UNIVERSIDADE DE UBERABA

JONATHAN DE OLIVEIRA GONÇALVES

HORÁRIO DE COLETA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS DE FEZES PARA ANÁLISE DE AMIDO EM BOVINOS DE CORTE CONFINADOS

UBERABA - MG

2022

JONATHAN DE OLIVEIRA GONÇALVES

HORÁRIO DE COLETA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS DE FEZES PARA ANÁLISE DE AMIDO EM BOVINOS DE CORTE CONFINADOS

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos, do programa de Mestrado da Universidade de Uberaba (UNIUBE).

Orientador: Prof. Dr. Maurício Scoton Igarasi

Coorientador: Prof. Dr. Thiago Henrique da Silva

UBERABA-MG

2022

Catalogação elaborada pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

G586h

Gonçalves, Jonathan de Oliveira.
Horário de coleta e conservação de amostras de fezes para análise de amido em bovinos de corte confinados / Jonathan de Oliveira Gonçalves. – Uberaba, 2022.
57 f. : il. p&b.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Medicina Veterinária, concentração: Sanidade e Produção Animal nos Trópicos do Programa de Pós-Graduação.
Orientador: Prof. Dr. Maurício Scoton Igarasi.
Coorientador: Prof. Dr. Thiago Henrique da Silva.

1. Medicina Veterinária. 2. Ruminantes – Alimentação e rações. 3. Amido. 4. Nutrição animal. I. Igarasi, Maurício Scoton. II. Silva, Thiago Henrique da. III. Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Medicina Veterinária. IV. Título.

CDD 636.2

JONATHAN DE OLIVEIRA GONÇALVES

HORÁRIO DE COLETA E MÉTODO DE CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS DE FEZES PARA ANÁLISE DE AMIDO EM BOVINOS DE CORTE CONFINADOS

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos do Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da Universidade de Uberaba.

Área de concentração: Sanidade e Produção Animal nos Trópicos

Aprovada em: 06/09/2022

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Maurício Scoton Igarasi - Orientador
Universidade de Uberaba

Prof. Dr. Renato Linhares Sampaio
Universidade de Uberaba

gov.br Documento assinado digitalmente
THIAGO FERNANDES BERNARDES
Data: 16/09/2022 14:27:29-0300
Verifique em https://verificador.iti.br

Prof. Dr. Thiago Fernandes Bernardes
Universidade Federal de Lavras

“Esperança não significa certeza. Esperança não significa uma promessa. Significa um caminho, uma possibilidade e um perigo.”

Edgar Morin

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter permitido ter perseverança e dedicação para superar os desafios desse período de estudos.

Aos meus pais Zelma Maria de Oliveira Gonçalves e Jonas Gonçalves Ribeiro, por estarem sempre me apoiando incondicionalmente em todas as minhas batalhas.

Ao meu orientador Dr. Maurício Scoton Igarasi e coorientador Dr. Thiago Henrique da Silva, não só pela contribuição e auxilio no desenvolvimento desse projeto, mas também pela dedicação e amizade.

A todos da empresa Nutritaurus Confinamento, em especial aos membros Paulo Henrique Queiroz, Milton Ghedini Cardoso e Rafaela Savioli, pelo fornecimento de dados e materiais que foram fundamentais para o desenvolvimento da pesquisa.

A todos do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), especialmente ao Dr. Thiago Fernandes Bernardes, a Dra. Stefânia Priscilla de Souza, a Doutoranda Elizanne Moura Lima e a Graduanda Ana Luiza Sales de Oliveira.

E a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento desse projeto.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tempo de confinamento, quantidade de animais, peso de entrada dos animais e fornecimento de dieta/animal. 40

Tabela 2: Ingredientes na composição da dieta (em MS, %) do confinamento no período experimental. 40

Tabela 3: Composição bromatológica da dieta do confinamento no período experimental. 42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Concentração de amido fecal (%MS) nos diferentes horários de coleta em confinamento comercial de engorda de bovinos (EXP. 1). 46

Figura 2: Digestibilidade do amido (%) e teor de amido fecal nas fezes nos diferentes horários de amostragem em confinamento comercial de engorda de bovinos (experiemento 1). 46

Figura 3: Erro padrão da média de amido fecal (%MS), nos diferentes horários de coleta, em confinamento comercial de engorda de bovinos (experiemento 1). 48

Figura 4: Concentração de amido fecal (%MS) nos diferentes métodos de conservação, em dois horários (10:00 e 15:00 horas), em confinamento comercial de engorda de bovinos (experiemento 2). 49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGVs – Ácidos Graxos Voláteis

CHO – Carboidratos

EX. 1 – Experimento 1

EX. 2 – Experimento 2

FDN – Fibra em Detergente Neutro

FDNfe – Fibra em Detergente Neutro fisicamente efetiva

MN – Matéria Natural

MS – Matéria Seca

NIR – Espectroscopia de Infravermelho

PB – Proteína Bruta

PSPS – Penn State Particle Separator

TD – Trato Digestório

TMR – Ração de Mistura Total ou Total Mixed Ration

SE – Secagem em Estufa

RE – Resfriamento em caixa de isopor isotérmica

CO – Congelamento

AF – Secagem por convecção em aparelho Air Fryer

AL – Álcool 70%

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 12
1. **INTRODUÇÃO** 12
2. **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA** 13
2.1. DIGESTÃO DO AMIDO 13
2.2. PROCESSAMENTO DE GRÃOS 15
2.3. AUMENTO DE EFICIENCIA DO USO DE AMIDO 16
2.4. EQUAÇÃO DE DIGESTIBILIDADE DE AMIDO 17
2.5. AUMENTO DE EFICIÊNCIA NO USO DE AMIDO 18
2.6. AVALIAÇÃO DE AMIDO FECAL 19
2.7. METODOLOGIA DE COLETA E ACONDICIONAMENTO DE AMOSTRAS 19
2.7.1. Local de coleta das fezes 21
2.7.2. Horários de amostragem 22
2.7.3. Processamento e armazenamento da amostra de fezes 22
REFERÊNCIAS 26
CAPÍTULO 2 – ARTIGO CIENTÍFICO 34
INTRODUÇÃO 37
MATERIAL E MÉTODOS 39
LOCAL DE REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO 39
SELEÇÃO DOS ANIMAIS PARA COLHEITA DE AMOSTRAS 39
DIETA E ALIMENTAÇÃO DOS ANIMAIS 40
EXPERIMENTO 1 - ANÁLISE DO HORÁRIO DA COLHEITA 42
EXPERIMENTO 2 – ANÁLISE DOS MEIOS DE PRESERVAÇÃO DAS AMOSTRAS 43
PROCESSAMENTO LABORATORIAL PARA AS EXPERIMENTOS 1 E 2 45
ANÁLISE ESTATÍSTICA 45
RESULTADOS E DISCUSSÃO 46
CONCLUSÃO 54
REFERÊNCIAS 54

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

O Brasil vem cada vez mais ganhando destaque com relação a produção de carne bovina, sendo atualmente detentor de um dos maiores rebanhos mundiais, além de apresentar posição importante no ranking de exportação de carne (EMBRAPA, 2021; ABIEC, 2021). O aumento de produtividade apresenta intima correlação com investimentos no setor, através da implementação de tecnologias permitindo evolução produtiva, principalmente no final da cadeia, nos atuais sistemas intensificados de terminação, através do uso do confinamento, busca atender as demandas nutricionais dos animais, permitindo alto ganho de peso, em curtos períodos de tempo (ERICKSON et al., 2020; NUNES et al., 2018).

O sistema de confinamento apresenta como característica o uso de grandes proporções de carboidratos nas Rações de Mistura Total (TMRs), correlacionado principalmente ao uso em larga escala de amido, através principalmente do fornecimento de grãos cereais. O amido permite uma maior produção energética metabólica, através do processo fermentativo microbiológico, com tudo, este elemento apresenta elevado custo para utilização, sendo comumente aplicadas estratégias a fim de melhorar seu aproveitamento e utilização pelos animais (FORNAZARI NETO et al., 2021).

O amido dever apresentar alta digestibilidade principalmente no ambiente ruminal, permitindo a produção de ácidos graxos voláteis que são convertidos em energia orgânicas pelos ruminantes. A fim de permitir uma maior degradação do amido advindo de grãos cereais, principalmente pelos microrganismos presentes no rúmen bovino, estratégias de processamento que visão o fracionamento das cadeias molecular do amido vem sendo constantemente aplicadas e estudas pelo meio científico (WANG et al., 2021; JUNG et al., 2018; MOURÃO et al., 2012).

A fração do amido que passa pelo trato digestivo dos bovinos sem ser totalmente utilizada e em sequência é excretado através das fezes, recebe o nome de Amido Resistente. A forma de acompanhamento da efetividade do processamento dos grãos cereais, a fim de avaliar a eficiência de uso do amido pelos bovinos é a análise de amido fecal. A análise visa mensurar a proporção de amido resistente não degradado durante trânsito do bolo alimentar no trato gastrointestinal dos bovinos. (ARTAVIA et al., 2020).

Elevadas concentrações de amido nas fezes, indicam menor capacidade de utilização deste elemento pelos bovinos, expondo a reduzida eficiência no fracionamento

das moléculas de amido, que teria a função de elevar o aproveitamento do amido pela ação dos microrganismos comensais das câmaras fermentativas pré gástricas e intestinos. Com tudo, permaneciam dúvidas sobre as melhores formas de acompanhar a coleta e acondicionamento de amostras de fezes, para avaliação laboratorial de amido remanescente nas fezes, em ambiente de campo (JANCEWICZ et al., 2017; OWENS et al., 2016).

A coleta de amostras de fezes para análise de amido não apresentava uma definição conclusiva sobre os melhores horários de coleta das amostras fecais, sendo que não se sabia ao certo se existiam horários específicos para a realização da amostragem. A possibilidade de existência de diferenças na eliminação do amido em diferentes horários do dia, relacionados principalmente ao trânsito do bolo alimentar no trato digestivo dos animais, poderia ser uma realidade (FREDIN et al., 2014).

A conduta de armazenamento mais recomendada e aplicada nas amostras é o congelamento, que visa a redução do metabolismo microbiano da flora presente nas fezes dos animais, que poderiam decompor o amido remanescente. Com tudo, por questões logísticas, muitas amostras podem não ser adequadamente preservadas até achegada em laboratórios de análise, indicando resultados pouco confiáveis correlacionado a erros pré-analíticos das amostras (METZLER-ZEBELI et al., 2016; PÉREZ-BURILLO et al., 2021).

Ocorre na comunidade científica dúvidas sobre os horários de coleta para a realização da amostragem, podendo levar a erros analíticos dos resultados do processamento de definição do amido fecal de bovinos. Outra questão importante tem correlação com a dificuldade de armazenamento e conservação da amostra, que iniciará no confinamento e se estenderá até a chegada ao laboratório, em que muitas vezes, pela longas distâncias e dificuldade de escoamento do material, podem gerar perda na qualidade de conservação e consequentemente interferir nos resultados ao fim da análise laboratorial. Diante desse cenário, busca-se respostas para nortearem a amostragem segura e confiável na avaliação do amido fecal, viabilizando procedimentos práticos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. DIGESTÃO DO AMIDO

Além de ser a maior fonte de reserva vegetal, o amido ganha destaque na nutrição animal, por apresentar-se como excelente fonte de energia e de rápida metabolização

devido à sua alta solubilidade da amilose. Proporcionalmente, o amido apresenta destaque por acumular quantitativamente de 50 a 100% dos carboidratos (CHO), de parte considerável dos alimentos fornecidos a bovinos (FORNAZARI NETO et al., 2021; MEDEIROS et al., 2015). Em avaliações químicas, o amido tem associação de moléculas de glicose aderidas à amilopectina e à amilose. A glicose funciona como fonte de energia prontamente utilizável, ao passar pelo processo de quebra das ligações, que a associa à amilopectina e à amolise (HOBSON et al., 1997).

A combinação de moléculas de glicose, amilose e amilopectina, permitirão a formação dos grânulos de amido presentes principalmente nos grãos cereais. A amilose e a amilopectina se diferenciam principalmente pelas ligações moleculares em suas estruturas, possuindo ligações lineares em dupla hélice e ligações ramificadas, respectivamente. De forma simplificada, por apresentar ligações ramificadas de mais fácil quebra, a amilopectina se destaca nutricionalmente sobre a amilose, propiciando maior facilidade de hidratação, aumentando a viscosidade e tornando mais sensível a ação enzimática (TESTER et al., 2004; FRENCH, 1973). A concentrações de amilose e amilopectina nos grânulos de amido tem correlação direta com fatores genéticos das plantas (BERCHIELLI et al., 2011).

A atividade digestiva do amido ocorre em diferentes seguimentos do trato digestório (TD) dos bovinos. O principal sitio de digestão deste carboidrato é o rúmen, possibilitando a quebra de moléculas de amido em maior escala que os demais seguimentos do sistema digestório. O amido que escapa da digestão ruminal, também é metabolizado no intestino delgado dos ruminantes. Por fim o processo degradativo do amido finaliza-se no intestino grosso, em que também acontecerá digestão microbiológica dos grânulos resistentes aos processos digestivos anteriores, em rúmen e intestino delegado (WALDO, 1973; HUNTINGTON et al., 2006; HARSON, 2009).

Em dietas de bovinos em confinamento, à medida que se aumentam as concentrações de amido na TMR, gradativamente também se aumenta a capacidade digestiva nos diferentes seguimentos do TD. O local de digestão de amido e a capacidade digestiva dessa molécula apresenta influência direta sobre a capacidade de conversão e utilização de energia pelos animais. Apesar de tudo, o fornecimento de quantidade excessiva de amido na dieta de ruminantes pode não somente tornar a atividade de confinamento menos rentável, como também causar prejuízos à saúde ruminal dos bovinos, possibilitando o desenvolvimento de enfermidades de prognósticos variando de favorável a desfavorável (HUNTINGTON et al., 2006; HUHTANEN et al., 2006).

O fornecimento de altos níveis de energia, condicionado principalmente pelo incrementações de frações volumétricas de amido, levam a maiores desempenhos de ganho de peso em bovinos confinados, permitindo implementação produtiva, apesar de gerar elevados custos para a aplicação (FORNAZARI NETO et al., 2021). De acordo com Pinto et al. (2019), confinamentos que apresentam alta inclusão de amido nas deitas, podem fornecer de 510 a 650 gramas de grãos para cada Kg de matéria seca das TMRs, sendo a utilização dessas proporções correlacionadas a busca por alto ganho de peso médio diário pelos bovinos confinados.

O amido que passa por processo digestivo, em nível de rúmen e intestinos, é degradado por microrganismo comensais presentes nestes seguimentos do TD. Como resultado da fermentação ruminal e intestinal de amido, são gerados produtos como ácidos graxos de cadeia curta, conhecidos como ácidos graxos voláteis (AGVs). No rúmen, existe uma larga produção desses produtos fermentativos, enquanto no intestino são produzidas menores quantidades, envolvido pela menor concentração de microrganismos e menores proporções de substrato (WANG et al., 2021; JUNG et al., 2018).

