



**VIVIANE APARECIDA AMIN REIS**

**QUALITATIVE CHARACTERISTICS OF BEEF AND  
EXPRESSION OF LIPOGENIC GENES FROM YOUNG  
BULLS FED DRIED DISTILLERS GRAIN**

**LAVRAS - MG  
2018**

**VIVIANE APARECIDA AMIN REIS**

**QUALITATIVE CHARACTERISTICS OF BEEF AND EXPRESSION OF  
LIPOGENIC GENES FROM YOUNG BULLS FED DRIED DISTILLERS GRAIN**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Ruminantes, para obtenção do título de “Doutor”.

Dr. Márcio Machado Ladeira  
Orientador  
Daniel Rume Casagrande  
Coorientador

**LAVRAS – MG  
2018**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Reis, Viviane Aparecida Amin.

Qualitative characteristics of beef and expression of lipogenic  
genes from young bulls fed dried distillers grain / Viviane  
Aparecida Amin Reis. - 2018.

66 p. : il.

Orientador: Márcio Machado Ladeira.

Coorientador Daniel Rume Casagrande.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Ácidos graxos. 2. Cor. 3. Maciez. I. Ladeira, Márcio  
Machado. II. Casagrande, Daniel Rume. III. Título.

**VIVIANE APARECIDA AMIN REIS**

**QUALITATIVE CHARACTERISTICS OF BEEF AND EXPRESSION OF  
LIPOGENIC GENES FROM YOUNG BULLS FED DRIED DISTILLERS GRAIN**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Ruminantes, para obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 09 de março de 2018

Dr. Daniel Rume Casagrande	UFLA/DZO
Dr. Eduardo Mendes Ramos	UFLA/ DCA
Dra. Josiane Fonseca Lage	Trouw Nutrition
Dra. Marina de Arruda Camargo Danés	UFLA/ DZO

Dr. Márcio Machado Ladeira  
Orientador  
Daniel Rume Casagrande  
Coorientador

**LAVRAS – MG  
2018**

A minha mãe Sandra e meu pai Ricardo por tudo que fizeram e fazem por mim, por acreditarem em mim nos momentos que nem eu mesma acreditava!

Amo vocês!

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus por permitir essa vida tão maravilhosa e cheia de oportunidades.

Aos meus pais Ricardo e Sandra por me concederem a vida e serem meu porto seguro e aos meus irmãos Tatiane e Victor por todo amor e incentivo. Amo vocês.

Ao Matheus (Amor) por todo carinho, cumplicidade, dedicação e principalmente por todo amor a mim dedicado.

Ao meu orientador, professor Marcio Machado Ladeira e ao meu coorientador, professor Daniel Rume Casagrande, por acreditarem em mim e me aceitarem com orientada.

Aos membros da banca Josiane Fonseca Lage, Eduardo Mendes Ramos e Mariana Danés pelas sugestões para aprimoramento deste trabalho.

Aos amigos de longa data que a UFLA me proporcionou nesses doze anos aqui vividos.

À minha querida amiga Priscilla Dutra Teixeira por toda paciência amizade e apoio em todos os momentos dessa trajetória. YOU'RE MY PERSON!

À amiga Elisa Barbosa pela amizade verdadeira e companheirismo.

Ao NEPEC por ter me acolhido com tanto companheirismo, apoio e amizade, em especial à ex membro Cris Viol por todo carinho.

Aos alunos da pós-graduação da UNESP-Jaboticabal, Zé, Vavá, Lutti, Diego e Tiago por toda a ajuda!

A todos os colegas do curso de pós-graduação, pelo excelente convívio.

Às companheiras de República por todos os momentos de alegria e incentivo.

Ao laboratório de Ciência Animal do Departamento de Zootecnia, em nome de Márcio, Eliane e Flávio, pelo apoio, dedicação e amizade adquirida desde a graduação.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso e por minha formação profissional.

Ao Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia, por serem prestativos sempre que necessário.

**MUITO OBRIGADA!**

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi analisar o perfil de ácidos graxos, qualidade da carne e a expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico no músculo de tourinhos alimentados com dietas com ou sem inclusão de grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS). Foram utilizados quarenta tourinhos Nelore em um delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos: com DDGS (21% MS) ou sem a inclusão. Oito touros Nelore canulados no rúmen recebendo a mesma dieta, em “design experimental cross-over” foram utilizados para análise do perfil de ácidos graxos que escapam do rúmen. Ao analisar o músculo *longissimus thoracis* de animais alimentados com DDGS observou-se uma interação entre tempo e dieta no componente L\*, bem como, maior força de cisalhamento e aumento da perda de peso por cozimento. Os tourinhos alimentados com DDGS apresentaram maior concentração do conteúdo de ácidos poli-insaturados e ômega 6 no omaso e o músculo desses animais apresentou maior concentração ácidos insaturados, poli-insaturados e atividade da elongase, além de reduzir a expressão do gene LPL. O DDGS pode ser fornecido como um suplemento proteico mantendo a qualidade da carne quando comparado com tourinhos alimentados com farelo de algodão como suplemento proteico.

**Palavras- chave:** Ácidos graxos. Cor. DDGS. Maciez.

## ABSTRACT

The objective of the present study was to analyze tenderness, fatty acid profile, colour and expression of genes involved in lipid metabolism in the muscle of young bulls fed diets with or without the inclusion of dry distillers grain with solubles (DDGS). Forty Nellore young bulls were used in a completely randomized design, with two treatments: without or with the inclusion of DDGS (21% DM). Eight rumen-fistulated Nellore bulls received the same diets and were assigned to a cross-over design in order to collect samples from the omasum to analyze fatty acid profile escaping rumen-reticulum. Longissimus thoracis (LT) from animals fed DDGS had an interaction between time and diet for component L\* and a higher SF. Bulls fed DDGS had higher concentration of polyunsaturated and omega 6 fatty acids in the omasum. Muscle of animals fed DDGS had higher concentration of unsaturated, and there was a tendency to have lesser expression of LPL gene. These data show that DDGS can be fed as a protein supplement while maintaining meat quality when compared with steers fed cottonseed meal as a protein supplement.

**Key- words:** Fatty acids. Meat colour. DDGS. Tenderness.



## LISTA DE FIGURAS

- Figure 1** A- Lightness index (L\*), B- redness (a\*) and C- yellowness (b\*) of meat from young bulls fed dried distillers grain with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control) on different aging times. .... 64
- Figure 2** A- Shear force (SF) and B- Cooking loss (CL) of meat from young bulls fed dried distillers grain with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control) on different aging times. .... 64
- Figure 3** Lipid oxidation of meat from young bulls fed dried distillers grain with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control) on different aging times. .... 65
- Figure 4** Gene expression of the muscle of young bulls fed dried distillers grains with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control). .... 65

## LISTA DE TABELAS

<b>Table 1</b>	Percentage of ingredients, chemical composition and percentage of fatty acids of experimental diets. ....	42
<b>Table 2</b>	Chemical composition of dry distillers grain. ....	43
<b>Table 3</b>	Sequences (5' to 3') and efficiencies of the primers used in the reverse-transcription quantitative PCR (RT-qPCR). ....	48
<b>Table 4</b>	Chemical composition (%) of longissimus thoracis from young bulls fed dried distillers grains with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control). ....	50
<b>Table 5</b>	Composition (%) of main fatty acids in the omasum and muscle of young bulls fed dried distillers grains with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control). ....	51
<b>Table 6</b>	Proportion of fatty acids (%) in the omasum and muscle of young bulls fed dried distillers grains with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control). ....	52
<b>Table 7</b>	Indices of enzymes involved in fatty acid metabolism and atherogenic index of muscle of young bulls fed dried distillers grains with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control). ....	52

## LISTA DE ABREVIACES

ACC/ ACACA	Acetil CoA Carboxilase/ Acetyl CoA carboxylase
ACOX	Acyl-coenzyme A oxidase
AG	Ácidos graxos
AGI	Ácido graxo insaturado
AGMI/ MUFA	Ácido Graxo Monoinsaturado/ monounsaturated fatty acids
AGPI/ PUFA	Ácido Graxo Poli-insaturado/ Polyunsaturated fatty acid
AGS/ SFA	Ácido Graxo Saturado/ Saturated fatty acids
cDNA	Ácido Desoxirribonucleico Complementar
CLA	Ácido Linoléico Conjugado/ Conjugated linoleic acid
CPT	Carnitina Palmitoil Transferase/ Carnitine palmitoyltransferase
DDGS	Grão seco de destilaria com solúveis/ Dry distillers grains with solubles
DHA	Docosa-hexaenoic-acid
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EE	Extrato Etéreo
FABP4	Proteína de Ligação ao Ácido Graxo/ Adipocyte-type fatty acid-binding protein
FAS/ FASN	Ácido Graxo Sintase/ Fatty acid synthase
FC/ SF	Força de cisalhamento/ Shear force
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
GAPDH	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
LPL	Lipoproteína Lipase/ Lipoprotein lipase
LT	Longissimus thoracis
MM	Matéria mineral
MS/ DM	Matéria Seca/ Dry matter
NDDGS	without dry distillers grain with solubles
NIDA	Nitrogênio insolúvel em detergente ácido
PB	Proteína bruta
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PDR	Proteína degradável no rúmen
PNDR/ UDP	Proteína não degradável no rúmen/ Rumen undegradable protein
PPAR $\gamma$ /	Receptor ativado por peroxissomas gama/ Peroxisome proliferator
PPAERG	activated receptor gamma
PPAR $\alpha$ /	Receptor Ativador por Peroxissomas alfa/ Peroxisome proliferator
PPARA	activated receptor alpha
PPC/ CWL	Perdas de peso ao cozimento/ Cooking weight loss
RNA	Ácido Ribonucleico/
RT-PCR	Transcrição reversa, seguida pela reação em cadeia da polimerase em tempo real
SCD1	Estearoil CoA Dessaturase/ Stearoyl-CoA desaturase
SREBP-1c	Fatores de Transcrição de Proteínas Ligantes aos Esteroides/ Sterol regulatory element Binding protein
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico/ thiobarbituric acid- reactive substances
WDGS	Grãos úmido de destilaria com solúveis

