foi de 11,7% na MS.

Os percentuais de isovalerato e valerato presentes no fluido ruminal não foram influenciados pela utilização do bagaço de malte na dieta, entretanto o percentual de isobutirato reduziu com a inclusão do subproduto cervejeiro. Estudos apontam que o maior suprimento de proteína degradável no rúmen aumenta a deaminação de aminoácidos e a produção de ácidos graxos de cadeia ramificada nesse compartimento (Colmenero e Broderick, 2006). Desse modo, a redução do percentual de isobutirato pode estar associada à menor degradabilidade ruminal da proteína do bagaço de malte, corroborando com as menores concentrações de nitrogênio amoniacal observadas para essas dietas, no horário das duas horas após a alimentação.

5. Conclusão

A utilização de *Saccharomyces cerevisiae* selenizada na dieta de bovinos não foi vantajosa, pois não melhorou a digestibilidade da fibra e os parâmetros de fermentação ruminal.

A inclusão de bagaço de malte seco na dieta de bovinos não comprometeu a ingestão de nutrientes digestíveis totais, pH ruminal e as concentrações de acetato, propionato e butirato, quando incluído em 11,7% da MS na dieta de animais em manutenção.

Referências

- Abd El-Ghani, A.A., 2004. Influence of diet supplementation with yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance of Zaraibi goats. *Small Rumin. Res.* 52, 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.06.002>
- Alhidary, I.A., Shini, S., Al Jassim, R.A.M., Abudabos, A.M., Gaughan, J.B., 2015. Effects of selenium and vitamin E on performance, physiological response, and selenium balance in heat-stressed sheep. *J. Anim. Sci.* 93, 576–588. <https://doi.org/10.2527/jas2014-8419>
- Aliyu, S., Bala, M., 2011. Brewer's spent grain: A review of its potentials and applications. *African J. Biotechnol.* 10, 324–331. <https://doi.org/10.4314/ajb.v10i3>
- AOAC, 1990. Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists, 15th ed, Association of Official Analytical Chemists. Arlington.
- Arcuri, P.B., Lopes, F.C.F., Carneiro, J.C., 2011. Microbiologia do rúmen., in: Berchielli, T.T., Pires, A.V., Oliveira, S.G. (Eds.), *Nutrição de Ruminantes*. FUNEP, Jaboticabal, pp. 111–140.
- Bayat, A.R., Kairenius, P., Stefański, T., Leskinen, H., Comtet-Marre, S., Forano, E., Chaucheyras-Durand, F., Shingfield, K.J., 2015. Effect of camelina oil or live yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal methane production, rumen fermentation, and milk fatty acid composition in lactating cows fed grass silage diets. *J. Dairy Sci.* 98, 3166–3181. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-7976>
- Bitencourt, L.L., Silva, J.R.M., Oliveira, B.M.L. de, Dias Júnior, G.S., Lopes, F., Siécola Júnior, S., Zacaroni, O. de F., Pereira, M.N., 2011. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. *Sci. Agric.* 68, 301–307. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162011000300005>
- Bruno, R.G.S., Rutigliano, H.M., Cerri, R.L., Robinson, P.H., Santos, J.E.P., 2009. Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. *Anim. Feed Sci. Technol.* 150, 175–186. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.09.001>
- Casali, A.O., Detmann, E., Valadares Filho, S.D.C., Pereira, J.C., Henriques, L.T., De Freitas, S.G., Paulino, M.F., 2008. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos in situ. *Rev. Bras. Zootec.* 37, 335–342. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982008000200021>
- Celus, I., Brijis, K., Delcour, J.A., 2006. The effects of malting and mashing on barley