Os microrganismos fecais de bovinos apresentam direta correlação com a forma de manejo nutricional imposta aos animais, gerando seleção microbiológica quanto as famílias, filos e funções digestoras bacterianas. De forma geral, a concentração de grãos cereais nas dietas, seleciona comunidades de microrganismos específicas que atuam diretamente sobre a digestão de amido em diferentes porções do trato digestivo dos bovinos. A concentração de grãos careais nas dietas alteram, não somente as proporções de microrganismos digestores de amido, como também a concentração deste elemento nas fezes, apresentando correlação direta com a forma de processamento dos grãos (SHANKS et al., 2011).

2.2. PROCESSAMENTO DE GRÃOS

A amilopectina e amilose, geram cristalinidade nos grânulos de amido, tornando-os mais firmes molecularmente. De forma simplificada, a cristalinidade da amilopectina a torna mais fácil de ser rompida, correlacionado a quebra das pontes de hidrogênio, que fazem parte da estrutura química dessa molécula, por apresentar estrutura ramificada. A amilose possui difícil quebra principalmente por apresentar estrutura de ligações lineares, consequentemente, proporciona menores resultados na quebra das pontes de hidrogênio moleculares. Como alternativa as dificuldades de degradação do amido *in natura*, na

forma de grão inteiro, o processamento é utilizado como estratégia principal (VAN SOEST, 1994).

O processamento de grãos cereais apresenta fundamental importância para aumentar a eficiência de conversão de alimentos concentrados para bovinos, sendo destacado como a forma de permitir a intensificação sustentável para a produção de carne. Variadas técnicas podem ser utilizadas para permitir uma maior exposição dos nutrientes, destacadamente o amido, a ação de microrganismos que compõem a flora ruminal e garantem a digestão (TERRY et al., 2020). A redução de dimensões de partículas e quebra de moléculas do amido, além da quebra de barreiras externas dos grãos possibilitam a colonização microbiológica e atividade digestora (RIBEIRO et al., 2016).

2.3. AUMENTO DE EFICIENCIA DO USO DE AMIDO

De acordo com Berchielli et al. (2011), os processamentos podem ser classificados em seco e úmido, que são diferenciados pela implementação de água, pressão e temperatura, no caso dos processamentos úmidos. São classificados como processamento seco a moagem fina ou grossa, extrusão, peletização, tostagem, laminação e micronização. Já as formas úmidas são representadas pela maceração, expansão, laminação a vapor, floculação, cozimento a vapor, explosão e reconstituição.

A ação de processamento envolvendo o aquecimento úmido, propicia gelatinização dos grânulos de amido, levando ao aumento de digestibilidade da amilopectina. Como a amilose apresenta maior comprimento molecular, exige temperaturas mais elevadas para a dissociação de polímeros lineares. Entretanto, a amilose pode passar por retrogradação, ou seja, recristalinização, com o resfriamento dos grânulos de amido, tendendo a ficar menos digestível em ambiente ruminal (VAN SOEST, 1994).

No caso dos processamentos secos, quanto mais eficiente o processo de redução dos grânulos de amido, gerando maiores superfícies de contato para a ação enzimática e bacteriana digestivas, melhor ocorrerá o aproveitamento. Nos processos de redução de grânulos de amido, ocorrerá inicialmente a destruição do pericarpo, expondo o amido aos efeitos digestivos, além de reduzir a rigidez das matrizes proteínas (MOURÃO et al., 2012).

Destacadamente, é utilizado como grãos cereais como fonte de amido para nutrição animal no Brasil, sorgo e milho, com tudo, os cultivares brasileiros desses cereais apresentam endosperma vítreo, tornando-o duro e de difícil quebra, além da matriz

proteica que envolve os grânulos de amido, funcionando como um fator de proteção físico-química (BURIOL et al., 2021; SOUSA et al., 2022). As formas de processamento de grãos permitindo maior aproveitamento do amido pelos bovinos no Brasil, são o grão seco moído, silagens (produzidas com aproveitamento de variadas porções da planta) e a floculação, sendo as duas primeiras formas as mais aplicadas em território nacional (FERNANDES et al., 2022).

O processo de moagem apresenta como vantagens a quebra do pericarpo dos grãos, permitindo a exposição dos grânulos de amido de forma a permitir uma maior ação de microrganismos digestores sobre a partículas, elevando a capacidade de aproveitamento dos grãos, principalmente quando comparado ao uso de grão inteiro. Este método de processamento apresenta como vantagem o reduzido investimento para aplicação, facilidade de armazenamento e disponibilidade. Com tudo, pesquisas revelam que processos que envolvam, além da moagem, o aquecimento úmido dos grânulos de amido, tornam a digestão e aproveitamento energético mais eficiente. O processamento com aquecimento e aumento de úmida gera uma maior gelatinização do amido, reduzindo também a cristalidade dos grânulos, permitindo uma melhor digestão do amido pela microflora ruminal (HAN et al., 2022; DEY et al., 2021).

A silagem é um dos ingredientes de mais importante nos confinamentos brasileiros, já que permite uma eficiente forma de conservação do alimento, além de influenciar positivamente sobre a digestibilidade do amido advindo das forragens processadas. O processamento através da ensilagem visa a eficiência na quebra dos grãos de amido, permitindo a ação de microrganismos anaeróbicos fermentadores, que levam a uma redução de pH do meio, possibilitando uma redução a dureza dos grânulos de amido, tornando-o mais digestível. Apresenta como vantagem a facilidade de armazenamento e conservação do alimento (JANČÍK et al., 2022).

2.4. EQUAÇÃO DE DIGESTIBILIDADE DE AMIDO

De acordo com Owens et al. (2016), os resíduos de amido remanescente nas fezes, podem favorecer a análise de digestibilidade total de amido no TD dos bovinos. O cálculo de digestibilidade, através de equações, pode contribuir diretamente na definição de estratégias nutricionais, favorecendo o fornecimento de nutrientes de forma qualitativa e quantitativa. Além disso, possibilitará a visualização da eficiência de manejo nutricional e processamento de ingredientes de uma TMR, colaborando para melhoria da produção de bovinos em confinamentos.

As equações utilizadas para predizer a capacidade digestiva de amido em bovinos, são formuladas através da concentração de amido na matéria seca fecal. Essas equações apresentam conexão matemática direta aos seguintes fatores: concentração de amido na TMR e capacidade de digestão da deita pelos bovinos. Apesar de existirem amplos estudos sobre a aplicabilidade de equações, também existem vastos números de bases de cálculos sobre a digestibilidade do amido. Este fato apresenta correlação direta com fatores como aptidão animal, categoria animal, fatores genéticos, ingredientes e digestibilidade da dieta. O uso dessas equações permite a definição de digestibilidade e aproveitamento do amido no TD dos bovinos, sem necessariamente utilizar a concentração de amido ingerida na dieta (OWENS et al., 2016).

2.5. AUMENTO DE EFICIÊNCIA NO USO DE AMIDO

A avaliação da utilização do amido através de processo digestivo ocorrido em região de rúmen e demais porções do trato digestório dos bovinos, geram resultados condizentes com a avaliação de eficiência do sistema de terminação de bovinos em confinamento (ARTAVIA et al., 2020). Nos confinamentos brasileiros a duas formas de processamento destacadamente utilizadas para grãos cereais (destaque ao milho e sorgo), são a moagem e a ensilagem. A silagem se sobressai como forma mais difundida, sendo fonte de amido processado, a fim de melhorar a eficiência de conversão do amido pelos bovinos, através da quebra de pericarpo de grãos, garantindo também uma eficaz forma de armazenamento e conservação do alimento. A moagem, sendo a segunda metodologia de processamento mais aplicada, ocorre com variações desde a moagem grossa, até a moagem fina, sendo esta última mais utilizada nos confinamentos brasileiros (OLIVEIRA et al., 2014; PINTO et al., 2019).

As diferentes formas de processamento dos grãos, dentro do método de ensilagem ou mesmo moagem são influenciados diretamente pela busca cada vez mais constante em melhoria de produtividades dos confinamentos brasileiros, envolvendo a aplicação de tecnologias mais avançadas de processamento. Nas ensilagens a aplicação de procedimentos que aumentem a exposição dos grânulos de amido, sem alterar a eficiência de fibra fisicamente efetiva ou que permitam a quebra do pericarpo com manutenção/aumento de umidade do farelo do milho, permite eficiência na degradação digestiva ruminal. Na moagem, ocorre a destruição do pericarpo do grão, levando também a uma redução das partículas de amidos, principalmente na moagem fina, permitindo

maior ação de microrganismos digestores sobre esse elemento (JANČÍK et al., 2022; SILVA et al., 2022).

2.6. AVALIAÇÃO DE AMIDO FECAL

Após a ingestão, ao chegar ao ambiente ruminal, o amido passa por processo digestivo por meio da ação de microrganismos. Os principais responsáveis pela degradação de amido no rúmen, são bactérias amilolíticas, sendo que em menor parcela, fungos e protozoários, também auxiliam no processo digestivo (GÓMEZ et al., 2016). De forma menos representativa, a digestão de amido também pode ocorrer nos bovinos através da ação de liberação de enzima amilolítica, principalmente através da secreção pancreática (REMILLARD et al., 1990; BELÉM et al., 2000). A ação de amilase salivar, em ruminantes, apresenta reduzidos estudos e resultados controversos, não permitindo uma afirmação concreta sobre sua função digestiva sobre o amido (OLIVEIRA et al., 2021b).

A digestibilidade de amido no trato gastrointestinal dos bovinos apresenta linearidade aproximada com a concentração de amido nas fezes, ou seja, toma-se por base a diferença de consumo e excreção (FREDIN et al., 2014; ZINN et al., 2007). Acredita-se que valores de amido residual nas fezes, com limites inferires a 10%, já são aceitáveis para bovinocultura de corte; com tudo, quanto menor a concentração de amido nas fezes, melhor. A capacidade digestiva de amido pode variar de 90 a 100%, quando são aplicadas técnicas adequadas de alimentação, sendo que valores baixos de digestibilidade, confirmam erros, sendo esse evento dependente de alguns fatores. Valores de digestão de amido inferiores a 90% representam ineficiência produtiva, sendo indicativo de falha no processamento de grão, reduzida adaptação a dieta ou até mesmo falhas no manejo nutricional (HUNTINGTON et al. 2006).

As análises fecais proporcionam dados importante correlacionados à capacidade de aproveitamento e, consequentemente, digestão das TMRs fornecidas aos bovinos. Em destaque ao amido, são informações de grande relevância correlacionado ao valor atual desse produto nas dietas de bovinos, interferindo diretamente na eficiência alimentar dos animais e rentabilidade da atividade de confinamento de bovinos comerciais (JANCEWICZ et al., 2017).

2.7. METODOLOGIA DE COLETA E ACONDICIONAMENTO DE AMOSTRAS

No ambiente de confinamentos comerciais, a metodologia de coleta e acondicionamento de amostras para análises de amido fecal apresenta grande variação dentro da literatura. Não são encontrados padrões em horários e frequência de coleta para realização de amostragem de fezes e para o encaminhamento de material para análise laboratorial. Além disso, com relação ao método de conservação de amostras fecais, é recomendado a utilização do congelamento (DIAS et al., 2008; METZLER-ZEBELI et al., 2016; PÉREZ-BURILLO et al., 2021). O congelamento é uma técnica de difícil aplicação por técnicos e extensionistas, visto a necessidade de tempo e equipamento para congelamento das amostras.

Após a defecação, microrganismos vindos do trato digestivo dos bovinos, presentes no bolo fecal, continuam sua atividade metabólica e digestora de nutrientes residuais das fezes. O amido residual das fezes é utilizado pela flora microbiana fecal, levando ao um aumento microbiológico numérico e alterações de pH fecal com o decorrer do tempo, após defecação. A digestão microbiológica do amido resistente das fezes eleva a produção de ácido láctico, permitindo crescimento de microrganismo digestores de amido e selecionando o crescimento microbiológico, dificultando o desenvolvimento de algumas bactérias patogênicas (METZLER-ZEBELI et al., 2019).

No desenvolvimento de pesquisas envolvendo a coleta e conservação de amostras biológicas, destacadamente aplicadas no meio científico, apresentam difíceis aplicação de padronização, correlacionadas a fatores como: períodos longos de amostragem (que geram influências diretas sobre as condições de ambiente) e fatores biológicos ligados aos doadores de materiais (animais e microrganismos). A aplicação de armazenamento e transporte eficientes são outros fatores que podem impactar diretamente sobre a viabilidade amostral e segurança de resultados, já que o envio ou transporte até um laboratório de processamento pode levar tempo ou exigir condições específicas, de difícil manutenção, como conservação do material sem oscilações de temperatura (POULSEN et al., 2021).

A aplicação de métodos de preservação como resfriamento e congelamento não garantem que não acontecerá reatividade microbiológico quando as amostras são expostas a temperatura favorável. Em seus estudos, Tian et al. (2021), notaram que microrganismos fecais em ambiente de anaerobiose apresentam melhores desenvolvimentos em razão de temperaturas de 15 a 20°C, apresentando altas taxas de multiplicação em decorrência do uso de componentes nutritivos residuais presentes nas fezes. BURZ et al. (2019), destaca que microrganismos fecais apresentam viabilidade

quando armazenados a 4°C por 24 horas ou mesmo congelados, podendo retomar suas atividades metabólicas e multiplicadoras, quando expostos em ambiente favorável.

2.7.1. Local de coleta das fezes

São destacados problemas de aplicabilidade de mesmas técnicas utilizadas na pesquisa, para o campo, partindo desde a coleta, até o armazenamento do material. No campo, dentro dos confinamentos, a obtenção de material não se encaixa nos padrões da utilizado na pesquisa, que geralmente ocorre pela coleta de fezes diretamente de ampola retal (AR) do animal. A utilização da técnica de coleta em AR acarreta dificuldades de manejo, favorecendo problemas ligados a estresse, riscos a sanidade animal e predisposição a traumas nos animais (MOTA et al., 2019).

A técnica de coleta de amostras na ampola retal consiste na retirada do conteúdo fecal diretamente da porção final do trato gastrointestinal dos bovinos, levando a menores riscos de contaminação por microrganismos externos ou material estranho ambiental. Para a realização do procedimento, o animal deve ser conduzido até um curral de manejo, contido de forma adequada, devendo ser procedido à palpação transretal do animal. O responsável pela coleta deverá recolher o material no interior do intestino sendo realizado o armazenamento do material logo após sua retirada. Além de armazenado de forma adequada, geralmente dentro de potes de transporte de amostras ou saquinhos plásticos limpos, deve-se realizar a identificação da amostra e posterior resfriamento ou congelamento da mesma (SILVA NETTO, 2007).

É comum a utilização de coleta diretamente da ampola retal para realização amostragem de fezes para análise laboratorial, sendo bastante descrito na literatura científica. Oliveira et al. (2004), Fernandes et al. (2014), citam a utilização da técnica de coleta de fezes em ampola retal, enquanto Evangelista et al. (2021) utilizaram a técnica, de coletas após a defecação. Oliveira et al. (2021a), Possamai et al. (2021), Santos et al. (2021) e Buonaiuto et al. (2021), citam a utilização de técnica de coleta das fezes diretamente da ampola retal. Os autores descrevem a realização de contenção dos animais, utilização de luvas estéreis para a realização da coleta, além de armazenamento adequado do material coletado.

Outra informação que apresenta variação é o número amostral por lotes de animais, ou seja, quantas amostras devem ser coletadas para um levantamento eficiente. Michelotti et al. (2021), Buonaiuto et al. (2021) e Hagey et al. (2019) relataram a coleta de 15 amostras, por lote de animais, para a formação de uma amostra composta que

representasse a realidade do grupo. Ran et al. (2020), Adeyemi et al. (2020) e Senaratne et al. (2019), citam o recolhimento de 10 amostras, por lotes de animais.