## SUMÁRIO

	<b>CAPÍTULO I</b> .....	11
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	11
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	12
<b>2.1</b>	<b>Metabolismo de ácidos graxos</b> .....	12
<b>2.2</b>	<b>Grão seco de destilaria com solúveis (DDGS)</b> .....	12
2.2.1	Obtenção do DDGS .....	13
2.2.2	DDGS na alimentação de bovino .....	15
<b>2.3</b>	<b>Uso dos grãos de destilaria e a qualidade de carne</b> .....	18
2.3.1	Cor .....	18
2.3.2	Maciez e composição química .....	19
2.3.3	Perfil de ácidos graxos .....	20
2.3.4	Oxidação lipídica .....	22
<b>2.4</b>	<b>Expressão gênica e metabolismo lipídico</b> .....	23
2.4.1	Fatores de transcrição e o metabolismo lipídico .....	24
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	27
	 <b>CAPÍTULO II</b> .....	 38
	<b>ABSTRACT</b> .....	38
<b>1.</b>	<b>INTRODUCTION</b> .....	38
<b>2.</b>	<b>MATERIALS AND METHODS</b> .....	40
2.1.	<i>Animals, diet and slaughter</i> .....	40
2.2.	<i>Fatty acid from omasum</i> .....	43
2.3.	<i>Meat collection and analysis</i> .....	44
2.4.	<i>Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS)</i> .....	46
2.5.	<i>Meat color</i> .....	46
2.6.	<i>Gene expression analyses</i> .....	46
2.7.	<i>Statistical analyses</i> .....	49
<b>3.</b>	<b>RESULTS</b> .....	49
<b>4.</b>	<b>DISCUSSION</b> .....	53
<b>5.</b>	<b>CONCLUSION</b> .....	58
	<b>REFERENCES</b> .....	58

## CAPÍTULO I

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

O uso de coprodutos na dieta de bovinos em terminação tem sido muito estudado por ser uma estratégia eficiente de diminuir os custos com a alimentação. O uso de grandes quantidades de ingredientes tradicionais, como o milho e, ou, a soja pode reduzir a margem bruta devido aos altos custos dos ingredientes utilizados e das oscilações do mercado. Diante disso, alimentos alternativos como os coprodutos da agroindústria, são opção de substituição aos alimentos tradicionais.

Dentre esses alimentos, o grão seco de destilaria com solúveis (DDGS) é um coproduto oriundo da produção de etanol de milho ou sorgo e possui características nutricionais adequadas para utilização na alimentação de bovinos e de outras espécies de animais, pois contém altos conteúdos de energia e proteína. Além disso, o DDGS possui maior proporção de proteína não degradável no rúmen (PNDR) quando comparado com fontes proteicas usadas tradicionalmente no Brasil, como os farelos de algodão e de soja.

Cerca de 80% dos ácidos graxos do DDGS são ácidos graxos insaturados, e, desta forma, outra possível consequência da sua inclusão em dietas de bovinos em terminação é o aumento da concentração destes ácidos na carne, o que é interessante do ponto de vista da saúde humana. No entanto a maior proporção de ácidos graxos poli-insaturados na carne pode levar à rancidez oxidativa e mudança na coloração (1ª característica apreciada pelo consumidor).

Recentemente os consumidores se preocupam mais com a qualidade de carne que é ingerida, devido aos seus efeitos diretos sobre a saúde humana, destacando-se o perfil de ácidos graxos da carne. Mas esse parâmetro não pode ser estudado isoladamente, pois é dependente dos outros parâmetros qualitativos, tais como, maciez, cor e oxidação lipídica da carne. Uma alternativa recente para o melhor entendimento dos efeitos da nutrição sobre o metabolismo lipídico é a expressão genica associada à nutrição. Alguns trabalhos sugerem que a composição dos ácidos graxos da carne pode ser controlada por fatores ainda mais específicos, tais como os genes relacionados ao metabolismo lipídico.

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar características de carcaça, composição química, perfil de ácidos graxos, maciez e cor da carne de tourinhos confinados e alimentados com ou sem a inclusão de grãos secos de destilaria de baixo teor de extrato etéreo, além de avaliar a expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico no músculo desses animais.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Metabolismo de ácidos graxos

Inicialmente, lipídeos são hidrolisados no rúmen, dando origem a ácidos graxos livres e glicerol, a maior parte dos ácidos graxos insaturados estão disponíveis para biohidrogenação (HARFOOT, 1981). Diversos fatores influenciam a taxa e a extensão da biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos insaturados. A biohidrogenação ruminal é influenciada pela composição da dieta. Estudos *in vitro* têm demonstrado que a inclusão de glicerol na dieta pode inibir a lipólise; porém, este limita a biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados e poli-insaturados (EDWARDS et al., 2012; KRUEGER et al., 2010).

Os lipídios insaturados passam por um processo de biohidrogenação no rúmen que os converte em ácidos graxos saturados (ALLEN, 2000). Segundo Demeyer e Doreau (1999) após a lipólise os ácidos graxos são adsorvidos a partículas e biohidrogenados ou incorporados pelas bactérias sólidas associadas. A biohidrogenação que ocorre no rúmen pela ação de bactérias é um processo que permite a diminuição da quantidade de hidrogênio, responsável pelo aumento da acidez ruminal, além desse aspecto, tem-se a diminuição da produção de metano entérico, que é emitido pelos ruminantes, o qual está fortemente associado ao aquecimento global (ALLEN, 2000; DEMEYER; DOREAU, 1999).

As bactérias ruminais responsáveis pela biohidrogenação podem ser divididas em dois grupos A e B. O grupo A são as bactérias responsáveis pela biohidrogenação dos ácidos linoleico e  $\alpha$ -linolênico a ácidos graxos conjugado (trans-11-octadecanoico), com pequenas quantidades de outros isômeros. Esse grupo, no entanto, parece ser incapaz de biohidrogenar o ácido graxo oleico a ácido esteárico (DEMEYER; DOREAU, 1999). Segundo Solomon et al. (2000), no grupo A tem-se a predominância da bactéria *Butyrivibrio fibrisolvens* que é uma espécie muito versátil metabolicamente, que possui atividade na fermentação do amido e da pectina, gerando diferentes produtos finais da fermentação. O grupo B é composto por bactérias capazes de biohidrogenar uma grande extensão de cis e trans C18:1 a ácido esteárico (DEMEYER; DOREAU, 1999).

### 2.2 Grão seco de destilaria com solúveis (DDGS)

Uma variedade de matérias-primas é usada para produzir etanol, destacando-se no Brasil a cana-de-açúcar. Já no restante do mundo, os processos de produção de álcool a partir de

cereais são importantes, com destaque para o uso do milho. Nos Estados Unidos o milho é a principal matéria-prima disponível para a produção de álcool. Já no Brasil o uso do milho para produzir etanol é recente e estratégico, ocorrendo em situações específicas, quando há excedente na produção desse grão e o preço do transporte para outras regiões é elevado. Além disto, tem-se a utilização de cereais na entressafra da cana-de-açúcar, quando as usinas estão ociosas e podem usar o milho ou sorgo como matéria prima para produzir etanol.

Da produção de etanol através do milho alguns coprodutos são gerados, destacando-se os grãos secos de destilaria com ou sem solúveis, os grãos úmidos de destilaria com ou sem solúveis e o óleo. Para cada tonelada de grão de milho seco inserido no sistema de produção, resulta-se em 460 litros de etanol anidro e 380 kg de DDGS (WYMAN, 1996).

O grão seco de destilaria com solúveis (DDGS) é um coproduto oriundo da produção após a hidrólise do amido, posterior fermentação dos açúcares solúveis e destilação. Grãos como milho, sorgo, trigo e cevada, variam em relação ao teor de amido, e aqueles com a maior quantidade de amido (por exemplo, o milho) são mais usados para produção de etanol por proporcionar maior rendimento (COUNCIL, 2012). O DDGS de milho é produzido em regiões com excesso de produção deste cereal. No estado do Mato Grosso, por exemplo, onde há produto em excesso, e o preço do transporte para outras regiões é elevado, a produção de álcool torna-se viável.