- protein extractability. *J. Cereal Sci.* 44, 203–211. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.06.003>
- Chiou, P.W.-S., Chen, C.-R., Chen, K.-J., Yu, B., 1998. Wet brewers' grains or bean curd pomace as partial replacement of soybean meal for lactating cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 74, 123–134. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(98\)00170-9](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(98)00170-9)
- Clark, J.H., Murphy, M.R., Crooker, B.A., 1987. Supplying the protein needs of dairy cattle from by-product feeds. *J. Dairy Sci.* 70, 1092–1109. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80116-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80116-9)
- Colmenero, J.J.O., Broderick, G.A., 2006. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows 1. *J. Dairy Sci.* 89, 1704–1712. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72238-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72238-X)
- D'Agosto, M., Carneiro, M.E., 1999. Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates. *Rev. Bras. Zool.* 16, 725–729. <https://doi.org/10.1590/S0101-81751999000300011>
- Dehority, B.A., 1984. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. *Appl. Environ. Microbiol.* 48, 182–185.
- Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Bertin, G., Duvaux-Ponter, C., Sauvant, D., 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *J. Dairy Sci.* 92, 1620–1632. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1414>
- Doreau, M., Jouany, J.P., 1998. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on nutrient digestion in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81, 3214–3221. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75885-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75885-0)
- Duthie, C.A., Rooke, J.A., Hyslop, J.J., Waterhouse, A., 2015. Methane emissions from two breeds of beef cows offered diets containing barley straw with either grass silage or brewers' grains. *Animal* 9, 1680–1687. <https://doi.org/10.1017/S1751731115001251>
- Faccenda, A., Zambom, M.A., Castagnara, D.D., de Avila, A.S., Fernandes, T., Eckstein, E.I., Anschau, F.A., Schneider, C.R., 2017. Use of dried brewers' grains instead of soybean meal to feed lactating cows. *Rev. Bras. Zootec.* 46, 39–46. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000100007>
- Fenner, H., 1965. Method for determining total volatile bases in rumen fluid by steam distillation. *J. Dairy Sci.* 48, 249–51.
- Geron, J.L.V., Zeoula, L.M., Branco, A.F., 2007. Caracterização, fracionamento protéico, degradabilidade ruminal e digestibilidade *in vitro* da matéria seca e proteína bruta do resíduo de cervejaria úmido e fermentado. *Acta Sci. Anim. Sci.* 29, 291–299.
- Geron, L.J.V., Zeoula, L.M., Erkel, J.A., Do Prado, I.N., Jonker, R.C., Guimarães, K.C., 2008. Coeficiente de digestibilidade e características ruminais de bovinos alimentados com rações contendo resíduo de cervejaria fermentado. *Rev. Bras. Zootec.* 37, 1685–1695. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982008000900023>
- Gonzalez Pereyra, M.L., Rosa, C.A.R., Dalcerro, A.M., Cavaglieri, L.R., 2011. Mycobiota and mycotoxins in malted barley and brewer's spent grain from Argentinean breweries. *Lett. Appl. Microbiol.* 53, 649–655. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03157.x>
- Guedes, C.M., Gonçalves, D., Rodrigues, M.A.M., Dias-da-Silva, A., 2008. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 27–40. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.037>
- Hristov, A.N., Varga, G., Cassidy, T., Long, M., Heyler, K., Karnati, S.K.R., Corl, B.,