2.7.2. Horários de amostragem

Em suas pesquisas, Fredin et al. (2014) definiram que para a avalição de amido fecal de bovinos, não são consideráveis as variáveis de tempo para coleta amostral. Não foram comprovadas alterações na excreção de amido pelo período de dia da semana, com tudo, com relação ao horário de coleta, não foi obtida uma resposta conclusiva quanto à relação de amido fecal. Segundo Leonard et al. (1989), pode haver uma influência do período de coleta sobre a concentração de amido fecal, sendo este fator dependente do tipo de processamento da fonte de amido fornecido na dieta. Quanto menores as partículas do alimento precursor de amido, consequentemente melhor será o aproveitamento desse produto e menor a variação de concentração de amido fecal, levando a pouca influência sobre resultados de experimentos.

O horário de coleta de amostras apresenta grande variação na literatura. Muitos autores, utilizaram como estratégia a amostragem duas vezes ao dia, como apresentado por Bal et al. (1997), Schwab et al. (2002), Tharangani et al. (2020) e Kotz et al. (2020).Outros autores, realizaram coletas três vezes ao dia em seus experimentos, como Bal et al. (2000a), Bal et al. (2000b), Hao et al. (2020), Petri et al. (2019) e Castillo-Lopez et al. (2020). Todas as literaturas anteriormente citadas, descrevem a realização de coletas após adaptação dos animais ao consumo e digestão das TMRs fornecidas.

2.7.3. Processamento e armazenamento da amostra de fezes

Após a amostragem, a conservação do matérias biológicos apresenta grande importância para preservar as características orgânicas da amostra, evitando erros pré-analíticos. Condutas de coleta, armazenamento e envio de materiais fecais, assim como outros produtos biológicos, realizados de forma ineficiente, geram reduzida confiabilidade aos resultados das análises laboratoriais. Em especifico, a coleta de fezes deve ser conduzida de forma cuidadosa, a fim de reduzir a contaminação por microrganismos e elementos incomuns como terra, alimentos, outros tipos de produtos biológicos. Já a conservação até envio ao laboratório, deve ser procedido efetivamente, a fim de controlar ou limitar, o crescimento e desenvolvimento de microrganismo, que

podem reduzir ou aumentar, a concentração de elementos amostrais, gerando erros analíticos (CENCI et al., 2011; PARKER et al., 2017).

Para a conservação de produtos e amostras biológicas destinados à análise laboratorial, é comumente utilizado o resfriamento ou congelamento. A aplicação de baixas temperaturas é uma forma eficaz de controle microbiológico para a maioria dos microrganismos, sendo pouco eficiente apenas para espécies psicrófilas, que se desenvolvem em temperaturas baixas. A temperatura de refrigeradores (0°C e 7°C), reduz o metabolismo microbiano e a perda de qualidade de amostras que serão analisadas. Já o congelamento, com temperaturas abaixo de -2 °C, pode cessar o crescimento ou mesmo destruir microrganismos suscetíveis (PARKER et al., 2017).

O processo de retirada da umidade de amostras biológicos, através de desidratação, é uma estratégia que visa não só a secagem de moléculas de água do material, mas também dos microrganismos presentes. A falta de água impede o metabolismo microbiano, podendo leva-los à morte e consequentemente impedindo o desenvolvimento de novos microrganismos. Quando secas de forma eficiente, são mantidas as características orgânicas dos materiais biológicos, neutralizando bactérias, fungos e protozoários (PARKER et al., 2017).

Os álcoois são comumente aplicados em superfícies para destruir microrganismos e, em alguns casos, utilizados para a preservação de produtos biológicos (CURY et al., 2013). No geral, são classificados como desinfetantes e antissépticos químicos, atuando diretamente sobre proteínas associadas ao metabolismo microbiológico e rompendo membrana celular. Os álcoois causam a coagulação proteica, por isso, na maioria das vezes, é utilizado na concentração de 70%, pois concentrações altas (por exemplo, na concentração de 100%), geram uma coagulação muita rápida de proteínas de membrana, reduzindo a sua penetração nas células microbianas, automaticamente levando à perda de eficiência (PARKER et al., 2017).

Dentre as formas de conservação para amostras de amido fecal, a mais utilizada em pesquisa ocorre através do congelamento de amostras de fezes, logo após a coleta do material. Os trabalhos desenvolvidos por Dickhoefer et al. (2022), Gallo et al. (2022), Michelotti et al. (2021), Bandarupalli et al. (2020), Albornoz et al. (2019), Oliveira et al. (1995), Shanks et al. (2011), Depenbusch et al. (2008), Russell et al. (1981) e Silva et al. (2012), utilizaram a estratégia de congelamento das amostras para preservação de suas características físico-químicas até a análise laboratorial, em temperatura de -20°C em freezer.

Apesar de ser uma das estratégias mais descrita em documentos científicos o congelamento pode apresentar algumas desvantagens, relacionadas principalmente com as condições encontradas à campo, em regiões de grande extensão territorial. O lento escoamento e envio de materiais, torna-se uma estratégia pouco interessante, por favorecer o descongelamento do material, antes da chegada ao laboratório, predispondo perdas de qualidade e a erros pré-analíticos (AIRES et al., 2015). O descongelamento do material pode favorecer o retorno de ação de gradação microbiológica sobre a amostra, gerando perda de qualidade e confiança nas análises (WU et al., 2021; GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ et al., 2020; CHÁVEZ, 2019; PÉREZ et al., 2020; LEHMANN, 2020).

A temperatura e tempo de armazenamento pode influenciar diretamente sobre a degradação de frações orgânicas de amostras fecais, influenciando diretamente não apenas as concentrações de nutrientes residuais nas fezes, como também a multiplicação microbiológica. Contudo, a composição microbiana de fezes pode sofrer influência também de erros pré-analíticos e laboratoriais associados a conservação de amostras, quando microrganismos podem encontrar temperatura e ambiente adequados para ativação metabólica, gerando alterações significativas em análises de material fecal (CUNNINGHAM et al., 2020).

De acordo com Holzhausen et al. (2021), muitas vezes as amostras biológicas podem passar por alterações químicas e biológicas associadas principalmente a difícil conservação do material, garantindo temperatura e tempo adequados, para efetivar o transporte seguro até laboratórios de processamento. Esse fator tem grande correlação a condições de logística de campo, possuindo correlação não apenas com condições de congelamento ou mesmo resfriamento de amostras em tempo hábil, como também a associação com grandes áreas geográfica levando a longos períodos de transporte que podem permitir perda de ambiente adequado para garantir condições seguras de evitar oscilações de características químicas e biológicas amostrais.

Condições de armazenamento sobre temperaturas de conservação (-80°C, -20°C, 5°C e 22° C) geram grande influência sobre condições associadas a microflora fecal, proporcionando mudanças taxonômica e funcional dos microrganismos presentes em fezes. Amostras conservadas pela forma de congelamento, expostas a temperatura de -80°C ou –20°C, apresentam grande semelhança entre suas estruturam microbianas, enquanto amostras apenas resfriadas (5°C e 22°C), apresentam variação entre elas e os meios congelados. Acredita-se que temperaturas de conservação abaixo de 0°C apresentam baixa crescimento microbiano, independente do período de conservação

aplicado, estando mais próximo do ideal para análise. Com tudo, formas de conservação através de resfriamento podem não ser tão eficientes, se forem utilizadas como forma de preservação por períodos acima de 24 horas, permitindo alterações de características químicas e microbiológicas das fezes (POULSEN et al., 2021).

REFERÊNCIAS

ABIEC. **Beef Report**: perfil da pecuária no Brasil. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes (ABIEC), 2021. Disponível em: http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2021/. Acesso em: 20 de maio de 2022.

ADEYEMI, J.A., PETERS, S.O., DE DONATO, M., CERVANTES, A. P., OGUNADE, I. M. **Effects of a blend of Saccharomyces cerevisiae-based direct-fed microbial and fermentation products on plasma carbonyl-metabolome and fecal bacterial community of beef steers**. Journal of Animal Science and Biotechnology, v. 11, n° 14, 2020.

AIRES, C. A. M., ARAUJO, C. F. M., NOBRE, M. L., RUSAK, L. A., ASSIS, U. G., LOPÉZ, D. C. M., PORTILHO, M. M. **Biossegurança em transporte de material biológicono âmbito nacional**: um guia breve. Revista Pan-Amazônica de Saúde, v. 6, n° 2, p. 1-9, 2015.

ALBORNOZ, R. I., HARVATINE, K. J., ALLEN, M. S. **Diet starch concentration and starch fermentability affect energy intake and energy balance of cows in the early postpartum period**. Journal of Dairy Science, v. 102, n° 6, 2019.

ARTAVIA, G., CORTÉS-HERRERA, C., GRANADOS-CHINCHILLA, F. **Total and resistant starch from foodstuff for animal and human consumption in Costa Rica**. Current Research in Food Science, v. 3, 275-283, 2020.

BAL a, M. A., SHAVER, R. D., AL-JOBEILE, H., COORS, J. G., LAUER, J.G. **Corn silage hybrid effects on intake, digestion, and milk production by dairy cows**. Journal of Dairy Science, n° 83, p. 2849-2858, 2000 a.

BAL b, M. A., SHAVER, R. D., JIROVEC, A. G., SHINNERS, K. J., COORS, J. G. **Crop processing and chop length of corn silage**: Effects on intake, digestion, and milk production by dairy cows. Journal of Dairy Science, n° 83, p. 1264-1273, 2000 b.

BAL, M. A., COORS, J. G., SHAVER, R. D. **Impact of the maturity of corn for use as silage in the diets of dairy cows on intake, digestion, and milk production**. Journal of Dairy Science, n° 80, p. 2497-2503, 1997.

BANDARUPALLI, V. V. K., ST-PIERRE, B. **Identification of a candidate starch utilizing strain of prevotella albensis from bovine rumen**. Microrganismos, v. 8, n° 12, 2020.

BELÉM, P. A. D., ASSIS, C. B., SANTANA, L. P. **Atividades hidrolíticas de amostras de conteúdo do intestino delgado de bovinos adultos, infectados ou não por *Eurytrema* sp, determinadas por difusão radial enzimática**. Ciência Rural, v. 30, n° 2, p. 351-353, 2000.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. 2ª ed. Jaboticabal: FUNEP, p. 616, 2011.

BUONAIUTO, G., PALMONARI, A., GHIACCIO, F., VISENTIN, G., CAVALLINI, D., CAMPIDONICO, L., FORMIGONI, A., MAMMI, L.M. E. **Effects of complete**

replacement of corn flour with sorghum flour in dairy cows fed Parmigiano Reggiano dry hay-based ration. Italian Journal of Animal Science, v. 20, n° 1, 2021.

BURIOL, L. R., TORTELI, S. R., GALLINA, G., BATTISTON, J., LAJÚS, C. R. **Grain size profile and starch digestibility of corn silage submitted to different processing**. Brazilian Journal of Development, v. 7, n° 4, p. 39680-39710, 2021.

BURZ, S.D., ABRAHAM, AL., FONSECA, F., DAVID, O., CHAPRON, A., BÉGUET-CRESPEL, F., CÉNARD, S., ROUX, K. L., PATRASCU, O., LEVENEZ, F., SCHWINTNER, C., BLOTTIÈRE, H. M., BÉRA-MAILLET, C., LEPAGE, P., DORÉ, J., JUSTE, C. **A Guide for Ex Vivo Handling and Storage of Stool Samples Intended for Fecal Microbiota Transplantation**. Sci Rep, v. 9, n° 8897, 2019.

CASTILLO-LOPEZ, E., HASELMANN, A., PETRI, R. M., KNAUS, W., ZEBELI, Q. **Evaluation of fecal fermentation profile and bacterial community in organically fed dairy cows consuming forage-rich diets with different particle sizes**. Journal of Dairy Science, v. 103, n° 9, p. 8020-8033, 2020.

CENCI, A., BRAGA, A. de C., BRITO, B. G., CERVA, C., MAYER, F. Q., KARAM, F. S. C., MARTINS, J. R. de S., SIMÕES PIRES NETO, J. A., ROSA, J. C. de A., BRITO, K. C. T. De, COPPOLA, M. de M., DASSO, M. G., ROEHE, P. M., DOYLE, R. L., BOROWSKI, S. **Manual de coleta e remessa de amostras para diagnóstico laboratorial veterinário**. Porto Alegre : FEPAGRO, Boletim Técnico, n° 20, 2011.

CHÁVEZ, V. **Sources of pre-analytical, analytical and post-analytical errors in the microbiology laboratory** (Chapter 24). Accurate Results in the Clinical Laboratory, 2ª Edition, Editora Elsevier, p. 377-384, 2019.

CUNNINGHAM, J. L., BRAMSTÅNG, L., SINGH, A., JAYARATHNA, S., RASMUSSON, A. J., MOAZZAMI, A., MÜLLER, B. **Impact of time and temperature on gut microbiota and SCFA composition in stool samples**. PLoS One. v. 15, n° 8, 2020.

CURY, F. S., CENSONI, J. B., AMBRÓSIO, C. E. **Técnicas anatômicas no ensino da prática de anatomia animal**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 33, n° 5, p. 688-696, 2013.

DEPENBUSCH, B. E., NAGARAJA, T. G., SARGEANT, J. M., DROUILLARD, J. S., LOE, E. R., CORRIGAN, M. E. **Influence of processed grains on fecal pH, starch concentration, and shedding of *Escherichia coli* O157 in feedlot cattle**. Journal of AnimalScience, v. 86, nº 3, p. 632–639, 2008.

DEY, D., RICHTER, J. K., EK, P., GU, B., GANJYAL, G. M. **Utilization of Food Processing By-products in Extrusion Processing: A Review**. Frontiers in Sustainable Food Systems, v. 4, 2021.

DIAS, M., LEÃO, M. I., DETMANN, E., VALADARES FILHO, S. C., VASCONCELOS, A. M., SOUZA, S. M., PAULINO, M. F., MURÇA, T. B. **Técnicas para estimativa da digestibilidade e produção microbiana em bovinos**. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 37, n° 3, p. 504-512, 2008.

DICKHOEFER, U., SAINZ-SANCHEZ, P. A., ROJAS, G., CASTRO-MONTOYA, J. M., GOMEZ, C. **Effects of type of concentrate and timing of supplementation on feed intake, nitrogen use, and performance in lactating dairy cows grazing an alfalfa-ryegrass sward**. Animals, v. 12, n° 10, 2022.

EMBRAPA. **Brasil é o quarto maior produtor de grãos e o maior exportador de carnebovina do mundo, diz estudo**. Disponível em: https://www.embrapa.br/busca-de- noticias/-/noticia/62619259/brasil-e-o-quarto-maior-produtor-de-graos-e-o-maior-exportador-de-carne-bovina-do-mundo-diz-estudo. Acesso em: 11 de agosto de 2021.

ERICKSON, P. S., KALSCHEUR, K. F. **Nutrition and feeding of dairy cattle**. Animal Agriculture, p. 157-180, 2020.

EVANGELISTA, C., BASIRICÒ, L., BERNABUCCI, U. **An Overview on the Use of Near Infrared Spectroscopy (NIRS) on Farms for the Management of Dairy Cows**. Agriculture, v. 11, nº 296, 2021.