### 2.2.1 Obtenção do DDGS

A obtenção do DDGS é feita pela hidrólise do amido do grão e pode ser feita de forma diferente de acordo com a usina em questão e o país onde se produz o etanol, podendo a produção do malte ser pela ação enzimática ou de ácidos (COUNCIL, 2012). Para a hidrólise enzimática é necessário primeiramente que o grão seja processado, assim, este é moído, com finalidade de expor o amido a ação das enzimas amilolíticas. Após a moagem, água é adicionada com o intuito de formar uma “massa” (SINGH; CHERYAN, 1998), a qual é aquecida a 100 °C por alguns minutos e posteriormente resfriada a 80 °C. Para que a hidrólise do amido aconteça, a enzima termoestável alfa amilase é adicionada, a massa é cozida e depois resfriada, então mais alfa amilase é adicionada e o processo de liquefação se inicia (BOTHAST; SCHLICHER, 2005). Nesta fase o pH da mistura é ajustado com ácido sulfúrico até atingir 4.5, valor ótimo para atividade enzimática. O processo de liquefação devido a ação das enzimas, ocorre pela redução do tamanho do polímero.

Depois do cozimento, a massa é resfriada e transferida para os tanques de fermentação. Neste processo é necessário adicionar levedura a massa, sendo a mais importante a *Saccharomyces cerevisiae*. O processo fermentativo leva de 48 a 72 horas e tem concentração final de 10 a 12% de álcool na massa (BOTHAST; SCHLICHER, 2005). Observa-se que nas fases iniciais do processo (cozimento), quando as temperaturas estão acima de 80 °C não há açúcares redutores o que limita a possibilidade de ocorrência da reação de Maillard. Na fase de fermentação a temperatura é de 32 °C para permitir atuação de leveduras vivas e nessa temperatura não ocorre a reação de Maillard.

Após a fermentação inicia-se o processo de destilação, que é a separação do álcool dos componentes sólidos e da água contida na massa. A mistura é aquecida até a ebulição e os vapores são resfriados até sua condensação (BOTHAST; SCHLICHER, 2005).

A mistura da fração sólida e líquida remanescentes é classificada como o "resíduo total", e a separação das mesmas se dá por meio da centrifugação. A fração líquida passa por evaporação com o intuito de remover água, resultando em solúveis de destilaria condensado, ou seja, um xarope que contém aproximadamente 30% de MS. Esse xarope pode ser recombinado com a fração sólida e essa mistura passar por processo de secagem para produzir o DDGS. Os sólidos também são chamados de "torta úmida" e contém cerca de 35% de MS. Este produto úmido é conhecido como grão úmido de destilaria (WDG). Se o xarope for adicionado à fração sólida, o produto final será o grão úmido de destilaria com solúveis (WDGS) (BOTHAST; SCHLICHER, 2005).

A composição nutricional do DDGS varia de acordo com a matéria prima utilizada e os fatores de processamento para sua produção. A variação da matéria-prima se dá pelo tipo, variedade e qualidade do grão. Dentre os fatores de processamento, destacam-se variações observadas no fluxo de produção, bem como variações nas técnicas utilizadas: nos processos de moagem, cozimento e fermentação (BELYEA; RAUSCH; TUMBLESÓN, 2004; COUNCIL, 2012). De acordo com Liu (2011) o valor alimentar do DDGS varia dentro da mesma planta industrial, de acordo com a safra (ano de produção), dos cereais e até mesmo entre os lotes desse mesmo cereal.

De acordo com Schone et al. (2017), a composição química do DDGS utilizado em seu estudo foi de 90,62% de matéria seca (MS), 25,65% de proteína bruta (PB), 2,33% de extrato etéreo (EE), 72,95% de fibra em detergente neutro (FDN), 18,77% de fibra em detergente ácido (FDA) e 4,68% de cinzas. Contudo, segundo o Council (2012) a composição química do DDGS americano é em média de 89,3% de MS, 30,9% de PB, 10,7% de EE, 7,2% de fibra bruta e 6,0% de cinzas, e essas diferenças podem ser atribuídas ao tipo de milho utilizado para obtenção



do DDGS, bem como os procedimentos adotados para a produção (BELYEA; RAUSCH; TUMBLESON, 2004), principalmente as temperaturas registradas durante as diferentes fases do processo.

Stock et al. (2000), descreveram o processo de moagem a seco, pelo qual o grão, principalmente o milho que contém dois terços de amido, é hidrolisado e posteriormente fermentado para produzir etanol. No processo de moagem a seco, os nutrientes restantes são concentrados em três vezes mais. Neste processo, os nutrientes remanescentes são recuperados e a água é removida para produzir DDGS. Assim, os teores de proteína aumentam de cerca de 10% para 30%, a fibra em detergente neutro de 10% para 30% e o fósforo de 0,3% para 0,9% de matéria seca.

### 2.2.2 DDGS na alimentação de bovino

O elevado conteúdo de energia, proteína, e fósforo do DDGS, o torna um substituto atraente para a substituição das fontes de proteína e energia tradicionalmente utilizadas nas dietas de animais (COUNCIL, 2012). O DDGS contém nutrientes que permite sua utilização em dietas de bovinos de corte em diferentes fases da produção. No Brasil, é utilizado em dietas de terminação, pois tem entre 102 e 127% do valor energético do milho seco laminado. Ou seja, pode ser efetivamente usado como fonte de energia e representar até 40% do consumo de MS em dietas de terminação de bovinos, propiciando alto desempenho e qualidade de carcaça e da carne, no entanto, devido à inclusão de altos níveis de DDGS na dieta, os animais podem consumir excesso de proteína e fósforo (COUNCIL, 2012).

Como mencionado anteriormente, de acordo com os métodos de produção, é necessário a inclusão de ácido sulfúrico na fase de liquefação no processo de obtenção do DDGS, portanto o mesmo pode conter elevadas concentrações de enxofre. Desta forma, quando os valores de S são superiores a 0,40% MS na dieta de ruminantes, observa-se a polioencefalomalacia (BOYLES, 2007). O enxofre é reduzido a sulfeto de hidrogênio por bactérias do rúmen e este se acumula no rúmen causando toxicidade. A suplementação da dieta de ruminantes com cobre ou tiamina pode aliviar este problema (COUNCIL, 2012).

Antibióticos são usados durante o processo de fermentação na produção de etanol a partir de cereais com intuito de controlar contaminação da massa com bactérias lácticas. A virginiamicina e a penicilina são os antibióticos mais usados para o controle destes microrganismos. Devido as quantidades utilizadas serem pequenas, o órgão regulatório norte americano, Food and Drug Administration (FDA), aprovou o uso de virginiamicina na produção

de etanol, e as evidências científicas disponíveis indicam que não existem preocupações quanto a resíduos ou riscos para a saúde animal e humana (COUNCIL, 2012). Portanto, segundo o órgão norte americano, o DDGS continua a ser um ingrediente seguro para alimentação animal.

Em uma meta análise feita por Buckner et al. (2007), os autores concluíram que os melhores resultados de desempenho no ganho de peso foram obtidos com a inclusão de 20 a 30% de DDGS na dieta de bovinos. Leupp et al. (2009), avaliaram os efeitos do fornecimento de doses crescentes de DDGS e concluíram que adicionar 45% de DDGS na dieta de novilhos em crescimento maximizou a digestão e fermentação ruminal.

A acidose subaguda é um problema ao terminar animais com dietas de alto grão, pois estas dietas normalmente contêm quantidade significativa de amido rapidamente fermentável no rumem. Dietas de terminação contendo DDGS reduzem acidose, (COUNCIL, 2012; KLOPFENSTEIN; ERICKSON; BREMER, 2008) pois o teor de amido de DDGS é baixo (2 a 5% MS), e os teores de fibra e proteína são elevados, assim sendo, ao fornecer dietas contendo mais de 20% de DDGS da MS, tem-se o adequado consumo de fibra, e a quantidade de forragem utilizada na dieta pode ser reduzida.

O DDGS possui maior conteúdo de PNDR quando comparado com outras fontes de proteína, como os farelos de soja (fonte de PDR) e de algodão (fonte de PNDR) (COUNCIL, 2012). Devido ao processo de hidrólise e fermentação do amido para produzir DDGS, a porção de PNDR presente no grão de milho fica mais concentrada.

A PNDR pode ter maior eficiência energética em comparação a proteínas degradáveis no rúmen ou carboidratos por não sofrerem perdas durante a fermentação ruminal (KLOPFENSTEIN; ERICKSON; BREMER, 2008). O National Research Council estima que o DDGS de milho contém de 20- 30% de proteína bruta, da qual 50-55% é PNDR (KLEINSCHMIT et al., 2007; TJARDES, 2002). No entanto, existem variações consideráveis nas tecnologias de processamento entre as indústrias de moagem a seco, e em relação aos grãos crus utilizados nas plantas industriais. Tal fato leva a alterações substanciais da composição química e das propriedades de degradação ruminal da proteína do DDGS. Por isso uma estimativa mais precisa da cinética da degradação ruminal da matéria seca (MS) e frações da PB é exigida para se determinar corretamente a PNDR do DDGS (LEE et al., 2016).