- Hovde, C.J., Yoon, I., 2010. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93, 682–692. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2379>
- Iqbal, M.W., Zhang, Q., Yang, Y., Zou, C., Li, L., Liang, X., Wei, S., Lin, B., 2018. Ruminal fermentation and microbial community differently influenced by four typical subtropical forages in vitro. *Anim. Nutr.* 4, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.10.005>
- Leicester, H.C.W., Robinson, P.H., Erasmus, L.J., 2016. Effects of two yeast based direct fed microbials on performance of high producing dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 215, 58–72. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.03.003>
- Marden, J.P., Julien, C., Monteils, V., Auclair, E., Moncoulon, R., Bayourthe, C., 2008. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? *J. Dairy Sci.* 91, 3528–3535. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0889>
- Miyazawa, K., Sultana, H., Hirata, T., Kanda, S., Itabashi, H., 2007. Effect of brewer's grain on rumen fermentation, milk production and milk composition in lactating dairy cows. *Anim. Sci. J.* 78, 519–526. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2007.00471.x>
- Moallem, U., Lehrer, H., Livshitz, L., Zachut, M., Yakoby, S., 2009. The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. *J. Dairy Sci.* 92, 343–351. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0839>
- Mosoni, P., Chaucheyras-Durand, F., Béra-Maillet, C., Forano, E., 2007. Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: Effect of a yeast additive. *J. Appl. Microbiol.* 103, 2676–2685. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03517.x>
- Negesse, T., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2009. Nutritive value of some non-conventional feed resources of Ethiopia determined by chemical analyses and an in vitro gas method. *Anim. Feed Sci. Technol.* 154, 204–217. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.09.010>
- Newbold, C.J., Wallace, R.J., Che, X.B., McIntosh, F.M., 1995. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. *J. Anim. Sci.* 73, 1811–1818. <https://doi.org/10.2527/1995.7361811x>
- NRC, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. National Academies Press, Washington, D.C. <https://doi.org/10.17226/9825>
- Polan, C.E., Herrington, T.A., Wark, W.A., Armentano, L.E., 1985. Milk production response to diets supplemented with dried brewers grains, wet brewers grains, or soybean meal. *J. Dairy Sci.* 68, 2016–2026. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)81063-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)81063-8)
- Robertson, J.A., I'Anson, K.J.A., Treimo, J., Faulds, C.B., Brocklehurst, T.F., Eijsink, V.G.H., Waldron, K.W., 2010. Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. *LWT - Food Sci. Technol.* 43, 890–896. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.019>
- Salvati, G.G.S., Morais Júnior, N.N., Melo, A.C.S., Vilela, R.R., Cardoso, F.F., Aronovich, M., Pereira, R.A.N., Pereira, M.N., 2015. Response of lactating cows to live yeast supplementation during summer. *J. Dairy Sci.* 98, 4062–4073. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9215>
- Silva, V.B., da Fonseca, C.E.M., Morenz, M.J.F., Peixoto, E.L.T., Moura, E. dos S., de

- Carvalho, I. das N.O., 2010. Resíduo úmido de cervejaria na alimentação de cabras. *Rev. Bras. Zootec.* 39, 1595–1599. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000700028>
- Sniffen, C.J., O'Connor, J.D., Van Soest, P.J., Fox, D.G., Russell, J., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70, 3562–3577. <https://doi.org/1992.70113562x>
- Steiner, E., Gastl, M., Becker, T., 2011. Protein changes during malting and brewing with focus on haze and foam formation: A review. *Eur. Food Res. Technol.* 232, 191–204. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1412-6>
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583–3597. [https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Vieira, D.M., Macleod, G.K., Burton, J.H., 1980. Nutrition of the weaned Holstein calf. II. Effect of dietary protein level on nitrogen balance, digestibility and feed intake. *J. Anim. Sci.* 50, 945–951.
- Wallace, R.J., 1994. Ruminant microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. *J. Anim. Sci.* 72, 2992–3003.
- Wang, M.Z., Wang, H.R., Yu, L.H., 2009. Effects of NDF content on protozoal community and grazing rate in rumen. *J. Anim. Vet. Adv.* 8, 1746–1752.
- Weiss, W.P., 1999. Energy prediction equations for ruminant feeds, in: *Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Ithaca, pp. 176–185.
- Westendorf, M.L., Wohlt, J.E., Sniffen, C.J., Ward, R.T., 2014. Nutrient content of brewers grains produced at a commercial brewery: Variation in protein/nitrogen, fiber, carbohydrate, fat, and minerals. *Prof. Anim. Sci.* 30, 400–406. <https://doi.org/10.15232/pas.2013-01272>
- Williams, A.G., Coleman, G.S., 1992. Identification and classification of Entodiniomorphid protozoa, in: Williams, A.G., Coleman, G.S. (Eds.), *The Rumen Protozoa*. Springer-Verlag, New York, pp. 4–85. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2776-2_2
- Yuan, K., Liang, T., Muckey, M.B., Mendonça, L.G.D., Hulbert, L.E., Elrod, C.C., Bradford, B.J., 2015. Yeast product supplementation modulated feeding behavior and metabolism in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98, 532–540. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8468>

Tabela 1: Composição nutricional (g/kg de matéria seca) dos ingredientes das dietas

Ingredientes	Bagaço de malte seco	Farelo de soja	Milho	Feno de Tifton
MS (g/kg de matéria verde)	898	881	864	852
MO	951	935	989	931
PB	187	456	84,7	87,7
PIDN	69,9	47,4	9,15	41,8
PIDA	32,2	30,0	7,24	8,73
EE	48,8	10,6	35,4	13,3
FDN	675	140	107	778
FDNcp	586	113	102	725
CNF ¹	129	354	767	105

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; PIDN: proteína insolúvel em detergente neutro; PIDA: proteína insolúvel em detergente ácido; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; CNF: carboidrato não fibroso.