FERNANDES, A. M., DERESZ, F., HENRIQUE, D. S., LOPES, F. C. F., GLÓRIA, L. S. **Nutritive value of Tanzania grass for dairy cows under rotational grazing**. RevistaBrasileira de Zootecnia, v. 43, n° 8, p. 410-418, 2014.

FERNANDES, L. O., D'AUREA, A. P., MACIEL, G. A., LUCENA, A. **Bovinos do Brasil: inovação, sustentabilidade e mercado: Novas conquistas na alimentação dos bovinos**. Metalivros: São Paulo, p. 108-133, 2022.

FORNAZARI NETO, A., MARTINS, C. E. N., SCHWEGLER, E., BARCELLOS, J. O. J., BARTH, A. L. **Blood metabolites and fecal starch as indicators of feed efficiency of beef cattle in the feedlot**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 73, n° 6, p. 1260-1268, 2021.

FREDIN, S. M., FERRARETTO, L. F., AKINS, M. S., HOFFMAN, P. C., SHAVER, R. D. **Fecal starch as an indicator of total-tract starch digestibility by lactating dairy cows**. Journal of Dairy Science, v. 97, n° 3, p.1862-1871, 2014.

FRENCH, D. **Chemical and physical properties of start**. Journal of Animal Science, v. 37, n° 4, p. 1048–1061, 1973.

GALLO, A., VALSECCHI,C., MASSERONI, M., CANNAS, A., GHILARDELLI, F., MASOERO, F., ATZORIÍCONE, A. S. **An observational study to verify the influence of different nutritional corn silage-based strategies on efficient use of dietary nutrients, faecal fermentation profile, and profitability in a cohort of intensive dairy farms**. Italian Journal of Animal Science, v. 21, n° 1, 2022.

GÓMEZ, L. M., POSADA, S. L., OLIVERA, M. **Starch in ruminant diets**: a review. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, v. 29, n. 2, p. 77-90, 2016.

GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ, R., GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ, A., SAYAGO, A., FERNÁNDEZ-RECAMALES, A. **Recommendations and best practices for standardizing the pre-analytical processing of blood and urine samples in metabolomics**. Metabolites, v. 10, n° 6, p. 229, 2020.

HAGEY, J. V., BHATNAGAR, S, HEGUY, J. M., KARLE, B. M., PRICE, P. L.,

MEYER D., MAGA E. A. **Fecal microbial communities in a large representative cohort of california dairy cows**. Frontiers in Microbiology, v. 10, 2019.

HAN, C., GUO, Y., CAI, X., YANG, R. **Starch Properties, Nutrients Profiles, In Vitro Ruminal Fermentation and Molecular Structure of Corn Processed in Different Ways**. Fermentation, v. 8, n° 315, 2022.

HAO, Y., HUANG, S., SI, J., ZHANG, J., GAOWA, N., SUN, X., LV, J., LIU, G., HE, Y., WANG, W., WANG, Y., LI, S. **Effects of Paper Mulberry Silage on the Milk Production, Apparent Digestibility, Antioxidant Capacity, and Fecal Bacteria Composition in Holstein Dairy Cows**. Animals, v. 10, n° 7, 2020.

HARSON, D. L. **Understanding starch utilization in the small intestine of cattle**. Asian Australasian Journal of Animal Sciences, v. 22, n° 7, p. 915-922, 2009.

HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. **The Rumen Microbial Ecosystem. Capitulo: Polysaccharide degradation by rumen microorganisms**. p. 329-381, 2ª ed., London: Blackie Academic and Professional, 1997.

HOLZHAUSEN, E. A., NIKODEMOVA, M., DEBLOIS, C. L., BARNET, J. H., PEPPARD, P. E., SUEN, G., MALECKI, K. M. **Assessing the impact of storage time on the stability of stool microbiota richness, diversity, and composition**. Gut Pathog, v. 13, n° 75, 2021.

HUHTANEN, P., SVEINBJÖRNSSON, J. **Evaluation of methods for estimating starch digestibility and digestion kinetics in ruminants**. Animal Feed Science and Technology, v. 130, n° 1–2, p. 95-113, 2006.

HUNTINGTON, G. B., HARMON, D. L., RICHARDS, C. J. **Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle**. Journal of animal science, 84 (E. Suppl.): E14–E24, 2006.

JANCEWICZ, L. J., PENNER, G. B., SWIFT, M. L., WALDNER, C. L., GIBB, D. J., MCALLISTER, T. A. **Predictability of growth performance in feedlot cattle using fecal near-infrared spectroscopy**. Canadian Journal of Animal Science, v. 97, nº 4, 2017.

JANČÍK, F.; KUBELKOVÁ, P.; LOUČKA, R.; JAMBOR, V.; KUMPRECHTOVÁ, D.; HOMOLKA, P.; KOUKOLOVÁ, V.; TYROLOVÁ, Y.; VÝBORNÁ, A. **Shredlage Processing Affects the Digestibility of Maize Silage**. Agronomy, v. 12, n° 5, 2022.

JUNG, D. H., SEO, D. H., KIM, G. Y., NAM, Y. D., SONG, E. J., YOON, S., PARK, C. S. **The effect of resistant starch (RS) on the bovine rumen microflora and isolation of RS-degrading bacteria**. Applied microbiology and biotechnology, v. 102, N° 11, p. 4927–4936, 2018.

KOTZ, A., AZEVEDO, P. A., KHAFIPOUR, E., PLAIZIER, J. C. **Effects of the dietary grain content on rumen and fecal microbiota of dairy cows**. Canadian Journal of Animal Science, v. 101, n° 2, p. 274-286, 2020.

LEHMANN, R. **Pre-analytics in biomedical metabolomics** (Chapter 3). Metabolomics for Biomedical Research. Editora Academic Press, p. 33-56, 2020.

LEONARD, E. S., POND, K. R., HARVEY, R. W., CRICKENBERGER, R. G. **Effects of corn grinding and time of corn feeding on growth, starch utilization and digesta passage characteristics of growing steers fed hay-based diets**. Journal of Animal Science, v. 67, ed. 6, p. 1603–1622, 1989.

MEDEIROS, S. R., GOMES, R. C., BUNGENSTAB, D. J. **Nutrição de bovinos de corte**: fundamentos e aplicações. Brasília, DF: Embrapa, p. 176, 2015.

METZLER-ZEBELI, B. U., LAWLOR, P. G., MAGOWAN, E., ZEBELI, Q. **Effect of freezing conditions on fecal bacterial composition in pigs**. Animals (Basel), v. 6, n° 3, p. 18, 2016.

METZLER-ZEBELI, B., CANIBE, N., MONTAGNE, L., FREIRE, J., BOSI, P., PRATES, J. A. M., TANGHE, S., TREVISI, P. **Resistant starch reduces large intestinal pH and promotes fecal lactobacilli and bifidobacteria in pigs**. Animal, v. 13, n° 1, p. 64-73, 2019.

MICHELOTTI, T. C. A., DA SILVA, R. A., CARNEIRO, J. H., NAVARRO, R. B., DE CARVALHO, I. Q., DE PAULA, E. M., LUIZ FELIPE FERRARETTO, L. F., CAETANO, M., DUARTE, D. P., DE ALMEIDA, L, R. **Effect of ensiling time on apparent total tract starch digestibility in Southern Brazilian dairy herds**. Scientia Agricola, v. 78, n° 2, 2021.

MOTA, R. G., MARÇAL, W. S. **Comportamento e bem-estar animal de bovinos confinados: Alternativas para uma produção eficiente, rentável e de qualidade: Revisão bibliográfica**. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, v. 13, n° 1, p. 125- 141, 2019

MOURÃO, R. C., PANCOTI, C. G., MOURA, A. M., FERREIRA, A. L., BORGES, A. L. C. C., REIS E SILVA, R. **Processamento do milho na alimentação de ruminantes**. PUBVET, Londrina, v. 6, n° 5, Ed. 192, Art. 1292, 2012.

NUNES, M. S., GEDANKEN, V. **Bovinocultura**: manejo e alimentação de bovinos de corte em confinamento. Serviço Nacional de Aprendizagem Rural – SENAR, Brasília (DF), p. 58, 2018.

OLIVEIRA, C. A., MILLEN, D. D. **Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil**. Animal Feed Science and Technology, v. 197, p. 64-75, 2014.

OLIVEIRA, J. S., HUBER, J. T., SIMAS, J. M., THEURER, C. B., SWINGLE, R. S. **Effect of sorghum grain processing on site and extent of digestion of starch in lactating dairy cows**. Journal of Dairy Science, v. 78, nº 6, p. 1318-1327, 1995.

OLIVEIRA, L. O. F., SALIBA, E. O. S., RODRIGUEZ, N. M., GONÇALVES, L. C., BORGES, I., AMARAL, T.B. **Consumo e digestibilidade de novilhos Nelore sobp astagem suplementados com misturas múltiplas**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 56, n° 1, p. 61-68, 2004.

OLIVEIRA, V. S., NETO, J. A. S., VALENÇA, R. L., SILVA, B. C. D., SANTOS, A. C. P. **Carboidratos fibrosos e não fibrosos na dieta de ruminantes e seus efeitos sobre a microbiota ruminal**. Veterinária Notícias, v. 22, n° 2, 2016.

OLIVEIRA[a], G. F., MAGALHÃES, V. S., ALVES, M. C. C., JESUS, I. L. R., MEDEIROS, M. T., GOMES, B. T., CALADO, S. B., MELO, R. C., CID, Y. P., SCOTT, F. B. **Evaluation of pyriproxyfen in cattle by oral treatment: An alternative to control Haematobia irritans**. Veterinary Parasitology, v. 299, 2021[a].

OLIVEIRA[b], N. D., SILVA, A. K., M., BERNIS, V. M. O., BERNIS FILHO, W. O. **Análise da presença da atividade da enzima alfa-amilase salivar na espécie bovina**. Caderno De Ciências Agrárias, v. 13, p. 1–7, 2021[b].

OWENS, C. E., PAS, R. A. Z., HASSEN, H., PAS, F. N. O. **Mathematical linkage of total-tract digestion of starch and neutral detergent fiber to their fecal concentrations and the effect of site of starch digestion on extent of digestion and energetic efficiency of cattle**. The Professional Animal Scientist, v. 32, n° 5, p. 531-549, 2016.

PARKER, N., SCHNEEGURT, M., THI TU, A. H., FORSTER, B. M., LISTER, P. **Microbiology** - Chapter 13- Control of Microbial Growth. Editora OpenStax, Rice Universit, College Physics, 1301 p., 2017.

PÉREZ, J. M., ESPINOSA, J., BOOS, M., AZORIT, C., MOLINA, L., LÓPEZ-MONTOYA, A. J. **Evaluation of long-term 11-oxoaetiocholanolone stability in red deer faecal samples under different storage conditions**. European Journal of Wildlife Research, v. 66, n° 56, 2020.

PÉREZ-BURILLO, S., HINOJOSA-NOGUEIRA, D., NAVAJAS-PORRAS, B., BLASCO, T., BALZERANI, F., LERMA-AGUILERA, A., LEÓN, D., PASTORIZA, S., APAOLAZA, I., PLANES, F. J., FRANCINO, M. P., RUFIÁN-HENARES, J. Á. **Effect of freezing on gut microbiota composition and functionality for in vitro fermentation experiments**. Nutrients, v. 13, n° 7, 2021.

PETRI, R. M., MÜNNICH, M., ZEBELI, Q., KLEVENHUSEN, F. **Graded replacement of corn grain with molassed sugar beet pulp modulates the fecal microbial community and hindgut fermentation profile in lactating dairy cows**. Journal of Dairy Science, v. 102, n° 6, p. 5019-5030, 2019.

PEYRAT, J., NOZIÈRE, P., LE MORVAN, A., FÉRARD, A., PROTIN, P. V., BAUMONT, R. **Effects of ensiling maize and sample conditioning on in situ rumen degradation of dry matter, starch and fibre**. Animal Feed Science and Technology, v. 196, p. 12 – 21, 2014.

PINTO, A. C. J., MILLEN, D. D. **Nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists: the 2016 Brazilian survey**. Canadian Journal of Animal Science, v. 99, n° 2, p. 392-407, 2019.

POSSAMAI, A. J., ZERVOUDAKIS, J. T., OLIVEIRA, A. S., HATAMOTO-ZERVOUDAKIS, L. K., E SILVA, P. I. J. R., DA FREIRIA, L. B., E SILVA, Y. R. V. B. **Modulating the lipid profile of beef using cottonseed and crude glycerin**. Tropical

Animal Health and Production, v. 53, n° 173, 2021.

POULSEN, C. S., KAAS, R. S., AARESTRUP, F. M., PAMP, S. J. **Standard Sample Storage Conditions Have an Impact on Inferred Microbiome Composition and Antimicrobial Resistance Patterns**. Microbiol Spectr, v. 9, n° 2, 2021.

RAN, T., JIAO, P., ALZAHAL, O., XIE, X., BEAUCHEMIN, K. A., NIU, D., YANG, W. **Fecal bacterial community of finishing beef steers fed ruminally protected and non-protected active dried yeast**. Journal of Animal Science, v. 98, n° 4, 2020.

REMILLARD, R. L., JOHNSON, D. E., LEWIS, L. D., NOCKELS, C. F. **Starch digestion and digesta kinetics in the small intestine of steers fed on a maize grain and maize silage mixture**. Animal Feed Science and Technology, v. 30, n° 1–2, p. 79-89, 1990.

RIBEIRO, G. O., SWIFT, M. L., MCALLISTER, T. A. **Effect of diastatic power and processing index on the feed value of barley grain for finishing feedlot cattle**. Journal of Animal Science, v. 94, n° 8, p. 3370-3381, 2016.

RUSSELL, J. R., YOUNG, A. W., JORGENSEN, N. A. **Effect of dietary corn starch intake on ruminal, small intestinal and large intestinal starch digestion in cattle**. Journal of Animal Science, v. 52, nº 5, p. 1170–1176, 1981.

SANTOS, T. A. X., FERNANDES, L. M. G., CARVALHO, P. P. X., MARTINS JÚNIOR, V. S., FONSECA, S. A., CHAVES, A. S., DUARTE, E. R. **Performance and microbiota of the digestive tract of Nellore calves supplemented with fungi isolated from bovine rumen**. Veterinary world, v. 14, n° 10, 2021.

SCHWAB, E. C., SHAVER, R. D., SHINNERS, K. J., LAUER, J. G., COORS, J. G. **Processing and chop length effects in brown-midrib corn silage on intake, digestion, and milk production by dairy cows**. Journal of Dairy Science, n° 85, p. 613-623, 2002.

SENARATNE, V., PLAIZIER, J. C. **Relationships between dietary and cow factors with the fecal phosphorus contents of dairy cows in Manitoba**. Canadian Journal of Animal Science, v. 100, n° 1, p. 210-213, 2019.

SHANKS, O. C., KELTY, C. A., ARCHIBEQUE, S., JENKINS, M., NEWTON, R. J., MCLELLAN, S. L., HUSE, S. M., SOGIN, M. L. **Community structures of fecal bacteria in cattle from different animal feeding operations**. ASM Journals - Applied and Environmental Microbiology, v º 77, n° 9, p. 2992-3001, 2011.

SHANKS, O. C., KELTY, C. A., ARCHIBEQUE, S., JENKINS, M., NEWTON, R. J., MCLELLAN, S. L., HUSE, S. M., SOGIN, M. L. **Community structures of fecal bacteria in cattle from different animal feeding operations**. Appl Environ Microbiol, v. 77, n° 9, p. 2992-3001, 2011.