A determinação de forma confiável dos modelos dinâmicos de degradação ruminal das frações de carboidratos e de proteínas são fundamentais para se obter o máximo benefício econômico da utilização dos coprodutos. Portanto, para formular com precisão as dietas para atender à exigência de proteína do ruminante, existe necessidade de caracterizar mais especificamente a cinética de degradação da proteína (especialmente a fração PNDR) desse

coproduto (HEDQVIST; UDÉN, 2006; WESTREICHER-KRISTEN; STEINGASS; RODEHUTSCORD, 2013), e assim pode-se reduzir a perda excessiva de nitrogênio no meio ambiente, trazendo benefícios econômicos, ao mesmo tempo em que auxilia o melhor desempenho animal (COUNCIL, 2012).

Alguns estudos sugerem que a PNDR pode explicar o maior valor alimentar do DDGS, quando comparado ao milho. Na verdade, o valor do DDGS como fonte de proteína permanece incerto. Estimativas anteriores de valores de PNDR do DDGS variaram de 40 a 70% segundo Brake et al. (2010); Cao, Anderson e Kalscheur (2009); Islas e Soto-Navarro (2011); Leupp et al. (2009).

O valor tabulado de PNDR do DDGS é 52%, conforme apresentado pelo NRC (2000) e bem superior aos 30% de PNDR do farelo de soja. Erickson et al. (2005), indicaram que esse alto valor de PNDR do DDGS é devido às características da proteína do grão de milho ao invés do conteúdo de MS ou umidade.

O DDGS também é fonte de ácidos graxos insaturados, pois estes ácidos graxos representam 80% da quantidade total (OMER et al., 2015; TAKAHASHI et al., 2008). O teor de EE presente no DDGS também varia de acordo com os processos para a obtenção do coproduto, e pode diminuir de acordo com os métodos utilizados pela indústria para a extração do óleo.

Diferenças no desempenho de animais alimentados com DDGS podem também ser explicadas pela variação no conteúdo de extrato etéreo (SPIEHS; WHITNEY; SHURSON, 2002).

Atkinson et al. (2012) avaliaram o efeito da inclusão de 40 e 70% de DDGS com teor de extrato etéreo entre 6 a 8% sobre o desempenho e qualidade da carne de novilhos Angus e não observaram diferenças no desempenho nem sobre qualidade de carne dos animais. Depenbusch et al. (2009) avaliaram os efeitos de quantidades crescentes de DDGS (0, 15, 30, 45, 60 e 75% na MS), sobre o desempenho, características de carcaça e qualidade de carne de novilhos cruzados e concluíram que o consumo de matéria seca, o ganho médio diário e o peso final dos animais, foi positivo até a inclusão de 15% na MS de DDGS na dieta. Gunn et al. (2009) avaliaram a influência da proteína e da gordura do DDGS em dietas de confinamento para novilhos Angus sobre o desempenho, características de carcaça e qualidade da carne e concluíram que houve efeito negativo quando DDGS foi utilizado na dieta nas proporções de 25 a 50% de MS.

## 2.3 Uso dos grãos de destilaria e a qualidade de carne

### 2.3.1 Cor

A cor é considerada a mais importante característica sensorial na aparência da carne, podendo não apenas valorizá-la, mas também depreciá-la (MACDOUGALL, 1994). Os principais pigmentos que dão a cor ao músculo do animal enquanto vivo são a hemoglobina e em segundo lugar a mioglobina. Porém, em situações normais, em que é realizada uma adequada sangria, a mioglobina passa a ser responsável por 90% ou mais da coloração do produto (RAMOS; GOMIDE, 2007). Mancini e Hunt (2005) afirmaram que a cor da carne é determinada pelo grupo heme, de acordo com a concentração do pigmento e estado químico do mesmo.

A cor ideal da carne bovina é a vermelha cereja brilhante (LUCHIARI FILHO, 2000), o que é determinado mais precisamente pela forma química em que se encontra a mioglobina. A mioglobina é um pigmento composto por um grupo heme ligado a uma proteína globular chamada globina, sendo este grupo o componente cromóforo responsável pela absorção de luz e cor desses pigmentos (RAMOS; GOMIDE, 2007). O que varia é o sexto ligante deste grupo heme e é o que vai determinar a forma química da mioglobina. A quantidade de mioglobina presente no músculo é variável e vários são os fatores que influenciam esta concentração como, por exemplo: a espécie, idade, atividade física, tipo de músculo entre outros (FELÍCIO, 1997).

O sistema CIE  $L^* a^* b^*$  é usado para mensurar a cor de forma objetiva. O índice  $L^*$  é indicativo da luminosidade, ou seja, o quanto claro ou escuro é a cor, enquanto os índices  $a^*$  mede a cor vermelha e  $b^*$  mede a cor amarela. Os valores encontrados na literatura dos índices de cor da carne bovina, são dependentes de muitos fatores, pode-se encontrar para  $L^*$  valores entre 33,2 a 41,0;  $a^*$  11,1 a 23,6 e  $b^*$  6,1 a 11,3 (MUCHENJE et al., 2009).

O Valor de  $L^*$  no músculo pode ser atribuído ao pH final da carcaça. Depenbusch et al. (2009) relataram carnes mais escuras em animais alimentados com mais de 45% de MS de DDGS na dieta. Por outro lado, Gill et al. (2008) e Koger et al. (2010) observaram carnes com maior luminosidade em animais alimentado com DDGS, do que animais que não receberam DDGS.

Gill et al. (2008) relataram que a carne de animais alimentados com a inclusão de DDGS são menos vermelhas quando comparadas com a carne de animais alimentados sem a inclusão de DDGS na dieta. Porém, Roeber, Gill e Dicostanzo (2005) relataram aumento do pigmento vermelho em bifes de novilhos alimentados com DDGS.

### 2.3.2 Maciez e composição química

Além de cor, maciez é um dos parâmetros mais importantes da qualidade da carne. Quando se fala em qualidade de carne bovina, logo se pensam em suculência, maciez e sabor. Estas três características são apontadas pela maioria dos consumidores como sendo as principais, por serem de fácil percepção. Segundo Shackelford et al. (1991) a gordura intramuscular é um dos principais fatores que atuam positivamente sobre estas características. A maciez pode ser medida por meio de análises sensoriais, índice de fragmentação miofibrilar ou força de cisalhamento. Nesse último, um aparelho é utilizado para medir a força necessária para o cisalhamento de uma seção transversal de carne e, quanto maior a força dispensada, menor é a maciez apresentada pelo corte de carne. Outra característica relacionada à qualidade da carne é o marmoreio, pois está relacionada principalmente ao sabor e à suculência, sendo essencial para a palatabilidade do alimento. Pode ser analisada por meio de escala de graduação visual denominada Quality Grade ou através do teor de extrato etéreo que é medido na composição química da carne. De acordo com Moore et al. (2010) e Savell, Cross e Smith (1986) o teor extrato etéreo é positivamente correlacionado com marmoreio.

Aldai et al. (2010) compararam o uso de DDGS de trigo, DDGS de milho e dieta controle a base de cevada em dietas de terminação de bovinos e mostraram que o uso de DDGS de trigo não apresentou efeitos negativos sobre a qualidade da carne. Já o DDGS de milho proporcionou alguns efeitos positivos, como melhora na maciez e palatabilidade, devido à ausência de tecido conectivo, em relação à carne dos animais alimentados com a dieta controle à base de cevada. Esses pesquisadores não relataram diferenças na composição química do músculo com o uso das três dietas.

Segers et al. (2011), Koger et al. (2010), e Gill et al. (2008) não relataram diferenças na maciez em novilhos terminados com dietas com e sem a inclusão de DDGS. De acordo com Erickson et al. (2005), o uso de dietas contendo DDGS não afetou a qualidade ou rendimento de carcaça e também não houve efeito sobre as características sensoriais da carne. Roeber, Gill e Dicostanzo (2005) e Jenschke et al. (2007) avaliaram a cor, maciez e as características sensoriais da carne bovina de animais alimentados com 50% de inclusão de DDGS na dieta e observaram que não houve diferenças na maciez, sabor e suculência. Similarmente, Koger et al. (2010) alimentaram novilhos mestiços de Angus usando dietas contendo 20 ou 40% de grãos de destilaria úmidos ou secos com solúveis para substituir o farelo de soja e parcialmente o milho quebrado e concluíram que não houve efeito sobre a maciez da carne desses animais.

Leupp et al. (2009), avaliando o uso de doses crescentes de DDGS na dieta de novilhos, concluíram que não foram observadas diferenças quanto ao desempenho e características da carcaça de novilhos alimentados com 0 ou 30% DDGS. O marmoreio e a maciez também não foram afetados pela dieta, mas os bifes de novilhos alimentados com DDGS durante a terminação foram mais suculentos e tiveram mais sabor.

O teor dos componentes que compõem o músculo são relativamente constante (cerca de 75% de água, 19 a 25% PB e 1 a 2% matéria mineral), sendo que o teor de extrato etéreo é o mais variável dentre eles (GEAY et al, 2001). A variação de um dos componentes da carne reflete na concentração dos demais componentes, por exemplo: se a concentração de EE no músculo for alta, as proporções de umidade, proteína e minerais reduzirão (LAWRIE, 2004).