¹CNF = (100 – (PB + EE + MM)) – FDNcp.

Tabela 2: Ingredientes e composição nutricional (g/kg de matéria seca) das dietas experimentais sem ou com inclusão do bagaço de malte seco (BM)

Ingredientes	Dietas	
	Sem BM	Com BM
Feno de Tifton	600	600
Milho moído	320	234
Farelo de soja (FS)	70	39
Bagaço de malte (BM)	-	117
Suplemento mineral ¹	10	10
Composição nutricional		
Matéria seca (MS) (g/kg de matéria verde)	861	864
Matéria orgânica (MO)	940	937
Proteína bruta (PB)	112	112
Proteína degradável no rúmen ² (PDR)	78,0	73,9
Proteína não degradável no rúmen ² (PNDR)	34,0	37,9
Extrato etéreo (EE)	22,3	23,4
Fibra em detergente neutro (FDN)	528	591
FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp)	490	545
Carboidratos não fibrosos ³ (CNF)	316	256
Energia líquida ² (Mcal/kg)	1,47	1,42

¹Composição química (quantidades/kg de produto comercial): Ca: 130 g; P: 65 g; Co: 60 mg; Mg: 5 g; Mn: 1000 mg; Zn: 3000 mg; Se: 10 mg; I: 65 mg; S: 12 g; Fe: 1200 mg; Cu: 1000 mg; Na: 120 g

²Estimado pelo NRC (2001)

³CNF = (100 - (PB + EE + MM)) - FDNcp

Tabela 3 – Ingestão de matéria seca e dos nutrientes (kg/d) de bovinos alimentados com dietas contendo ou não bagaço de malte seco (BM) e com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (SCSe)

Variáveis	Sem SCSe		Com SCSe		EPM	BM	SCSe	BM x SCSe
	Sem BM	Com BM	Sem BM	Com BM				
IMS	9,58	9,13	9,43	8,95	0,56	0,14	0,56	0,97
IMO	9,03	8,58	8,88	8,41	0,53	0,12	0,56	0,97
IPB	1,07	1,03	1,05	1,02	0,07	0,28	0,57	0,93
IEE	0,21	0,21	0,20	0,21	0,02	0,16	0,72	0,58
IFDN	4,44	4,72	4,40	4,58	0,29	0,25	0,62	0,77
ICNF	3,30	2,61	3,21	2,60	0,18	<0,01	0,51	0,57
INDT	6,63	5,91	6,26	5,86	0,47	0,07	0,44	0,56

EPM: Erro padrão da média; IMS: ingestão de matéria seca; IMO: ingestão de matéria orgânica; IPB: ingestão de proteína bruta; IEE: ingestão de extrato etéreo; IFDN: ingestão de fibra em detergente neutro; ICNF: ingestão de carboidratos não fibrosos; INDT: ingestão de nutrientes digestíveis totais

Tabela 4 – Digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes e teor de nutrientes digestíveis totais (g/kg de MS) das dietas de bovinos contendo ou não bagaço de malte seco (BM) e com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (SCSe)

Variáveis	Sem SCSe		Com SCSe		EPM	BM	SCSe	BM x SCSe
	Sem BM	Com BM	Sem BM	Com BM				
DMS	678	615	649	631	17,0	0,01	0,55	0,06
DMO	716	662	689	674	16,0	0,04	0,60	0,19
DPB	706	669	673	691	21,8	0,45	0,66	0,06
DEE	754	732	736	736	9,39	0,38	0,53	0,37
DFDN	635	625	600	608	18,0	0,99	0,17	0,59
DCNF	824	752	811	774	17,7	<0,01	0,71	0,14
NDT obs. ¹	691	642	665	651	15,8	0,04	0,53	0,22