SILVA NETTO, F. G. **Coleta e remessa de material para exame de laboratório**. Embrapa Rondônia. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2007.

SILVA, H. L., FRANÇA, A. F. S., FERREIRA, F. G. C., FERNANDES, E. S., LANDIM, A., CARVALHO, E. R. **Indicadores fecais de bovinos nelore alimentados com dietas**

dealta proporção de concentrado. Ciência Animal Brasileira, v. 13, nº 2, p. 145-156, 2012.

SILVA, M. R. H., JOBIM, C. C., NEUMANN, M., OSMARI, M. P. **Substitution of dry corn grain by rehydrated and ensiled corn grain, finely or coarsely ground, on performance of young bulls finished in feedlot**. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 51, 2022.

SOUSA, P. G., MENEZES, G. L., OLIVEIRA, A. F., PIRES, F. P. A. A., MENEZES, R. A., OLIVEIRA, E. C., SILVA, A. E., GONÇALVES, L. C., JAYME, D. G. **Maior tempo de estocagem aumenta a digestibilidade do amido em silagem de milho?**. PUBVET, v.16, n° 1, p. 1-7, 2022.

TERRY, S. A., BASARAB, J. A., GUAN, L. L., MCALLISTER, T. A. **Strategies to improve the efficiency of beef cattle production**. Canadian Journal of Animal Science, v. 101, n° 1, p. 1-19, 2020.

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

THARANGANI, H., LU, C., ZHAO, L., MA, L., GUO, X., WEISS, W. P., BU, D. **Estimation of between-cow variability in nutrient digestion of lactating dairy cows fed corn-based diets**. Animais, v. 10, n° 8, 2020.

TIAN, T., QIAO, W., HAN, Z., WEN, X., YANG, M., ZHANG, Y. **Effect of temperature on the persistence of fecal bacteria in ambient anaerobic digestion systems treating swine manure**. Science of The Total Environment, v. 791, 2021.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. New York: Cornell University Press, p. 476. 1994.

WALDO, D. R. **Extensão e partição da digestão de amido de grão de cereal em ruminantes**. Journal of Animal Science, v. 37, nº 4, p. 1062-1074, 1973.

WANG, R., WANG, M., LIN, B. O., UNGERFELD E. M., MA, Z. Y., WU, T. T., WEN, J. N., ZHANG, X. M., DENG, J. P., TAN, Z. L. **Associations of ruminal hydrogen and pH with fiber digestibility and microbiota composition induced by increasing starch intake in beef cattle**. Animal Feed Science and Technology, v. 278, 2021.

WU, J., ZHANG, M., BHANDARI, B., YANG, C. **Drip loss control technology of frozen fruits and vegetables during thawing**: a review. Agrophys, v. 35, n° 3, p. 235-250, 2021.

ZINN, R. A., BARRERAS, A., CORONA, L., OWENS, F. N., WARE, R. A. **Starch digestion by feedlot cattle: Predictions from analysis of feed and fecal starch and nitrogen**. Journal of animal science, v. 85, n° 7, p. 1727-1730, 2007.

CAPÍTULO 2 – ARTIGO CIENTÍFICO

HORÁRIO DE COLETA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE AMIDO FECAL EM BOVINOS DE CORTE CONFINADOS

RESUMO

O amido é um dos nutrientes de maior relevância na dieta de terminação de bovinos confinados. A digestibilidade é forma direta de avaliação da eficiência de utilização do amido. Contudo, questionamentos sobre a metodologia de coleta e conservação das fezes é um limitante na utilização do cálculo de digestibilidade em confinamentos. O objetivo do presente trabalho é propor uma metodologia segura para coleta e conservação de amostras de fezes, para avaliação da digestibilidade de amido em dietas de terminação de bovinos. No experimento 1 (EXP. 1) foi estudado os horário e/ou intervalo entre coletas. No experimento 2 (EX. 2) foi avaliado os métodos de conservação das amostras fecais. Assim, cinco lotes de bovinos de corte, com genética similares (zebuínos), compostos por machos não castrados, apresentando idade entre 20 a 24 meses, alimentados com mesma dieta e mesmo manejo alimentar, foram amostrados, realizando-se coletas de fezes, para posterior análise de amido fecal. Para o EX. 1, foram procedidas amostragens em diferentes horários do dia, sendo realizadas coletas as 8:00, 9:30, 11:00, 13:30, 15:00 e 16:30. Para o EX. 2, realizou-se coletas de amostras em dois horários do dia (10:00 e 15:30), sendo o material amostrado, exposto a cinco métodos de conservação (tratamentos) diferentes, sendo eles: 1 - secagem em estufa (SE); 2 - resfriada em caixa de isopor isotérmica (RE); 3 – congelada (CO); 4 – seca em Air Fryer (AF); 5 – com adição de álcool 70% (AL). A análises estatísticas foram baseadas no uso do software SAS version 9.4 (SAS Institute Inc. Cary, NC). Como resultados, no EX. 1, verificou-se-que não ocorreu efeito do horário de coleta ($p<0,05$), ou seja, as concentrações de amido remanescente nas fezes foram semelhantes nos diferentes tempos. No EX. 2, os teores de amido fecal foram maiores ($p<0,05$) nos tratamentos AL e AF em relação aos tratamentos CO, SE e RE. Concluiu-se, com o EX. 1, que a amostragem de fezes em qualquer horário do dia, pode ser realizada para a análise de amido fecal. No EX. 2, a conservação por meio de desidratação de amostras em Air Fryer ou adição de Álcool 70%, mostraram-se eficientes alternativa principalmente em condições de coleta a campo. Assim, essa pesquisa fornece alternativa metodológica segura para a amostragem de fezes para

avaliação da digestibilidade de amido na terminação de bovinos de corte em confinamento.

Palavras chave: amido resistente; amostragem de fezes; digestibilidade de amido; conservação de fezes; ruminante.

ABSTRACT

Starch is one of the most important nutrients in the finishing diet of confined cattle. Digestibility is a direct way of evaluating the efficiency of starch utilization. However, questions about the methodology of collection and conservation of feces is a limiting factor in the use of digestibility calculation in feedlots. The objective of the present work is to propose a safe methodology for the collection and conservation of feces samples, for the evaluation of starch digestibility in finishing diets of cattle. In experiment 1 (EXP. 1) the time and/or interval between collections was studied. In experiment 2 (EX. 2) the methods of conservation of fecal samples were evaluated. Thus, five batches of beef cattle, with similar genetics (zebu), composed of non-castrated males, aged between 20 and 24 months, fed with the same diet and the same feeding management, were sampled, and feces were collected for further analysis of fecal starch. For EX. 1, samplings were carried out at different times of the day, being collected at 8:00, 9:30, 11:00, 13:30, 15:00 and 16:30. For EX. 2, samples were collected at two times of the day (10:00 and 15:30), and the sampled material was exposed to five different conservation methods (treatments), namely: 1 - drying in an oven (SE) ; 2 - cooled in an isothermal styrofoam box (RE); 3 – frozen (CO); 4 – Dry in Air Fryer (AF); 5 – with the addition of 70% alcohol (AL). Statistical analyzes were based on the use of SAS version 9.4 software (SAS Institute Inc. Cary, NC). As a result, in EX. 1, it was verified that there was no effect of the time of collection ($p<0.05$), that is, the concentrations of starch remaining in the feces were similar at different times. In EX. 2, fecal starch contents were higher ($p<0.05$) in AL and AF treatments than in CO, SE and RE treatments. It was concluded, with the EX. 1, that stool sampling at any time of day can be performed for fecal starch analysis. In EX. 2, conservation by means of dehydration of samples in an Air Fryer or addition of 70% Alcohol, proved to be an efficient alternative mainly in field collection conditions. Thus, this research provides a safe methodological alternative for the sampling of feces for the evaluation of starch digestibility in the finishing of beef cattle in confinement.

Keywords: resistant starch; stool sampling; starch digestibility; feces conservation; ruminant.

INTRODUÇÃO

O confinamento na terminação é uma estratégia para abate antecipado de bovinos, promovendo maior peso de carcaça, abate de animais jovens, melhor qualidade de carne, maior desfrute de animais, porém, com o custo de produção mais elevado. De acordo com FORNAZARI NETO et al. (2021), a maximização da produção é possível pela maior densidade energética na dieta, quando comparada a engorda a pasto, devido ao alto fornecimento de ingredientes energéticos, em destaque, fontes de amido.

Diante do cenário, objetivando maior ganho de eficiência, na terminação de bovinos de corte no Brasil, têm sido utilizados aumentos na inclusão de amido, com maximização do valor nutricional das dietas. Contudo, a avaliação da eficiência econômica depende, em última análise, da digestibilidade do amido no trato digestivo (TD), o qual é avaliado pelo amido fecal. A importância de avaliar o aproveitamento do amido da dieta está relacionada aos altos custos nos ingredientes energéticos (JANCEWICZ et al., 2017).

Informações sobre a digestibilidade total do amido no TD dos bovinos em confinamento, podem auxiliar na tomada de decisões, proporcionando melhorias na produtividade, ganho de peso médio diário e eficiência alimentar, impactando sobre a viabilidade do processo de produção. Uma ferramenta que apresenta eficiente aplicabilidade para obtenção dessas informações é a comparação do consumo e capacidade de uso do amido pelos animais em confinamento. A análise de amido residual nas fezes, utiliza comparação linear, entre concentração de amido presente na TMR (ração de mistura total) e na eliminação fecal de frações do amido não aproveitado – Amido Residual (FREDIN et al., 2014; ZINN et al., 2007).

Diferentes métodos podem ser aplicados para análise de amido residual nas fezes de bovinos. Os métodos podem apresentar processos simplificados ou mais complexos, gerando, maiores ou menores custos para aplicação, podendo apresentar variação, mesmo que pequena, entre os resultados. Pode-se comparar a concentração de amido através de análises visuais, utilizando, o amido retido em peneiras de fezes (KLJAK et al., 2019). De acordo com Evangelista et al. (2021), atualmente também são aplicadas análises através de espectroscopia de infravermelho (NIR), que ao medir a dispersão da luz, que é incidida sobre uma amostra, realiza um comparativo entre a refração amostral e dados de uma curva de calibração padrão, levando à determinação aproximada das propriedades químicas do material. Hall (2009) destaca que um método de elevada confiabilidade, é a

mensuração química da concentração de amido nas fezes, aplicando-se enzimas, leveduras e incubação *in vitro*, com uso de padrões e processos laboratoriais sobre o material amostral.

Ainda restam muitas dúvidas com relação à frequência e os melhores horários de coleta, de fezes de bovinos em confinamento para a análise do amido fecal residual. Dificuldade de conservação de amostras congeladas, para envio ao laboratório, prejudicam a eficiência analítica da avaliação de amido fecal, já que muitos confinamentos ficam situados em regiões de reduzido acesso a transporte rápido para o material.

O objetivo do presente trabalho é definir uma metodologia segura para coleta e conservação de amostras de fezes, para avaliação da digestibilidade de amido em dietas de terminação de bovinos. Foram estudados o melhor horário e/ou intervalo entre coletas fecais (Experimento 1) e comparação de método de conservação de amostras de fezes (Experimento 2), para análise laboratorial química de amido fecal. Busca-se viabilizar a metodologia para ambiente de campo, permitindo avaliar a digestibilidade do amido nas dietas em confinamentos comerciais de forma confiável, possibilitando aos nutricionistas, maior eficiência nas formulações de dietas, aproveitamento de nutrientes pelos animais e ganhos econômicos.

As hipóteses para o experimento 1 são:

1 – Será definido que a realização de uma amostragem, apenas em um período do dia (manhã ou tarde) e um horário determinado, proporcionará confiança de coleta para avaliações laboratoriais de amido fecal, de bovinos de corte em confinamento;

2 – Será necessário a amostragem em dois períodos do dia (manhã e tarde), em horários determinados, para definição de confiança para coleta e avaliações laboratoriais de amido fecal, de bovinos de corte em confinamento;

3 – Não será encontrado um padrão de frequência e horário que proporcione a coleta de amostras com confiança, para avaliações laboratoriais de amido fecal, de bovinos de corte em confinamento.

As hipóteses para o experimento 2 são:

1 – Será encontrado um método alternativo, diferente do congelamento, para conservação de amostras fezes de bovinos de corte em confinamento, para a avaliação laboratorial de amido fecal;

2 – Serão encontrados mais de um método de conservação de amostras fezes de

bovinos de corte em confinamento, que funcione tão bem quanto o congelamento, porém, apresente fácil aplicação a campo;

3 – Não será definido um método alternativo, que substitua o congelamento para a conservação de amostras de fezes de bovinos de corte em confinamento, com intuito de realizar a avaliação laboratorial de amido fecal.

MATERIAL E MÉTODOS

LOCAL DE REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

As coletas de material foram realizadas em um confinamento comercial com capacidade para 12.000 cabeças estáticas, localizado na cidade de Frutal, estado de Minas Gerais. O período experimental foi entre os dias 20 de dezembro de 2021 a 25 de março de 2022. O período amostral aconteceu entre os dias 18 e 20 de fevereiro de 2022, com coleta de fezes e TMR sendo realizado no dia 19 de fevereiro de 2022.

SELEÇÃO DOS ANIMAIS PARA COLHEITA DE AMOSTRAS

Foram selecionadas cinco baias, de um total de 110 currais de confinamento. Na seleção das baias foi considerando a mesma linha de trato, a fim de que as baias experimentais recebessem a mesma batida de ração (TMR); ou seja, as baias selecionadas encontravam-se uma ao lado da outra, recebendo o mesmo tratamento. Selecionou-se baias com semelhança entre peso médio, tempo de alimentação, consumo (%PV) dos animais (Tabela 1).

As informações com relação ao tempo de confinamento, quantidade de animais, peso médio de entrada, peso médio estimado no dia de coleta de amostras e consumo estimado de matéria seca alimentar por animal, no dia da coleta, foram apresentados na Tabela 1, classificados respectivamente de acordo com o número das baias que continham os animais.

Tabela 1: Tempo de confinamento, quantidade de animais, peso de entrada dos animais e fornecimento de dieta/animal.

Baia	Tempo de alimentação (dias)	Quantidade de animais (cabeças)	Peso médio de entrada (kg)[1]	Peso médio estimado[2]	Consumo estimado da dieta (Kg MS /animal/dia)[3]
1	60	52	356,32	459,07	13,93
2	57	76	466,50	564,90	14,97
3	59	48	418,20	519,50	13,75
4	58	34	383,32	483,17	15,84
5	59	43	353,30	454,60	13,01

[1]: Peso médio (kg) do lote de animais no dia de entrada no curral de terminação..
[2]: Peso médio estimado pelo Software de gerenciamento do confinamento (kg) do lote de animais no dia da coleta de amostras..
[3]: Consumo estimado da dieta em matéria-seca (kg), embasano no fornecimento por cabaça do lote de confinamento.

A Tabela 1 apresenta como informação, o número da baia coletada, o tempo de confinamento dos animais, o número total de cabeças em cada baia, o peso médio dos animais na entrada do lote em confinamento, o peso médio estimado do lote de confinamento embasodo no Software de gerenciamento e o consumo médio estimado de matéria seca (MS) embasado no fornecimento em Kg por cabeça, usando por base a quantidade de Kg da TMR fornecida ao lote.