Segers et al. (2011) alimentaram animais do desmame até a terminação com dietas contendo 25% de DDGS ou glúten de milho e mostraram que a composição química e a maciez do músculo *longissimus lumborum* não foram afetados pelo uso dessas dietas, quando comparadas a dietas contendo farelo de soja como suplemento proteico. Similarmente, Omer et al. (2015) estudando o efeito de substituir farelo de algodão por DDGS sobre a fermentação ruminal, características de carcaça, perfil de ácidos graxos do músculo de animais cruzados (Baladi x Friesian) concluíram que a inclusão de DDGS não afetou a composição química do músculo desses animais.

### 2.3.3 Perfil de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos (AG) deve ser levado em consideração ao avaliar a qualidade da carne. Determinados AG apresentam comportamentos distintos no organismo humano, podendo ser benéficos ou maléficos à saúde, assim sendo os consumidores têm se atentado para essas consequências. De acordo com Webb e O'Neill (2008) são considerados maléficos para saúde humana os ácidos graxos mirístico, palmítico e láurico, por elevarem os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no sangue, e benéficos os ácidos graxos linoleico conjugados (CLA) que são considerados anticarcinogênicos e hipolipidêmico, e os poli-insaturados (AGPI), que participam de vários processos biológicos relevantes para a saúde humana. A carne bovina é fonte natural de ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e poli-insaturados (AGPI) (VARELA et al., 2004), dentre os AGPI existem os isômeros do ácido linoleico conjugado (CLA), em especial o C18:2 cis-9, trans-11 (FRENCH et al, 2000; SCOLLAN et al., 2001).

É possível manipular o perfil de ácidos graxos da carne de ruminantes através da alimentação dos animais (FRENCH et al., 2003; GEAY et al, 2001; MADRON et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2011). No caso de ruminantes a alteração do perfil de ácidos graxos ocorre através da redução do processo de biohidrogenação ruminal. O processo de biohidrogenação é a transformação de AGI em AGS pelo micro-organismos ruminais.

Segundo Ladeira et al. (2007) a crescente busca por formas de manipulação do perfil de ácidos graxos na carne de bovinos tem por objetivo a produção de uma carne de melhor qualidade para o consumidor e, conseqüentemente a isso, diminuir a associação de consumo de carne vermelha à problemas de saúde, pensando em longo prazo, nos ganhos proporcionados à toda cadeia produtiva da carne.

Quando ruminantes ingerem lipídeos de origem vegetal, ricos em AGPI, por exemplo o ácido linoleico, há o processo de biohidrogenação, onde os micro-organismos saturam os ácidos graxos insaturados e há formação do produto final, o ácido esteárico (C18:0). Quando esse processo é incompleto, ocorre a formação de ácidos intermediários, o CLA (C18:2 c9, t11) e do ácido vacênico (C18:1 t11) (PALMQUIST; MATTOS, 2006). Considerando que o ácido vacênico é um intermediário da biohidrogenação dos ácidos linoleico e linolênico no rúmen, o consumo de alimentos com estas fontes resultará na presença de CLA na carne (MEDEIROS et al., 2005).

O fato do DDGS ser fonte de ácidos graxos insaturados explica o resultado de alguns trabalhos científicos com o uso de DDGS nas dietas de bovinos com efeitos variáveis nas características da carcaça, perfil de ácidos graxos da carne e atributos sensoriais. De acordo com Koger et al. (2010) a inclusão de DDGS na dieta de bovinos não alterou a concentração de AGS, porém aumentou PUFA, o que resultou em maior susceptibilidade a rancidez oxidativa. Por outro lado, Depenbusch et al. (2009) observou maior concentração de ácidos graxos linoleicos, ômega 6 e PUFA, porém não observou efeitos sobre a rancidez oxidativa com a inclusão de DDGS na dieta de bovinos. Gill et al. (2008) avaliando a inclusão de DDGS na dieta de bovinos reportou aumento da relação dos ácidos graxos n-6:n- 3. Segers et al. (2011), avaliando animais terminados com dietas contendo DDGS, concluíram que os animais que não consumiram DDGS tiveram maiores concentrações de AGS no músculo quando comparados aos animais que ingeriram DDGS.

O músculo de animais alimentados com DDGS apresenta menos ácidos láurico, mirístico e palmítico (SEGERS et al., 2011), o que é bom para saúde humana, uma vez que esses ácidos são considerados indesejáveis por serem hipercolesterolêmicos (FRENCH et al., 2003; HEGSTED et al., 1965).

Gill et al. (2008), Koger et al. (2010) and Segers et al. (2011), observaram que a inclusão de DDGS na alimentação de animais em terminação não afetou as concentrações de CLA no músculo desses animais. Por outro lado, Depenbusch et al. (2009) reportou o aumento da concentração de CLA no músculo de animais alimentados com DDGS.

Schoonmaker, Trenkle e Beitz (2010), estudaram o efeito de diferentes concentrações de grão úmido de destilaria em dietas com alta e baixa inclusão de forragem sobre o marmoreio e encontraram aumento da concentração de AGPI e redução de AGS na carne de novilhos alimentados com baixa inclusão de forragem, porém evidenciaram maiores concentrações de CLA em animais alimentado com alta inclusão de forragem e concluíram que a maior concentração de AGPI pode ser responsável pela mudança na deposição de gordura para tecido magro em animais alimentados com grão úmido de destilaria.

#### 2.3.4 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é uma característica que está diretamente relacionada a vida útil do produto. O prejuízo oxidativo é o maior fator não microbiano responsável pela deterioração da qualidade de carne (OLIVEIRA et al., 2011; WOOD et al., 2004). É um processo inevitável com o tempo, que é influenciado pelas concentrações de ácidos graxos insaturados, oxigênio e substâncias químicas, os quais aceleram a oxidação (KANNER et al., 1988).

O grau de oxidação lipídica da carne está diretamente ligado ao tipo de estrutura lipídica (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999). Pode-se dizer que os alimentos que apresentam maiores teores de ácidos graxos insaturados (AGI), principalmente AGPI, são mais susceptíveis à oxidação lipídica e, conseqüentemente, se relacionam negativamente com o sabor do alimento (DUCKETT; ANDRAE; OWENS, 2002).

O teste de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) é um método analítico para mensurar a oxidação lipídica. O teste de TBA quantifica o malonaldeído, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos insaturados, formado durante o processo oxidativo. A reação envolve o ácido 2- tiobarbitúrico com o malonaldeído, produzindo um composto de cor vermelha (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

O fato do DDGS ser fonte de ácidos graxos insaturados faz com que a carne de bovinos alimentados com esse alimento aumente os seus teores, tornando-o mais suscetível à rancidez oxidativa. De acordo com Koger et al. (2010), a inclusão de 20 ou 40% de DDGS em dietas de terminação de bovinos eleva a proporção de ácidos graxos poli-insaturados, o que pode levar à



rancidez oxidativa. Gill et al. (2008) também atribuíram a maior oxidação lipídica na carne dos animais alimentados com DDGS com o aumento das concentrações de AGPI no músculo. Embora a quantidade de AGPI no DDGS estar relacionada com a oxidação lipídica do músculo de animais alimentados com esse coproduto, essa afirmação pode não ser observada em todos os estudos. Depenbusch et al. (2009) não encontraram diferenças em relação a oxidação lipídica da carne de novilhos cruzados alimentados com níveis crescentes de DDGS na dieta, quando comparado aos animais alimentado com milho laminado. Segers et al. (2011), trabalhando com novilhos alimentados com DDGS também não encontraram efeitos significativos sobre a oxidação lipídica do músculo desses animais.

#### **2.4 Expressão gênica e metabolismo lipídico**

Características de carcaça como o marmoreio, são extremamente complexos e estão sujeitas ao controle não só de fatores ambientais, mas também de redes de genes interligados, cada um exercendo pequenos efeitos que se combinam para produzir mudanças fisiológicas (WU et al., 2006). Atividade enzimática no metabolismo energético e as vias lipogênicas são em grande parte resultado da taxa em que as enzimas são sintetizadas Salati et al. (2004); Freyssenet (2007). O regulamento metabólico depende fortemente da regulação transcricional como um mecanismo de longo prazo para determinar o nível de expressão de enzimas chave (DESVERGNE; MICHALIK; WAHLI, 2006).

O conhecimento do padrão de expressão de genes em tecidos ou órgãos específicos, pode auxiliar nos estudos que buscam compreender mecanismos metabólicos importantes que afetam certas características de importância econômica em bovinos. Para medir a expressão gênica métodos tradicionais de análise como a RT-qPCR (reação em cadeia da polimerase em tempo real) são utilizadas. Essa técnica permite que o RNA mensageiro seja quantificado, possibilitando a análise da expressão dos genes a partir de uma quantificação relativa (HEID et al., 1996). É uma metodologia embasada na cinética de fluorescência que possibilita a quantificação do produto da PCR. A técnica consiste na síntese de um DNA complementar (cDNA) a partir de um RNA-molde. O cDNA sintetizado é então amplificado exponencialmente pela PCR e pode ser facilmente detectado. É um processo que combina em um só procedimento, amplificação e detecção (ČIKOŠ; BUKOVSKÁ; KOPPEL, 2007), mas para tal é necessária uma pré-seleção de genes únicos (primers).