EPM: Erro padrão da média; DMS: digestibilidade da matéria seca; DMO: digestibilidade da matéria orgânica; IPB: digestibilidade da proteína bruta; DEE: digestibilidade do extrato etéreo; DFDN: digestibilidade da fibra em detergente neutro; DCNF: digestibilidade dos carboidratos não fibrosos; NDT obs: nutrientes digestíveis totais observado

$$^1\text{NDT} = (\text{PBd} + (\text{EEd} \times 2,25) + \text{CNFd} + \text{FDNd})$$

Tabela 5 – População de protozoários de bovinos (Log 10/mL conteúdo ruminal) alimentados com dietas contendo ou não bagaço de malte seco (BM) e com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (SCSe)

Variáveis	Sem SCSe		Com SCSe		EPM	BM	SCSe	BM x SCSe
	Sem BM	Com BM	Sem BM	Com BM				
<i>Entodinium</i>	5,99	5,75	5,90	5,75	0,09	0,01	0,47	0,42
<i>Dasytricha</i>	2,34	3,37	2,92	2,10	1,18	0,90	0,66	0,28
<i>Isotricha</i>	4,42	4,02	4,26	3,93	0,12	<0,01	0,23	0,71
<i>Charonina</i>	2,89	1,17	3,04	3,19	1,06	0,35	0,22	0,28
<i>Metadinium</i>	2,77	2,82	2,80	2,70	0,93	0,71	0,53	0,36
<i>Eremoplastron</i>	3,14	4,07	4,47	4,35	0,59	0,50	0,21	0,39

EPM: Erro padrão da média

Tabela 6 – Valores de pH, nitrogênio amoniacal e ácidos graxos voláteis de bovinos alimentados com dietas contendo ou não bagaço de malte seco (BM) e com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (SCSe)

Variáveis	Sem SCSe		Com SCSe		EPM	BM	SCSe	BM x SCSe
	Sem BM	Com BM	Sem BM	Com BM				
pH	6,52	6,70	6,55	6,56	0,10	0,16	0,44	0,24
N-NH ₃ (mg/dL)	13,4	12,1	13,8	12,4	1,37	0,15	0,70	0,97
AGV (mM)	83,2	76,5	82,3	74,3	5,83	0,05	0,67	0,86
Ácidos graxos voláteis (% do AGV)								
Acetato	71,2	71,4	70,0	71,0	0,79	0,54	0,43	0,70
Propionato	15,5	16,2	16,17	16,4	0,76	0,33	0,45	0,68
Butirato	9,16	8,79	9,66	8,63	0,42	0,17	0,74	0,52
Isobutirato	1,06	1,01	1,14	1,09	0,04	0,25	0,07	0,86
Isovalerato	1,93	1,46	1,90	1,66	0,14	<0,01	0,43	0,28
Valerato	1,05	1,00	1,04	1,10	0,07	0,97	0,61	0,60

EPM: Erro padrão da média; N-NH₃: nitrogênio amoniacal; AGV: Ácidos graxos voláteis.