Cada baia foi considerada como uma unidade experimental (UE); ou seja, as fezes dos animais de cada baia foram coletadas e misturadas aleatoriamente, compondo assim, uma única amostra que representaria o grupo. As comparações entre cada unidade, formaram a base de contraposição de resultados. Os animais das cinco baias caracterizavam-se com genética similares (zebuínos), machos não castrados e idade entre 20 a 24 meses.

DIETA E ALIMENTAÇÃO DOS ANIMAIS

Foi seguida a rotina normal do confinamento no dia das coletas de amostras. Foram realizados quatro (4) fornecimentos da dieta (tratos), de mistura de ração total (TMR), sendo eles procedidos as 08:00; 10:00; 13:30; 16:00. A dieta apresentava como ingredientes: bagaço de cana, silagem de milho, farelo de polpa cítrica, melaço de soja, milho grão seco moído, torta de algodão, torta de dendê e Premix (Tabela 2).

Tabela 2: Ingredientes na composição da dieta (em MS, %) do confinamento no

período experimental.

Ingredientes	% MS da dieta total
Bagaço de cana *in natura*	4,58
Silagem de milho	15,52
Polpa cítrica peletizada	9,36
Melaço de soja	9,16
Milho em grão seco moído	32,60
Torta de algodão	15,91
Torta de dendê	9,26
Premix	3,62
Total	100

Composição do Premix: 27,39% Ca; 6,43% S; 0,39% Fe; 0,65% Cu; 1,86% Mg; 2,10% Zn; 0,04% Co; 0,04% I; 0,02% Se.

As amostragens de TMR ocorreram logo após a distribuição do alimento na linha de cocho dos animais. Neste espaçamento, foram coletadas 10 subamostras (porções de 200 g), que foram misturadas e formaram uma amostra composta, com peso aproximado de 2 Kg. O procedimento foi repetido logo após a distribuição da TMR, nos quatro tratos. As amostras foram congeladas a -20 °C, imediatamente após a coleta, para preservação das características nutricionais da TMR e neutralização da ação degradativa microbiológica, permanecendo em congelamento até chegada ao laboratório para análise, 20 dias após a amostragem.

As análises químicas das amostras de TMR foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal de Lavras (UFLA), situado em Lavras - MG. Ao chegarem no laboratório, as amostras foram descongeladas e secas em estufa de ventilação forçada de ar, a temperatura de 55 ± 5 ºC, por período de 72 horas. A moagem foi realizada em moinho de facas tipo Willey, com peneira de 1 mm.

A avaliação da concentração de amido das amostras de TMR foram realizadas através da metodologia apresentada por Hall (2009). As análises de Matéria Seca (MS), Matéria Mineral (MM) e Fibras em Detergente Neutro (FDN), foram realizadas através das metodologias apresentadas por Detmann et al. (2021). A análise de proteína bruta (PB) foi realizada conforme apresentada por Silva et al. (2005).

As amostras de TMR coletadas foram submetidas à análise de dimensões de partículas, sendo a determinação realizada através do uso do Penn State Particle Separator

(PSPS), seguindo a técnica especificada por Kononoff et al. (2003). O cálculo de fibras em detergente neutro fisicamente efetiva (FDNfe) foi obtido através da multiplicação da soma de proporção de partículas longas, médias e curtas (partículas > 4 mm) pela FDN da ração total, como descrito por Llonch et al. (2020).

Tabela 3: Composição bromatológica da dieta do confinamento no período experimental.

Trato	1	2	3	4	MÉDIA
Horário	08:00	10:00	13:30	16:00	
Nutriente					
MS (%)	76,31	77,46	80,76	78,72	78,31
Minerais (% MS)	7,05	6,89	5,77	7,66	6,84
FDN (% MS)	32,92	32,29	33,67	32,70	32,89
FDNfe (% MS)	16,02	15,72	16,39	15,92	16,01
Amido (% MS)	16,93	17,07	19,34	16,42	17,44
PB (% MS)	13,07	13,66	13,28	14,62	13,66

EXPERIMENTO 1 - ANÁLISE DO HORÁRIO DA COLHEITA

O EX. 1, objetivou avaliar a frequência e definição do (s) melhor (es) horário (s) de coleta de amostras, para análise de amido fecal. Foram realizadas coletas de amostras de fezes, em 10 bolos fecais, logo após a defecação espontânea dos animais, que foram reunidos, para formar uma amostra composta. As amostragens foram realizadas seis vezes ao dia, em cada uma das baias, seguindo os seguintes horários: 8:00; 9:30; 11:00; 13:30; 15:00 e 16:30. Todas as amostras foram coletadas simultaneamente, em cada uma das baias, levando no máximo 10 minutos para amostragem, sendo padronizado a forma de coleta para todos os envolvidos. Ao entrar na baia, para a realização das amostragens, naturalmente os animais movimentavam, gerando estímulo de defecação, permitindo sempre a coleta de fezes recém defecadas. Foram priorizadas coletas em regiões que não haviam sido contaminadas com material estranho (como terra e urina), buscando sempre a parte central do bolo fecal, sendo coletado apenas conteúdo de fezes para amostragem, evitando erros pré-analíticos de coleta. Em cada bolo fecal foi coletado um volume de 20 gramas, sendo todas as subamostras reunidas e misturadas em pote de plástico estéril, gerando uma amostra total, da baia, de 200 gramas, após o fim de cada ciclo de amostragem.

As amostras de fezes foram coletadas com auxílio de uma colher de sopa e depositadas em pote plástico transparente, onde foram misturadas, formando uma amostra representativa do grupo de animais da baia, em cada um dos momentos de coleta. Após a amostragem e mistura, foi realizado o acondicionamento das amostras em saco plástico transparente com fecho, tipo Ziplock, sendo o material então submetido à pesagem em balança digital, seguido com procedimento de identificação da baia, horário de coleta e peso total da amostra. Para a conservação das amostras, foi prosseguido com o congelamento imediato, a temperatura de -20 °C em freezer, visando a anulação de ação microbiológica, sobre o amido remanescente nas fezes.

EXPERIMENTO 2 – ANÁLISE DOS MEIOS DE PRESERVAÇÃO DAS AMOSTRAS

Na EX. 2, objetivou a comparação entre métodos de conservação, do material amostral de fezes para avaliação de amido fecal, por diferentes metodologias. Os 5 tratamentos foram: Tratamento 1 - secagem em estufa (SE); Tratamento 2 - resfriada em caixa de isopor isotérmica (RE); Tratamento 3 - congelada (CO); Tratamento 4 - secagem por convecção em aparelho tipo air fryer (AF); Tratamento 5 – álcool 70% (AL).

A realização das coletas de amostras foi realizada duas vezes ao dia, em períodos medianos da manhã e da tarde, ou seja, 10:00 e 15:30 horas, respectivamente, realizando sempre a coleta de amostras de fezes frescas, coletadas imediatamente após a defecação espontânea dos animais. A metodologia de amostragem seguiu o mesmo padrão do EX. 1. Após a coleta, as amostras compostas, formada a partir da mistura de 10 subamostras de 10 gramas, gerando uma amostra total de 100g, foi imediatamente identificada, sendo submetidas aos diferentes métodos de conservação (SE, RE, CO, AF e AL)).

No tratamento SE, as amostras foram encaminhadas para o laboratório do confinamento, iniciando o processamento imediatamente após a colheita. As amostras foram depositadas em bandejas de alumínio estéreis, sendo então colocada em estufa com ventilação forçada de ar, na temperatura de 55 ± 5 ºC, permanecendo na estufa por um período de 72 horas. A desidratação das amostras foi conferida com a pesagem dos materiais, em balança digital, nos tempos 60, 66 e 72 horas após início da secagem. A definição de amostra seca, foi alcançada quando as amostras apresentaram mesmo peso nos tempos 66 e 72 horas após início da desidratação; ou seja, as amostras foram retiradas após a estabilização de peso, que foi reduzido gradativamente pela perda de água do material. Com a desidratação ao ar, na estufa de ventilação forçada de ar, na temperatura de 55 ± 5 ºC, notou-se peso médio das amostras foi de 24 gramas, sendo perdido em

média 76 gramas de água pela desidratação. Após a desidratação, as amostras foram retiradas da estufa e individualmente acondicionadas em sacos plástico transparente com fecho, tipo Ziplock, com identificação da baia e horário de coleta.

No tratamento RE, após a período de amostragem, foi imediatamente realizado o envase das fezes em garradas plásticas estéreis com tampa de lacre, sendo o material submetido a resfriado em caixa de isopor isotérmica, com gelo reciclável, por 24 horas, sendo mantidas a temperatura de 4 °C. Após terminado o tempo de resfriamento, as amostras foram transferidas a para o congelamento, sendo colocadas em freezer, a temperatura de -20 °C. No tratamento CO, o acondicionamento das amostras foi realizado com colocação do material fecal em sacos plástico transparente com fecho, tipo Ziplock, mediamente após a sequência de amostragem. Foi seguido o processo de identificação, para então as amostras serem expostas ao congelamento em temperatura de freezer à -20 °C. As amostras dos tratamentos 2 e 3 permaneceram congeladas na temperatura de -20 °C até a chegado no laboratório da UFLA, 20 dias após o período amostral.

No tratamento AF, o material foi seco, através de aquecimento por convecção em ventilação forçada (equipamento conhecido como fritadeira elétrica sem óleo, tipo "Air Fryer"), em temperatura de 80 °C, sendo utilizado dois equipamentos. Para a realização da secagem, os equipamentos foram regulados para a temperatura de 80°C, iniciado um ciclo de 10 minutos, com pausa para pesagem do material, sendo em sequência, reiniciado outro ciclo de secagem. O procedimento de aquecimento por 10 minutos e pausa, foi repetido até total desidratação das amostras. A secagem das amostras foi realizada simultaneamente, expondo as cinco amostras de cada tempo de coleta juntas nos equipamentos. Foram necessários oito ciclos de aquecimento, sendo conferindo o peso das amostras a cada pausa entre ciclos, determinando a desidratação das amostras com a estabilização de peso entre duas pausas para pesagem; ou seja, estabilização do peso da amostra. Notou-se que após os após a desidratação, foi obtido um peso médio de 23 gramas das amostras.

Tratamento AL, ocorreu o armazenamento das fezes em garrafas plásticas descartáveis estéreis, com tampa de lacre, sendo depositado o conteúdo fecal imediatamente após a coleta das amostras. Foi pesado um volume de 50 gramas de álcool 70% e acrescentado junto as fezes no interior das garrafas plásticas. Foi então procedido a identificação da baia e horário de coleta nas garrafas, sendo sequencialmente realizada a mistura das fezes com o álcool através de movimento de sacudir para cima e para baixo, até total homogeneização. As amostras com álcool foram mantidas em temperatura

ambiente, em local fresco, seco e ao abrigo da luz solar, até chegada ao laboratório 20 dias após a amostragem.

PROCESSAMENTO LABORATORIAL PARA AS EXPERIMENTOS 1 E 2

Ao chegar no laboratório, todas as amostras da EX. 1 foram descongeladas em temperatura ambiente, ao abrigo de luz solar direta, sendo colocadas em bandejas de alumino estéreis e devidamente identificadas com o número da baia e horário de coleta. As amostras da E. 2, contidas nos tratamentos RE e CO também foram descongeladas em temperatura ambiente, passado pelo mesmo processo de deposição em bandejas de alumínio e identificação. Em sequência, os materiais amostrais da EX 1 e dos tratamentos RE, CO e AL (EX. 2), foram encaminhados para secagem em estufa de ventilação forçada de ar, 55 ± 5 ºC, por um período de 72 horas. Com todas as amostras de ambos Experimentos desidratadas e prontas para processamento, foi procedido a moagem de amostras em moinho de facas tipo Willey, com peneira de 1mm. A análise de concentração de amido fecal, ocorreu de acordo com a metodologia apresentada por Hall (2009).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados usando o software SAS version 9.4 (SAS Institute Inc. Cary, NC). A normalidade dos resíduos será verificada pelo teste Shapiro- Wilk usando o comando UNIVARIATE. Informações com resíduos estudentizados maiores que +3 ou menores que -3 foram considerados “outliers” e excluídos das análises. A homogeneidade das variâncias foi comparada pelo teste de Levene. Todas as variáveis contínuas foram analisadas pelo método “Restricted maximum likelihood” ANOVA.

Para a análise de variância, os dados de concentração de amido fecal observados, nos horários de 8:00; 9:30; 11:00; 13:30; 15:00 e 16:30 horas (análise do momento da colheita), e Tratamentos SE, RE, CO, AF e AL (análise dos meios de preservação das amostras), foram analisados como regressão polinomial simples utilizando o procedimento MIXED. Foi considerado o efeito fixo de tempo e o efeito aleatório de curral (EX. 1). Foi considerado o efeito fixo de métodos de conservação e o efeito aleatório de curral (EXP 2). As médias (EXP. 1 e 2) foram comparadas pelo teste Dunnett ajustado, considerando o valor de concentração de amido fecal médio de todos os tempos (EXP. 1) e o método de conservação da estuda como referência (EXP. 2).

Adicionalmente, o erro padrão e o erro padrão relativo a respectiva média obtidas para a concentração de amido fecal em cada coleta no tempo (EXP. 1) e em cada método de conservação (experimento 2), foram utilizadas como índice de precisão, para identificar o quanto a concentração de amido fecal variou ao longo de cada coleta, sendo realizada a estatística descritiva dos dados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

EXPERIMENTO 1

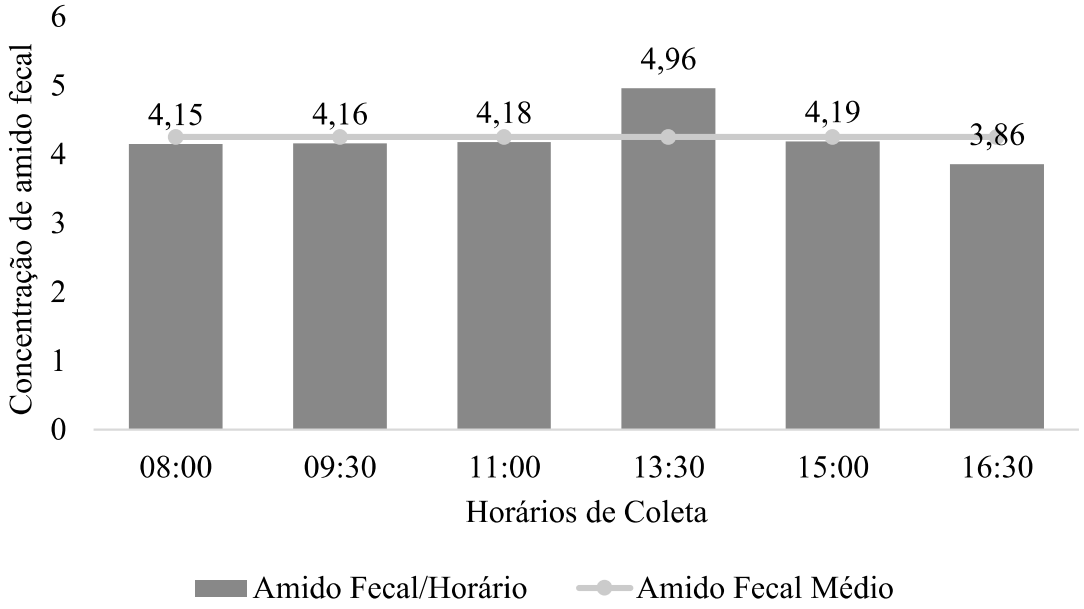

Figura 1: Concentração de amido fecal (%MS) nos diferentes horários de coleta em confinamento comercial de engorda de bovinos (EXP. 1).
P-valor = 0,6077, em que os diferentes tempos foram ajustados a média geral pelo teste de Dunnet ($p<0,05$); Erro padrão da média (EPM) = 0,004.