#### 2.4.1 Fatores de transcrição e o metabolismo lipídico

Fatores de transcrição são proteínas acessórias que identificam as sequências específicas a serem transcritas, dando assim início à transcrição (PIERCE, 2011). Esses fatores de transcrição, quando ligados a sequências específicas de DNA controlam a síntese de RNAm. A expressão destes fatores e sua atuação dependem do estímulo, da situação fisiológica e do estágio de desenvolvimento do organismo, sendo assim expressos apenas em momentos apropriados.

Um fator de transcrição responsável pela regulação do metabolismo lipídico é a proteína chamada de Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissomas (PPARs) (MUOIO; KOVES, 2007). Esse fator possui três isoformas, PPAR,  $\alpha$ ,  $\gamma$  e  $\delta/\beta$ , que se diferenciam pelo tecido alvo, propriedades fisiológicas e estágios de desenvolvimento do tecido (DESVERGNE; WAHLI, 1999). O PPAR $\alpha$  atua na síntese e na  $\beta$ -oxidação dos ácidos graxos no músculo (BIONAZ et al., 2013). O PPAR $\gamma$  é essencial para adipogênese (OBSEN et al., 2012) e atua na síntese de lipídeos (VYAS et al., 2014). Os AGPI estimulam a expressão do PPARG que possui correlação positiva com a expressão da SCD e LPL aumentando lipogênese (CLARKE, 2000; CORAZZIN, 2013; FERNYHOUGH et al., 2007; SEVANE et al., 2013). Similarmente, o PPARA apresenta correlações positivas entre a expressão do PPARA no músculo de bovinos com os genes que codificam as enzimas LPL e SCD1 (OLIVEIRA et al., 2014).

Outro fator de transcrição como Proteínas Ligantes aos Esteróides (SREBP), que desempenham um papel central na homeostase energética, promovendo a lipogênese e adipogênese (EBERLE et al., 2004). Diferenças no nível de expressão do gene SREBF1 podem levar a diferenças na composição de ácidos graxos no tecido adiposo dos animais. De acordo com Botolin et al. (2006) em ratos, os AGPI inibem a transcrição de genes envolvidos na lipogênese no fígado, por rapidamente reduzir os fatores transcripcionais ligados a SREBP, o que reduz a ativação do gene que codifica a enzima acetil coA carboxilase (ACC), reduzindo consequentemente a síntese de novo de ácidos graxos. Dietas que aumentam C18:2 trans-10, cis-12 reduz a expressão da SREBF1 o que consequentemente reduz a biossíntese através da redução da expressão genica de enzimas chave (TEIXEIRA et al., 2017).

O acúmulo de gordura intramuscular se dá pelo aumento de síntese de triglicerídeos realizada através dos ácidos graxos provenientes da dieta ou da síntese de novo e pela redução da lipólise. Os ácidos graxos e uma pequena quantidade de triacilgliceróis que chegam no adipócito são hidrolisados pela lipoproteína lipase (LPL) (HOCQUETTE; GRAULET; OLIVECRONA, 1998). A entrada desses ácidos graxos livres no adipócito ocorrem através de

transportadores como as Proteínas de Ligação ao Ácido Graxo (FABPs) (JURIE et al., 2007). A FABP4 está associada ao metabolismo energético do músculo ao direcionar os ácidos graxos de cadeia longa para a oxidação ou esterificação, contribuindo assim, para o armazenamento de gordura entre as fibras musculares (BRANDSTETTER et al, 2002; GERBENS, 2004).

A síntese de novo ocorre pela ação da acetil-coA carboxilase ACACA e pela ácido graxo sintase (FASN). Após a síntese ou captação pelos adipócitos, os ácidos graxos sofrem ação da estearoil CoA dessaturase (SCD1) que é responsável pela conversão de AGS em ácidos graxos monoinsaturados, conversão de ácido esteárico em ácido oléico que são associados à maciez e sabor da carne (MATSUISHI; FUJIMORI; OKITANI, 2001). Duckett, Pratt e Pavan (2009), estudando a expressão do gene SCD1, concluíram que este está relacionado com o percentual de AGPI e que alterações da expressão desse gene já refletiram diferenças no teor de AGMI e na relação AGMI:AGS do tecido adiposo subcutâneo. A enzima SCD1, além de responsável pela conversão de AGS em AGMI, também está associada à conversão do ácido vaccênico (C18:1 trans 11) a CLA (C18:2 cis 9, trans 11) (SMITH et al., 2006), assim a suplementação lipídica pode diminuir a expressão da SCD1, reduzindo a conversão de ácido vaccênico a CLA (GILLIS; DUCKETT; SACKMANN, 2004).

O conteúdo de AGPI regula a expressão da SCD1 no músculo, alterando assim o perfil de ácidos graxos na carne (Waters et al., 2009). Ladeira et al. (2014) demonstrou aumento nas concentrações de CLA no músculo de animais alimentados com grãos de soja comparado a animais alimentados com gordura protegida, de acordo com (OLIVEIRA et al, 2014), esse resultado pode ser devido a maior expressão da SCD1 no músculo. Por outro lado, Herdmann et al. (2010), relataram que animais alimentados com dietas com maior teor de AGPI n-3 tiveram menor expressão de SCD1 e conseqüentemente menores concentrações de CLA cis-9, trans-11 e oleico no músculo.

Para que a lipólise ocorra, os ácidos graxos precisam entrar na mitocôndria afim de serem  $\beta$ -oxidados. A enzima responsável pelo transporte dos ácidos graxos para dentro da mitocôndria é a Carnitina Palmitoil Transferase (CPT) por estar localizada na membrana da mitocôndria. Bionaz, Thering e Loor (2012), sugerem que a oxidação de ácidos graxos está relacionada à maior entrada destes no citoplasma pela ação da FABP4 e conseqüentemente nas mitocôndrias pela CPT.

Segers et al. (2017) estudando o efeito de dietas a base de DDGS sobre a adipogênese e a lipogênese, metabolitos sanguíneos e composição de carcaça em bezerros em crescimentos, concluíram que as dietas a base de DDGS com diferentes níveis de proteína e extrato etéreo

aumentaram adipogênese em nível transcricional, mas a diferença na expressão gênica encontrada não foi suficiente para alterar a qualidade da carcaça.

Zhang et al. (2015) avaliando o efeito de dietas com diferentes níveis crescentes de DDGS resultando em diferentes níveis energéticos sobre a expressão de genes relacionados ao metabolismo lipídico no tecido adiposo conclui que maior energia na dieta resulta em maior acúmulo de gordura subcutânea devido a expressão de genes lipogênicos (PPARG, LPL, FASN, SREBF1, ACACA, SCD e A-FABP) e redução da expressão de genes lipolíticos (HSL e CPT-1) no tecido adiposo.

### 3 REFERÊNCIAS

- ALDAI, N. et al. Comparison of wheat-versus corn-based dried distillers' grains with solubles on meat quality of feedlot cattle. **Meat Science**, Barking, v. 84, n. 3, p. 569–577, 2010. doi: 10.1016/j.meatsci.2009.10.014
- ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 7, p. 1598–1624, 2000. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75030-2
- ATKINSON, R. et al. Effect of low-fat corn distillers grains fed at 40 and 70% inclusion on growth performance and meat quality of steers. **The Professional Animal Scientist**, Champaign, v. 28, n. 1, p. 41–55, 2012. doi: 10.15232/S1080-7446(15)30314-4
- BELYEA, R.; RAUSCH, K.; TUMBLESON, M. Composition of corn and distillers dried grains with solubles from dry grind ethanol processing. **Bioresource Technology**, Essex, v. 94, n. 3, p. 293–298, 2004. doi: 10.1016/j.biortech.2004.01.001
- BIONAZ, M. et al. Functional Role of PPARs in Ruminants: Potential Targets for Fine-Tuning Metabolism during Growth and Lactation. **PPAR Research**, London, Article ID 684159, p. 1–28, 2013. doi: 10.1155/2013%2F684159
- BIONAZ, M.; THERING, B. J.; LOOR, J. J. Fine metabolic regulation in ruminants via nutrient–gene interactions: saturated long-chain fatty acids increase expression of genes involved in lipid metabolism and immune response partly through PPAR- $\alpha$  activation. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 107, n. 2, p. 179–191, 2012. doi: 10.1017/S0007114511002777
- BOTHAST, R.; SCHLICHER, M. Biotechnological processes for conversion of corn into ethanol. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 67, n. 1, p. 19–25, 2005. doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1819-8>
- BOYLES, S. **Distillers grains with solubles**. OSU Extension Beef Team, BEEF Cattle Letter. v. 551, 2007. Disponível em: <<http://www.thecattlesite.com/articles/1133/distillers-grains-with-solubles/>>. Acesso em: 04 out. 2018.
- BRAKE, D. et al. Effect of nitrogen supplementation on urea kinetics and microbial use of recycled urea in steers consuming corn-based diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 8, p. 2729–2740, 2010. doi: 10.2527/jas.2009-2641

BRANDSTETTER, A. et al. Effects of muscle type, castration, age and growth rate on H-FABP expression in bovine skeletal muscle. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 75, n. 2, p. 199–208, 2002. doi: 10.1016/S0301-6226(01)00318-9

BUCKNER, C. D. et al. **Optimum levels of dry distillers grains with solubles for finishing beef steers**. 68th. Lincoln: Nebraska Beef Report, 2007. p. 34–38.