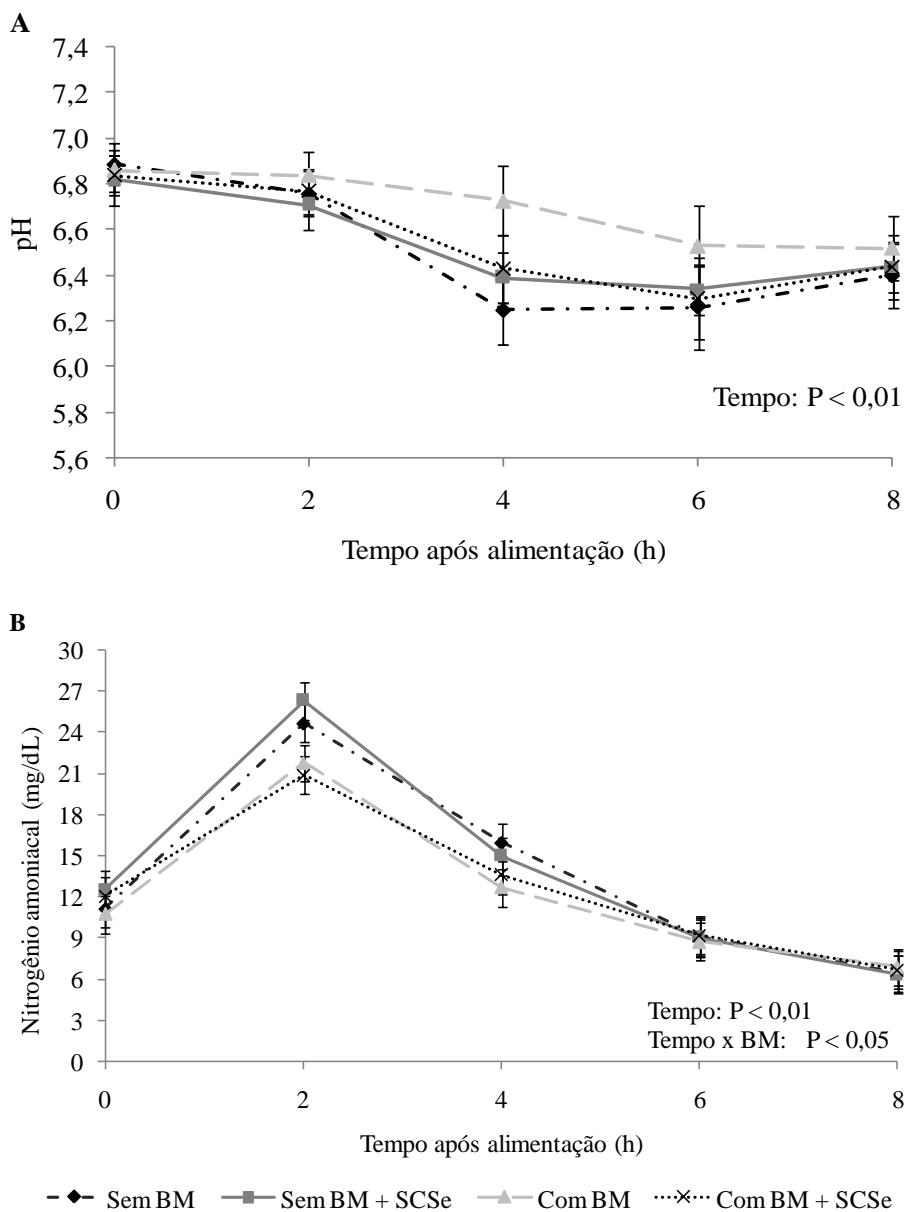


Figura 1 – Valores de pH (A) e nitrogênio amoniacal (B) ruminal de bovinos alimentados com dietas contendo ou não bagaço de malte seco (BM) e com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (SCSe) nos tempos após o alimentação