Não houve efeito do horário de amostragem (p=0,6077; Figura 1), mostrando que os diferentes momentos de coleta não diferiram da média geral (4,25%). Todos os horários de coleta foram estatisticamente confiáveis para amostragem, com o intuito de realizar análises de amido remanescentes nas fezes. Diante desses resultados, define-se que a coleta de amostras em apenas um horário proporcionou confiança de amostragem para avaliações laboratoriais de amido fecal, de bovinos de corte em confinamento.

A afirmação apresentada a partir dos dados do presente trabalho, de que não ocorre influência do momento de amostragem sobre a concentração de amido fecal corroboram

Figura 2: Digestibilidade do amido (%) e teor de amido fecal nas fezes nos diferentes horários de amostragem em confinamento comercial de engorda de bovinos (experiemento 1).

com os resultados encontrados por Fredin et al. (2014) e Jancewicz et al. (2016). Fredin et al. (2014) relatam pouco influência de horário sobre a concentração de amido fecal, sendo que a proporção de amido nas fezes em relação ao horário de coleta das amostras tem baixa relevância para o resultado final de análise. Em seus estudos, Jancewicz et al. (2016) também afirmaram não ocorrer variação na eliminação de amido em tempos variados de coleta de amostras fecais, propondo que a amostragem em qualquer ponto do tempo apresenta potencial de prever a digestibilidade.

Esse fato pode ser confirmado pela análise de digestibilidade de amido, baseado através da fórmula: $DA = 99,9 - 0,413 \times AF - 0,013 \times AF^2$, apresentada por Zinn et al. (2007), foram expostos de Figura 2.

A Figura 2 apresenta os valores de digestibilidade de amido fecal, nos diferentes horários do dia e nas 5 baias experimentais realizando a conversão através de formula matemática apresentada por Zinn et al. (2007), utilizando como base de cálculo a concentração de amido remanescente nas fezes. Foi notado que a digestibilidade de amido nos seis tempos de coleta, apresentaram homogeneidade de resultados, sendo que a digestão do amido em todas as amostras encontrou-se entre 96,8 e 98,8 %.

Acredita-se que para obter eficiência na utilização de amido, geralmente a variação de digestibilidade deste elemento fique em torno de 90 a 100% (HUNTINGTON et al., 2006). Nos trabalhos desenvolvidos por Jacovaci et al. (2021), Fornazari Neto et al. (2021) e Corona et al. (2005) observaram valores médios da digestibilidade total do amido, que variaram de 95% a 98%. Assim, verifica-se que os resultados de digestibilidade obtidos no presente trabalho, que apresentou valor médio de 97,99%, está de acordo com a literatura.

Segundo Corona et al. (2005), deve ser considerado que muitos fatores intrínsecos podem influenciar a capacidade de digestão de amido pelos animais, sendo destacado principalmente o processamento da fonte fornecedora de amido. O alto aproveitamento do carboidrato abordado nesta pesquisa pode ser justificado pela eficiência no processamento dos principais ingredientes fonte de amido, sendo representado pelo milho em grão seco moído e pela silagem de milho.

Erickson et al. (2020) afirma que a exposição do endosperma dos grãos cereais permite uma maior ação de microrganismos degradadores de amido, sendo que o processamento desses produtos favorecerá uma maior atividade microbiológica e enzimática sobre os carboidratos, proporcionado seu maior aproveitamento. A partir dos resultados e referências, pode-se afirmar que a condição de processamento e fonte de

amido gera uma influência direta sobre a capacidade de aproveitamento e excreção de amido fecal.

Não ocorrendo diferença (p=0,6077) entre os horários de coleta, foi avaliado a dispersão dos valores entre as repetições em de cada horário. O objetivo foi avaliar a existência de períodos que possam trazer maior segurança de coleta de amostras fecais, a partir de analise descritiva dos dados. Na Figura 3, estão apresentados a dispersão dos resultados, considerando as repetições em cada horário.

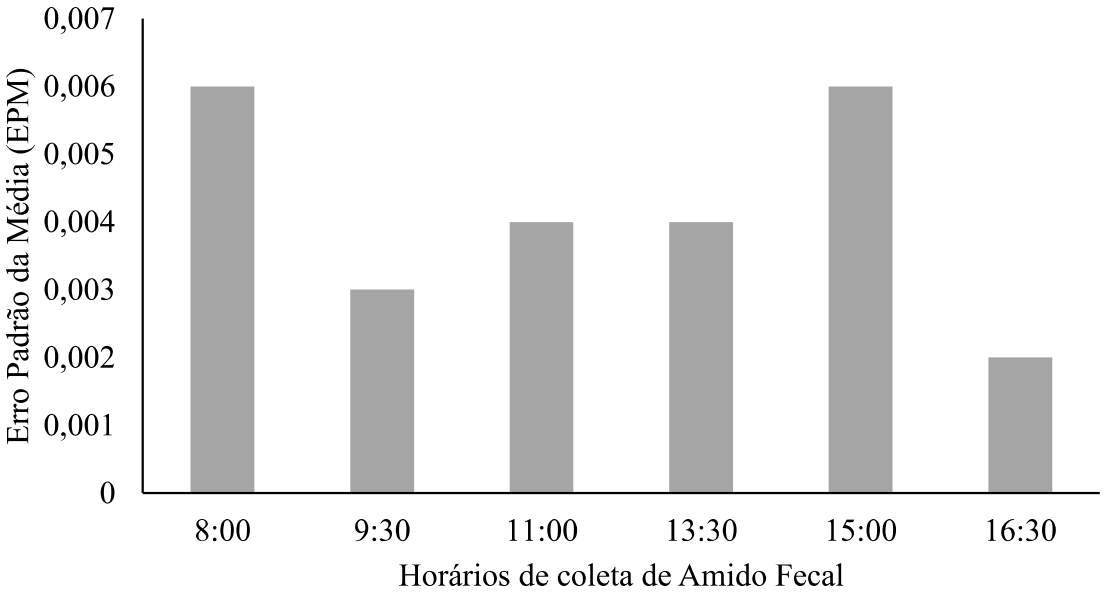

Figura 3: Erro padrão da média de amido fecal (%MS), nos diferentes horários de coleta, em confinamento comercial de engorda de bovinos (experiemento 1).

Os melhores resultados, ou seja, os horários com menores dispersão da análise de amido fecal, observados por valores inferiores tanto do erro padrão da média, são os horários 09:30 e 16:30 hs. Assim, recomenda-se que, na oportunidade de escolha de horário, para amostragem de amido fecal, seja realizado a coleta às 09:30 ou às 16:30 horas (levando em consideração, que o primeiro trato foi fornecido por volta das 07:30, ou seja, coleta aproximadamente 2 horas após distribuição da primeira refeição), fato este que poderia tornar a amostragem menos susceptível a oscilações. O fato de recomendar coletas nos dois horários sugeridos, pode ser justificado, pelo comportamento de consumo de bovinos de corte em confinamento. Em seus estudos, Jancewicz et al. (2016) notaram padrão de excreção fecal variável ao longo de um dia (24 horas), inferindo que este fato é um reflexo do consumo alimentar, levando a variações de defecação.

A rotina de bovinos em confinamento não apresenta uma frequência de atividades homogênea, sendo que a realização de funções como comer, ruminar, dormir, deitar, caminhar, serão diretamente influenciadas pelo ambiente. Fatores como horário de manejo e distribuição do alimento, podem impactar sobre a atividade de consumo e ingestão dos animais, sendo também importante considerar efeitos ambientais como dominância do lote, temperatura e umidades (SCHAKE et al., 1969; BEAUCHEMIN et al., 1989; BATISTA et al., 2022).

EXPERIMENTO 2

Foram procedidas coletas as 10:00 e 15:00, realizando a análise de amido fecal das amostras de forma individual, contudo para a avaliação de efeito e eficiência dos métodos de conservação, foi procedido o cálculo de concentração de amido fecal nos dois horários.

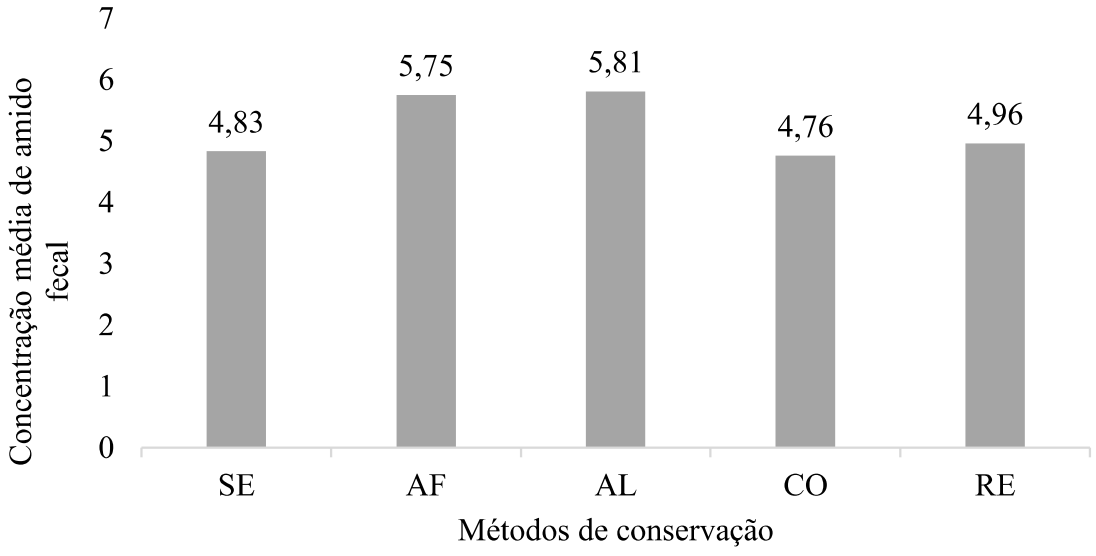

Figura 4: Concentração de amido fecal (%MS) nos diferentes métodos de conservação, em dois horários (10:00 e 15:00 horas), em confinamento comercial de engorda de bovinos (experiemento 2).

P-valor refere-se ao Teste F. Os diferentes métodos de conservação foram testados em relação ao método da estufa pelo teste de Dunnet ($p<0,05$), no qual as letras minúsculas diferentes na linha apresentam diferença entre os métodos de conservação em relação ao tratamento estufa. Em adição, não foi verificado interação entre horário e método de conservação ($p>0,05$).

Houve efeito entre os tratamentos na concentração de amido nas fezes ($p<0,05$). Os tratamentos ES, do CO e do RE não diferiram entre si ($p>0,05$), sendo que apresentaram valores inferiores aos tratamentos AF e AL, os quais foram semelhantes na concentração de amido fecal ($p>0,05$).

Foi notado que as concentrações de amido nas amostras submetidas ao método SE, sendo este método visto como referência neste estudo, não foi observado diferença ($p>0,05$) entre os resultados obtidos nos métodos de conservação RE e CO. Em contrapartida, os dois métodos alternativos, compreendidos pela desidratação de amostras pelo Tratamento AF e neutralização microbiológica com AL apresentaram concentrações mais altas de amido fecal ($p<0,05$), indicando eficiência dos métodos alternativos para conservação de amostras de amido fecal.

Acredita-se que o processo de congelamento possa não ter a completa anulação de atividade metabólica dos microrganismos digestores de amido, causando morte de poucos agentes amilolíticos. Sugere-se que processo de degradação do amido através de meios enzimáticos microbiológicos, possam ter reiniciado sobre as amostras no período de descongelamento e secagem na estufa de ventilação forçada de ar a 55±5 °C.

Choo et al. (2015), pesquisando sobre o sequenciamento da microbiota fecal humana, envolvendo formas de conservação do material fecal, relata que o resfriamento de amostras a 4° C por até 72 horas e o congelamento de amostras fecais não geram variação de composição e concentração microbiológicas amostrais.

Hristov et al. (2002) sugerem que o congelamento gera efeitos mais específicos sobre microrganismos degradadores de carboidratos fibrosos, permitindo a bactérias amilolíticas mais atividade após congelamento, quando comparado a microrganismo presentes em digestas frescas de bovinos. Metzler-Zebeli et al. (2016), estudando fezes suínas, afirmaram que o congelamento pode gerar efeitos de redução na quantidade populacional microbiológica, sendo encontradas menores proporções de microrganismos em fezes congeladas, que em fezes frescas.

Daniels et al. (1993), pesquisando sobre o efeito de congelamento sobre a taxa de concentração de *Salmonella typhimurium*, notou alteração na concentração do microrganismo após descongelamento. De acordo com os autores, após 24 horas, foi notada uma queda significativa em número de salmonelas viáveis, apesar disso, o congelamento não se torna eficiente na destruição de todos os microrganismos presentes na amostra.

O'Donnell et al. (2021), buscando observar o efeito do congelamento sobre as fezes equinas, priorizando a análise de viabilidade de inóculos microbianos utilizado para ensaios de digestibilidade equina *in vitro*, notaram redução numérica de inóculo microbiano fecais, indicando baixa eficiência para ensaios de digestibilidade através de fezes congeladas, quando comparados a fezes frescas.

Em seu trabalho com análise de inóculos ruminais coletados em bovino abatidos, Spanghero et al. (2019), notaram alteração na concentração microbiológica de conteúdo ruminal após congelamento, sugerindo que a estratégia pode interferir na preservação de alguns microrganismos mais específicos, podendo não ter efeito sobre outros. A partir dos argumentos dos autores é sugerido que são necessárias pesquisas direcionadas para a avalição do efeito de criopreservação sobre espécies especificas de microrganismos ruminais e fecais de bovinos.

Denek et al. (2010), trabalhando com amostras de fluido ruminal para obtenção de inóculos microbiológicos para determinação da digestibilidade *in vitro*, notou alteração na microflora amostral após congelamento. Chaudhry et al. (2012) relata menor capacidade de degradação de Matéria Seca e Proteína Bruta em inóculos ruminais de amostras congeladas, quando comparado a inóculos frescos, sugerindo que após o descongelamento ocorreu redução na capacidade de degradação alimentar dos microrganismos ruminais.

Acredita-se que o armazenamento a –20°C leva a redução numéricas de alguns microrganismos associado a destruição dos mesmos ou perda de recuperação e consequente metabolismo da flora de conteúdo ruminal, contudo em microrganismo amilolíticos, não se aplica essa teoria. Hristov et al. (2002) sugerem que animais que recebem dietas com altas concentrações de grãos apresentam maior atividades proteolíticas no líquido ruminal, associado a desenvolvimento populacional de populações microbianas digestoras de amido e proteína. Em suas pesquisas, apresentaram como resultados que o congelamento foi favorável a uma maior atividade proteolítica e amilolítica líquido ruminal em comparação com amostras não congeladas.

Não foi encontrado neste trabalho, diferença ($p>0,05$) entre os resultados obtidos através de amostras congeladas ou resfriados, acreditando-se que ambas metodologias foram capazes de reduzir o metabolismo microbiológico, gerando uma redução de degradação de amido.