CAO, Z.; ANDERSON, J.; KALSCHEUR, K. Ruminal degradation and intestinal digestibility of dried or wet distillers grains with increasing concentrations of condensed distillers solubles. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 9, p. 3013–3019, 2009. doi: 10.2527/jas.2009-1894

ČIKOŠ, Š.; BUKOVSKÁ, A.; KOPPEL, J. Relative quantification of mRNA: comparison of methods currently used for real-time PCR data analysis. **BMC Molecular Biology**, London, v. 8, n. 1, p. 113, 2007. doi: 10.1186/1471-2199-8-113

CLARKE, S. D. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a mechanism to improve energy balance and insulin resistance. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 83, n. S1, p. S59–S66, 2000. ISSN 1475-2662

CORAZZIN, M. et al. Effect of linseed addition on the expression of some lipid metabolism genes in the adipose tissue of young Italian Simmental and Holstein bulls. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 91, n. 1, p. 405–412, 2013. doi: 10.2527/jas.2011-5057

COUNCIL. U. S. Grains Council. **A guide to distiller's dried grains with solubles (DDGS)**. 2012. Disponível em: <[http://www.ddgs.umn.edu/prod/groups/cfans/@pub/@cfans/@ansci/documents/asset/cfans\\_asset\\_417244.pdf](http://www.ddgs.umn.edu/prod/groups/cfans/@pub/@cfans/@ansci/documents/asset/cfans_asset_417244.pdf)>. Acesso em: 27 set. 2017.

FELÍCIO, P.E. Fatores *ant e post-mortem* que influenciam na qualidade da carne bovina. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C.; FARIA, V. P. (Eds.). **Produção do novilho de corte**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 79–97.

DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings of the Nutrition Society**, London, v. 58, n. 3, p. 593–607, 1999.

DEPENBUSCH, B. E. et al. Effects of increasing levels of dried corn distillers grains with solubles on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of yearling heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 8, p. 2653–2663, 2009. doi: 10.2527/jas.2008-1496

DESVERGNE, B.; MICHALIK, L.; WAHLI, W. Transcriptional regulation of metabolism. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 86, n. 2, p. 465–514, 2006. doi: 10.1152/physrev.00025.2005

DESVERGNE, B.; WAHLI, W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. **Endocrine Reviews**, Baltimore, v. 20, n. 5, p. 649–688, 1999. doi: 10.1210/edrv.20.5.0380

DUCKETT, S.; ANDRAE, J.; OWENS, F. Effect of high-oil corn or added corn oil on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, n. 12, p. 3353–3360, 2002.

DUCKETT, S. K.; PRATT, S. L.; PAVAN, E. Corn oil or corn grain supplementation to sters grazing endophyte-free tall fescue. II. Effects on subcutaneous fatty acid content and lipogenic gene expression. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 3, p. 1120–1128, 2009. doi: 10.2527/jas.2008-1420

EBERLE, D. et al. SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. **Biochimie**, Paris, v. 86, n. 11, p. 839–848, 2004. doi: 10.1016/j.biochi.2004.09.018

EDWARDS, H. et al. Glycerol inhibition of ruminal lipolysis in vitro<sup>1</sup>. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 9, p. 5176–5181, 2012. doi: 10.3168/jds.2011-5236

ERICKSON, G. E. et al. **Utilization of corn co-products in the beef industry**. Lincoln: Faculty Papers and Publications in Animal Science, 2005. 20 p.

FERNYHOUGH, M. et al. PPAR $\gamma$  and GLUT-4 expression as developmental regulators/markers for preadipocyte differentiation into an adipocyte. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 33, n. 4, p. 367–378, 2007. doi: 10.1016/j.domaniend.2007.05.001

FRENCH, P. et al. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage or concentrate-based diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 11, p. 2849–2855, 2000.

FRENCH, P. et al. Fatty acid composition of intra-muscular triacylglycerols of steers fed autumn grass and concentrates. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 81, n. 2–3, p. 307–317, 2003.

FREYSSENET, D. Energy sensing and regulation of gene expression in skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 102, n. 2, p. 529–540, 2007. doi: 10.1152/jappphysiol.01126.2005

GEAY, Y. et al. Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 41, n. 1, p. 1–26, 2001.

GERBENS, F. Genetic control of intramuscular fat accretion. In: TE PAS, M. F. W.; EVERTS, M. E.; HAAGSMAN, H. P. (Eds). **Muscle development of livestock animals, physiology, genetics and meat quality**. Wallingford: CABI Publishing, 2004. p. 343–361.

GILL, R. et al. Impact of beef cattle diets containing corn or sorghum distillers grains on beef color, fatty acid profiles, and sensory attributes. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 4, p. 923–935, 2008. doi: 10.2527/jas.2007-0244

GILLIS, M.; DUCKETT, S.; SACKMANN, J. Effects of supplemental rumen-protected conjugated linoleic acid or corn oil on fatty acid composition of adipose tissues in beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 5, p. 1419–1427, 2004. doi: 10.2527/2004.8251419x

GUNN, P. et al. Effects of dietary fat and crude protein on feedlot performance, carcass characteristics, and meat quality in finishing steers fed differing levels of dried distillers grains with solubles. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 9, p. 2882–2890, 2009. doi: 10.2527/jas.2008-1521

HARFOOT, C. Lipid metabolism in the rumen. In: CHRISTIE, W. W. (Ed.). **Lipid metabolism in ruminant animals**. Amsterdam: Elsevier, 1981. p. 21–55.

HEDQVIST, H.; UDÉN, P. Measurement of soluble protein degradation in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 126, n. 1–2, p. 1–21, 2006. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2005.05.011

HEGSTED, D. et al. Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 17, n. 5, p. 281–295, 1965. doi: 10.1093/ajcn/17.5.281

HEID, C. A. et al. Real time quantitative PCR. **Genome Research**, Cold Spring Harbor, v. 6, n. 10, p. 986–994, 1996. doi: 10.1101/gr.6.10.986



HERDMANN, A. et al. Effect of dietary fatty acids on expression of lipogenic enzymes and fatty acid profile in tissues of bulls. **Animal**, Cambridge, v. 4, n. 5, p. 755–762, 2010. doi: 10.1017/S1751731110000431

HOCQUETTE, J. F.; GRAULET, B.; OLIVECRONA, T. Lipoprotein lipase activity and mRNA levels in bovine tissues. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, New York, v. 121, n. 2, p. 201–212, 1998.

ISLAS, A.; SOTO-NAVARRO, S. Effect of supplementation of dried distillers grains with solubles on forage intake and characteristics of digestion of beef heifers grazing small-grain pasture. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, n. 4, p. 1229–1237, 2011. doi: 10.2527/jas.2009-2757

JENSCHKE, B. et al. Wet distillers grains plus solubles do not increase liver-like off-flavors in cooked beef from yearling steers. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v. 18, n. 4, p. 341–348, 2007. doi: 10.1111/j.1745-4573.2007.00090.x

JURIE, C. et al. Adipocyte fatty acid-binding protein and mitochondrial enzyme activities in muscles as relevant indicators of marbling in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 85, p. 2660–2669, 2007. doi: 10.2527/jas.2006-837

KANNER, J. et al. Muscle lipid peroxidation dependent on oxygen and free metal ions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 36, n. 3, p. 409–412, 1988. doi: 10.1021/jf00081a001

KLEINSCHMIT, D. H. et al. Ruminant and intestinal degradability of distillers grains plus solubles varies by source. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 6, p. 2909–2918, 2007. doi: 10.3168/jds.2006-613

KLOPFENSTEIN, T. J.; ERICKSON, G. E.; BREMER, V. R. Board-invited review: Use of distillers by-products in the beef cattle feeding industry. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 5, p. 1223–1231, 2008. doi: 10.2527/jas.2007-0550

KOGER, T. et al. Influence of feeding various quantities of wet and dry distillers grains to finishing steers on carcass characteristics, meat quality, retail-case life of ground beef, and fatty acid profile of longissimus muscle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 10, p. 3399–3408, 2010. doi: 10.2527/jas.2009-2708

KRUEGER, N. A. et al. Evaluation of feeding glycerol on free-fatty acid production and fermentation kinetics of mixed ruminal microbes in vitro. **Bioresource Technology**, Essex v. 101, n. 21, p. 8469–8472, Nov 2010. doi: 10.1016/j.biortech.2010.06.010

LADEIRA, M. et al. **Desafios nutricionais para melhoria da qualidade da carne bovina.** Bovinocultura de corte: desafios e tecnologias. Salvador: EDUFBA, 2007. p. 183–210.