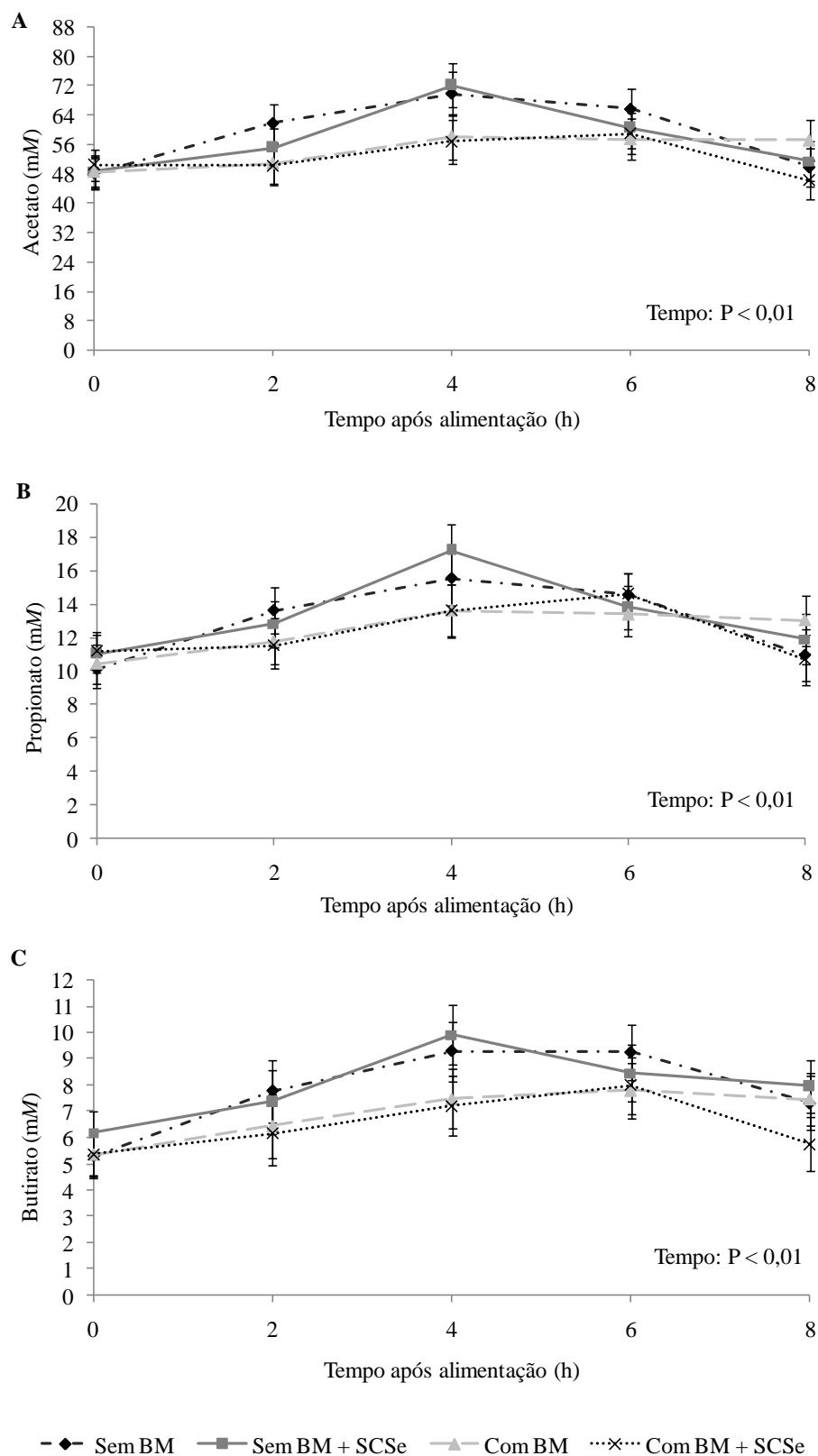


Figura 2 – Concentração ruminal de acetato (A), propionato (B) e butirato (C) de bovinos alimentados com dietas contendo ou não bagaço de malte seco (BM), com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio (SCSe) nos tempos após o alimentação

V. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A adição de *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com selênio não melhora a produção e a estabilidade oxidativa do leite, bem como também não proporciona benefício na digestibilidade da fibra das dietas de vacas em lactação e bovinos em manutenção. Desse modo, a *Saccharomyces cerevisiae* não foi eficiente em maximizar o aproveitamento do bagaço de malte pelos bovinos, embora estudos prévios mostram que a ação da *Saccharomyces cerevisiae* é mais eficiente em dietas com maiores teores de fibras.

A inclusão de 24,1% de bagaço de malte seco na dieta de vacas em lactação com produção média de 30 litros/dia reduz a ingestão e a digestibilidade dos nutrientes e os teores de gordura e proteína do leite, impactando negativamente na produção de leite corrigida para energia. O elevado teor de fibra (60 - 67% de FDN) e baixo valor energético (64 - 66% de NDT) desse subproduto são os principais fatores que limitam sua utilização na dieta de vacas lactantes, quando incluído na dieta em detrimento ao concentrado.

Quando utilizado na dieta de bovinos em manutenção, a inclusão de 11,7% de bagaço de malte seco não interfere na ingestão dos nutrientes totais, pH ruminal e nas proporções dos principais ácidos graxos voláteis. Desse modo, esse subproduto se torna uma alternativa alimentar na bovinocultura leiteira para categorias com menor exigência energética (< 64% de NDT).