Considerado como referência nos estudos de nutrição, a desidratação das fezes por ar forçado a 55±5°C durante 72 horas (tratamento SE), mostrou que os métodos AF

e AL apresentaram eficiência compatível para interrupção do processo de hidrolise do amido nas fezes. Este fato pode ser justificado pelo fato de os tratamentos AF e AL serem rápidos na ação de paralização do processo enzimático microbiológico.

Acredita-se que o álcool 70% adicionado as amostras de fezes de bovinos promova ao rompimento da parede celular bacteriana, causando anulação de ação de microrganismos amilolíticos, possibilitando a preservação do amido remanescente nas fezes, mesmo fora de ambiente resfriado ou congelado. Cury et al. (2013), citam que o Álcool 70% atua na eliminação de microrganismos, realizando morte celular pela destruição da parece celular bacteriana, possibilitando a preservação do material biológico.

Não são encontrados documentos científicos embasados na conservação de amostras para análise de amido fecal em qualquer espécie animal. Embasado nesse fato, estão citadas referencias correlacionadas ao uso de álcool para a anulação de multiplicação microbiológica em espécies animais diferentes dos ruminantes.

Hale et al. (2015) desenvolvendo estudos com base na preservação de amostras fecais de macacos-aranha em cativeiro para sequenciamento do DNA, utilizaram como métodos comparações entre amostras congeladas e preservadas em álcool 100%, observou que a composição microbiana de amostras congeladas e preservadas em álcool foram semelhantes a amostras frescas. Também foi definido pelos autores que em casos de impossibilidade de congelamento de amostras logo após coleta, a adição de álcool nas amostras fecais pode gerar a preservação dos produtos biológicos para análise microbiana.

Horng et al. (2018), também trabalhando com a métodos de preservação de DNA de microrganismos presentes em fezes de cães, obtiveram bons resultados com comparação entre o uso de amostras frescas e preservadas em álcool 70%. Foi notado pelos autores que o congelamento de amostras pode ser considerado uma estratégia viável para análise bacteriana. Mas foi definido que as amostras em que foi adicionado o álcool 70% apresentaram os melhores resultados que o congelamento a -80 °C, resfriamento a 4° C e preservadas a 25°C, para preservar o DNA bacteriano. O álcool 70% proporcionou máxima concentração de DNA e reduzidas alterações na diversidade e composição bacteriana, em comparação aos demais métodos de conservação. Também foi destacado que os resultados obtidos mostram a necessidade de considerar o método de adição de álcool 70% para otimização de pesquisas microbiológicas.

Por sua vez o método de conservação através da desidratação de amostras através de aquecimento por convecção em equipamento tipo Air Fryer, gera uma preservação eficiente de amostras por levar ao rompimento da membrana celular e exposição de conteúdo intracelular de microrganismos digestores de amido. Por não ter sido encontras pesquisas envolvendo a desidratação de amostras fecais através de secagem com aquecimento por convecção em equipamento tipo Air Fryer, foram citadas literaturas que envolvem a preservação de produtos biológicos através da dessecação ou desidratação.

Tan et al. (2017), trabalhando com estratégias alternativas para a dessecação de microrganismos que permitam a conservação dos mesmos, tomando por base o processo de liofilização, utilizou a secagem do material microbiológico através de processo de convecção pelo ar. Foi concluído pelos autores que a técnica pode ser viável, contudo, depende da adição de agentes protetores de desidratação e uso de temperaturas de secagem abaixo de 30°C. Este fato pode justificar a eficiência do método de preservação do amido fecal nas amostras do presente estudo, já que não foram utilizados agentes protetores de desidratação e a temperatura de exposição do material fecal foi a 80°C.

Para García (2011), a preservação de microrganismos através de dessecação pode ocorrer, desde que realizada de forma lenta e em baixas temperaturas evitando a morte bacteriana. Contudo, quando microrganismos são levados a ciclos de rápido aquecimento, gerando intensa desidratação celular, desencadeando a destruição da membrana fosfolipídica e alteração de proteínas de membrana, causando perda de viabilidade celular.

Em contrapartida, Chitrakar et al. (2019), trabalhando com análises de alimentos, afirma que a desidratação não é suficiente para a destruição de todos os microrganismos, podendo ocorrer preservação, mesmo com baixa atividade microbiológica, de patógenos alimentares. Parker et al. (2017), expõem que a falta de água impede o metabolismo microbiano, e sendo realizada forma eficiente, são mantidas características orgânicas de materiais biológicos, neutralizando bactérias, fungos e protozoários.

A partir dos resultados obtidos na presente pesquisa, sugere-se que outros métodos de preservação de fezes para análise de amido fecal sejam testados. Verma et al. (2020), citam que a uma das principais dificuldades em preservação de alimentos está associada a perda de qualidade do produto alimentícios, sendo considerado que o congelamento convencional, seguido de descongelamento, levam a uma reativação de microrganismos digestores nos alimentos. Em contrapartida, foi notado nas pesquisas desses autores que o uso de equipamentos micro-ondas que levam à secagem rápida e de baixo custo de

amostras de alimento, produzindo a neutralização de microrganismos nos materiais biológicos.

CONCLUSÃO

Conclui-se, a partir do presente estudo, que:

EX. 1: a amostragem de fezes pode ser realizada em qualquer horário do dia, trazendo resultados confiáveis para análise de amido fecal – aceita-se a hipótese 3;

EX. 2: estratégias de conservação de amostras, para análise de amido fecal, que levam a neutralização de microrganismos, através do uso de Álcool 70% e desidratação rápida com Air Fryer, são metodologias eficientes na preservação do material biológico, tornando o transporte amostral mais seguro e sendo mais efetivo que o congelamento, para conservação de características orgânicas das fezes – aceita-se a hipótese 2.

Comercialmente, como em ambiente de campo nem sempre se torna aplicável o uso de estufa, por gerar períodos de secagem longos e nem sempre ser de fácil aquisição e transporte, ou mesmo ser de difícil aplicação de estratégias de conservação envolvendo o resfriamento e congelamento, os métodos de desidratação de fezes na Air Fryer ou adição de Álcool 70% nas amostras podem ser indicados para preservação de amido em amostras de fezes destinadas a análise de amido fecal.

REFERÊNCIAS

BATISTA, L. H. C., CIDRINI, I. A., PRADOS, L. F., CRUZ, A. A. C., TORRECILHAS, J. A., SIQUEIRA, G. R., RESENDE, F. D. **A meta-analysis of yeast products for beef cattle under stress conditions**: Performance, health and physiological parameters. Animal Feed Science and Technology, v. 283, 2022.

BEAUCHEMIN, K. A., ZELIN, S., GENNER, D., BUCHANAN-SMITH, J. G. **An automatic system for quantification of eating and ruminating activities of dairy cattle housed in stalls**. Journal of Dairy Science, v. 72, n° 10, p. 2746-2759, 1989.

CHAUDHRY, A. S., MOHAMED, R. A. I. **Fresh or frozen rumen contents from slaughtered cattle to estimate in vitro degradation of two contrasting feeds**. Czech Journal of Animal Science, v. 57, n° 6, p. 265–273, 2012.

CHITRAKAR, B., ZHANG, M., ADHIKARI, B. **Dehydrated foods: Are they microbiologically safe?**. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 59, n° 17, p. 2734-2745, 2019.

CHOO, J. M., LEONG, L. E., ROGERS, G. B. **Sample storage conditions significantly influence faecal microbiome profiles**. Scientific Reports, v. 5, n° 16350, 2015.

CORONA, L., RODRIGUEZ, S., WARE, R.A., ZINN, R. A**. Comparative effects of whole, ground, dry-rolled, and steam-flaked corn on digestion and growth**

performance in feedlot cattle. The Professional Animal Scientist, v. 21, n° 3, p. 200-206, 2005.

CUNHA, G. S. P., MAIA, M. A., FERNANDES, L. M. G., GERASEEV, L. C., CHAVES, A. S. **Physically effective fiber changes nutrient levels of total mixed ration and fecal parameters in beef feedlots**. Ciência Rural, v. 51, n° 5, 2021.

CURY, F. S., CENSONI, J. B., AMBRÓSIO, C. E. **Técnicas anatômicas no ensino da prática de anatomia animal**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 33, n° 5, p. 688-696, 2013.

DANIELS, E. K., WOOLLEN, N. E., FRYDA-BRADLEY, S. J., KEEN, J. **Salmonella viability in frozen bovine feces**. The Bovine Practitioner, n. 27, p. 166-167, 1993.

DENEK, N., CAN, A., AVCI1, M. **Frozen rumen fluid as microbial inoculum in the two-stage *in vitro* digestibility assay of ruminant feeds**. South African Journal of Animal Science, v. 40, n° 3, 2010.

DETMANN, E., COSTA e SILVA, L. F., ROCHA, G. C., PALMA, M. N. N., RODRIGUES, J. P. P. **Métodos para análise de alimentos –** INCT ciência animal. 2 ª Edição, Visconde do Rio Branco, Suprema, 350 p., 2021.

ERICKSON, P. S., KALSCHEUR, K. F. **Nutrition and feeding of dairy cattle**. In: Animal Agriculture. Academic Press, p. 157-180, 2020.

EVANGELISTA, C., BASIRICÒ, L., BERNABUCCI, U. **An Overview on the Use of Near Infrared Spectroscopy (NIRS) on Farms for the Management of Dairy Cows**. Agriculture, v. 11, nº 296, 2021.

FORNAZARI NETO, A., MARTINS, C. E. N., SCHWEGLER, E., BARCELLOS, J. O. J., BARTH, A. L. **Blood metabolites and fecal starch as indicators of feed efficiency of beef cattle in the feedlot**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 73, n° 6, p. 1260-1268, 2021.

FREDIN, S. M., FERRARETTO, L. F., AKINS, M. S., HOFFMAN, P. C., SHAVER, R. D. **Fecal starch as an indicator of total-tract starch digestibility by lactating dairy cows**. Journal of Dairy Science, v. 97, n° 3, p.1862-1871, 2014.

GARCÍA, A. H. **Anhydrobiosis in bacteria: from physiology to applications**. Journal of Biosciences, v. 36, n° 5, p. 939–950, 2011.

HALE, V. L., TAN, C. L., KNIGHT, R., AMATO, K. R. **Effect of preservation method on spider monkey (Ateles geoffroyi) fecal microbiota over 8weeks**. Journal of Microbiological Methods, v. 113, p. 16-26, 2015.

HALL, M. B. **Determination of starch, including maltooligosaccharides, in animal feeds**: comparison of methods and a method recommended for AOAC collaborative study. Journal of AOAC International, v. 92, n° 1, p. 42–49, 2009.

HORNG, K. R., GANZ, H. H., EISEN, J. A., MARKS, S. L. **Efeitos do método de preservação da microbiota fecal canina (Canis lupus familiaris)**. Peer J, 2018. 6: e4827.

HRISTOV, A. N.,MCALLISTER, T. A., XU, Z., NEWBOLD, C. J. **Proteolytic activity in ruminal fluid from cattle fed two levels of barley grain: A comparison of three methods of determination**. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 82 n° 15, p. 1886 – 1893, 2002.

HUNTINGTON, G. B., HARMON, D. L., RICHARDS, C. J. **Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle**. Journal of animal science, 84 (E. Suppl.): E14–E24, 2006.

JACOVACI, F. A., SALVO, P. A. R., JOBIM, C. C., DANIEL, J. L. P. **Effect of ensiling on the feeding value of flint corn grain for feedlot beef cattle**: A meta-analysis. Revista Brasileira de Zootecnia, 50:e20200111, 2021.

JANCEWICZ, L. J., PENNER, G. B., SWIFT, M. L., MCKINNON, J. J., WALDNER, C. L., MCALLISTER, T. A. **Characterization of the variation in the daily excretion of faecal constituents and digestibility predictions in beef cattle fed feedlot diets using near-infrared spectroscopy**. Canadian Journal of Animal Science, v. 96, n° 4, p. 532-549, 2016.

JANCEWICZ, L. J., PENNER, G. B., SWIFT, M. L., WALDNER, C. L., GIBB, D. J., MCALLISTER, T. A. **Predictability of growth performance in feedlot cattle using fecal near-infrared spectroscopy**. Canadian Journal of Animal Science, v. 97, nº 4, 2017.

KLJAK, K., HEINRICHS, B. S., HEINRICHS, A. J. **Fecal particle dry matter and fiber distribution of heifers fed ad libitum and restricted with low and high forage quality**. Journal of Dairy Science, v. 102, n° 5, p. 4694-4703, 2019.

KONONOFF, P. J.; HEINRICHS, A. J.; BUCKMASTER, D. R. **Modification of the Penn State forage and total mixed ration particle separator and the effects of moisture content on its measurements**. Journal of Dairy Science, v. 86, p. 1858-1863, 2003.

LLONCH, L., CASTILLEJOS, L., FERRET, A. **Increasing the content of physically effective fiber in high-concentrate diets fed to beef heifers affects intake, sorting behavior, time spent ruminating, and rumen pH**. Journal of Animal Science, v. 98, n° 6, 2020.

METZLER-ZEBELI, B. U., LAWLOR, P. G., MAGOWAN, E., ZEBELI, Q. **Effect of freezing conditions on fecal bacterial composition in pigs**. Animals (Basel), v. 6, n° 3, p. 18, 2016.

O'DONNELL, D., SUKOVATY, L., WEBB, G. **Impact of Storage Conditions on Equine Fecal Inoculum for Estimating In Vitro Digestibility**. Animals, v. 11, n° 11, 2021.

PARKER, N., SCHNEEGURT, M., THI TU, A. H., FORSTER, B. M., LISTER, P. **Microbiology** - Chapter 13- Control of Microbial Growth. Editora OpenStax, Rice Universit, College Physics, 1301 p., 2017.

SCHAKE, L. M., RIGGS, J. K. **Activities of lactating beef cows in confinement**. Journal of Animal Science, v. 28, n° 4, p. 568–572, 1969.

SILVA, D. J., QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos**. Métodos químicos e biológicos. 2ª edição, Editora UFV, Viçosa, 235 p., 2005.

SPANGHERO, M., CHIARAVALLI, M., COLOMBINI, S., FABRO, C., FROLDI, F., MASON, F., MOSCHINI, M., SARNATARO, C., SCHIAVON, S., TAGLIAPIETRA, F. **Rumen Inoculum Collected from Cows at Slaughter or from a Continuous Fermenter and Preserved in Warm, Refrigerated, Chilled or Freeze-Dried Environments for In Vitro Tests**. Animals, v. 9, n° 10:815, 2019.

TAN, D. T., POH, P. E., CHIN, S. K. **Microorganism preservation by convective air drying – A review**. Drying Technology, v. 36, n° 1, 2017.

VERMA, D. K., MAHANTI, N. K., THAKUR, M., CHAKRABORTY, S. K., SRIVASTAV, P. P. **Microwave heating: Alternative thermal process technology for food application**. In Emerging Thermal and Nonthermal Technologies in Food Processing. Apple Academic Press. pp. 25-67, 2020.

ZINN, R. A., BARRERAS, A., CORONA, L., OWENS, F. N., WARE, R. A. **Starch digestion by feedlot cattle: Predictions from analysis of feed and fecal starch and nitrogen**. Journal of animal science, v. 85, n° 7, p. 1727-1730, 2007.