LADEIRA, M. et al. Fatty acid profile, color and lipid oxidation of meat from young bulls fed ground soybean or rumen protected fat with or without monensin. **Meat Science**, Barking, v. 96, n. 1, p. 597–605, 2014. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.04.062

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne.** 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 384 p.

LEE, Y. et al. In situ ruminal degradation characteristics of dry matter and crude protein from dried corn, high-protein corn, and wheat distillers grains. **Journal of Animal Science and Technology**, Krakow, v. 58, n. 1, p. 33, 2016. doi: 10.1186/s40781-016-0115-3

LEUPP, J. et al. Effects of increasing level of corn distillers dried grains with solubles on intake, digestion, and ruminal fermentation in steers fed seventy percent concentrate diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 9, p. 2906–2912, 2009. doi: 10.2527/jas.2008-1712

LIU, K. Chemical composition of distillers grains, a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 59, n. 5, p. 1508–1526, 2011. doi: 10.1021/jf103512z

LUCHIARI FILHO, A. **A pecuária da carne bovina.** v. 1. São Paulo: A. Luchiari Filho, 2000. 134 p.

MAcDOUGALL, D. B. Colour of meat. In: PEARSON, A. M.; DUTSON, T. R. **Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products: advances in meat research series.** London: Blackie Academic & Professional, 1994. p. 79–93.

MADRON, M. et al. Effect of extruded full-fat soybeans on conjugated linoleic acid content of intramuscular, intermuscular, and subcutaneous fat in beef steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, n. 4, p. 1135–1143, 2002.

MANCINI, R.; HUNT, M. Current research in meat color. **Meat Science**, Barking, v. 71, n. 1, p. 100–121, 2005. doi: 10.1016/j.meatsci.2005.03.003

MATSUISHI, M.; FUJIMORI, M.; OKITANI, A. Wagyu beef aroma in Wagyu (Japanese Black cattle) beef preferred by the Japanese over imported beef. **Nihon Chikusan Gakkaiho**, Tokyo, v. 72, n. 6, p. 498–504, 2001. doi: 10.2508/chikusan.72.498

MEDEIROS, S. et al. Efeito do caroço de algodão na qualidade do *Longissimus dorsi* de bovinos de diferentes grupos genéticos terminados em confinamento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia/Gmosis, 2005. (CD-ROM).

MOORE, C. B. et al. Establishing an appropriate mode of comparison for measuring the performance of marbling score output from video image analysis beef carcass grading systems. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 7, p. 2464–2475, 2010. doi: 10.2527/jas.2009-2593

MUCHENJE, V. et al. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. **Food Chemistry**, London, v. 112, p. 279–289, 2009. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.05.103

MUOIO, D. M.; KOVES, T. R. Skeletal muscle adaptation to fatty acid depends on coordinated actions of the PPARs and PGC1 $\alpha$ : implications for metabolic disease. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, Ottawa, v. 32, n. 5, p. 874–883, 2007. doi: 10.1139/H07-083

NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 7rd ed. Washington-DC: National Academy Press, 2000. 242 p.

OBSÉN, T. et al. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases de novo lipid synthesis in human adipocytes. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 23, n. 6, p. 580–590, 2012. doi: 10.1016/j.jnutbio.2011.02.014

OLIVEIRA, D. M. et al. Fatty acid profile and qualitative characteristics of meat from zebu steers fed with different oilseeds. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, p. 2546–2555, 2011. doi: 10.2527/jas.2010-3553

OLIVEIRA, D. M. et al. Expression of genes involved in lipid metabolism in the muscle of beef cattle fed soybean or rumen-protected fat, with or without monensin supplementation. **Journal of Animal Science**, Champaign, 2014. doi: 10.2527/jas.2014-7855

OMER, H. A. A. et al. Impact of feeding calves on rations containing different levels of distillers dried grains with solubles (DDGS) on ruminal fermentation, carcass characteristics and fatty acid profiles. **World Applied Sciences Journal**, Faisalabad, v. 33, n. 2, p. 176–189, 2015. doi: 10.5829/idosi.wasj.2015.33.02.92112

PALMQUIST, D.; MATTOS, W. **Metabolismo de lipídeos**. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p. 287–310.

PIERCE, B. A. **Fundamentos de Genética**. Conceptos y relaciones. 1. ed. Buenos Aires: Editora Médica Panamericana, 2011. 536 p.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carne: fundamentos e metodologias**. Viçosa, MG: UFV, 2007. 599 p.

ROEBER, D.; GILL, R.; DICOSTANZO, A. Meat quality responses to feeding distiller's grains to finishing Holstein steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, n. 10, p. 2455–2460, 2005. doi: 10.2527/2005.83102455x

SALATI, L. M. et al. Nutritional regulation of mRNA processing. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 134, n. 9, p. 2437S–2443S, 2004. doi: 10.1093/jn/134.9.2437S

SAVELL, J. W.; CROSS, H. R.; SMITH, G. C. Percentage ether extractable fat and moisture content of beef longissimus muscle as related to USDA marbling score. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 51, n. 3, p. 838–839, 1986. doi: 10.1111/j.1365-2621.1986.tb13946.x

SCHONE, R. A. et al. Resíduo seco de destilaria com solúveis (DDGS) na alimentação de frangos de corte (22-42 dias). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 48, n. 3, p. 548–557, 2017. doi: 10.5935/1806-6690.20170064

SCHOONMAKER, J.; TRENKLE, A.; BEITZ, D. Effect of feeding wet distillers grains on performance, marbling deposition, and fatty acid content of beef from steers fed low-or high-forage diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 11, p. 3657–3665, 2010. doi: 10.2527/jas.2010-2896

SCOLLAN, N. D. et al. Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 85, n. 1, p. 115–124, 2001. doi: 10.1079/BJN2000223

SEGERS, J. et al. Effect of long-term corn by-product feeding on beef quality, strip loin fatty acid profiles, and shelf life. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, n. 11, p. 3792–3802, 2011. doi: 10.2527/jas.2011-4154

SEGERS, J. et al. Effects of protein and fat concentration in coproduct-based growing calf diets on adipogenic and lipogenic gene expression, blood metabolites, and carcass composition. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 95, n. 6, p. 2767–2781, 2017. doi: 10.2527/jas.2017.1446

SEVANE, N. et al. Association of bovine meat quality traits with genes included in the PPAR $\alpha$  and PPAR $\gamma$  networks. **Meat Science**, Barking, v. 94, n. 3, p. 328–335, 2013. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.02.014

SHACKELFORD, S. D. et al. An evaluation of tenderness of the longissimus muscle of Angus by Hereford versus Brahman crossbred heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 1, p. 171–177, 1991.

SILVA, F. A.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 94–103, 1999. doi: 10.1590/S0100-40421999000100016

SINGH, N.; CHERYAN, M. Extraction of oil from corn distillers dried grains with solubles. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v. 41, n. 6, p. 1775–1777, 1998. doi: 10.13031/2013.17322

SMITH, S. B. et al. Adiposity, fatty acid composition, and delta-9 desaturase activity during growth in beef cattle. **Animal Science Journal**, Tokyo, v. 77, n. 5, p. 478–486, 2006. doi: 10.1111/j.1740-0929.2006.00375.x

SOLOMON, R. et al. The Effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugated linoleic acid in the milk fat of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 6, p. 1322–1329, 2000. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)74998-8

SPIEHS, M. J.; WHITNEY, M. H.; SHURSON, G. C. Nutrient database for distiller's dried grains with solubles produced from new ethanol plants in Minnesota and South Dakota. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, N. 10, p. 2639–2645, 2002.

STOCK, R. et al. Review of new information on the use of wet and dry milling feed by-products in feedlot diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n. 1, p. 1–12, 2000. doi: 10.2527/jas2000.77E-Suppl1w

TAKAHASHI, N. et al. Changes in the feed characteristics of DDGS during high temperature or humidification high temperature storage. **Animal Science Journal**, Tokyo, v. 79, n. 3, p. 369–376, 2008. doi: 10.2508/chikusan.79.369

TEIXEIRA, P. D. et al. Subspecies and diet affect the expression of genes involved in lipid metabolism and chemical composition of muscle in beef cattle. **Meat Science**, Barking, v. 133, n. Sup. C, p. 110–118, 2017. doi: 10.1016/j.meatsci.2017.06.009

TJARDES, K. **Feeding corn distiller's co-products to beef cattle**. 2002. Disponível em: <[https://www.extension.umn.edu/agriculture/beef/components/docs/feeding\\_corn\\_distillers\\_g\\_rains\\_to\\_beef\\_cattle\\_sdsu.pdf](https://www.extension.umn.edu/agriculture/beef/components/docs/feeding_corn_distillers_g_rains_to_beef_cattle_sdsu.pdf)>. Acesso em: 30 set. 2017.

VARELA, A. et al. Effect of pasture finishing on the meat characteristics and intramuscular fatty acid profile of steers of the Rubia Gallega breed. **Meat Science**, Barking, v. 67, n. 3, p. 515–522, 2004. doi: 10.1016/j.meatsci.2003.12.005

VYAS, D. et al. Rosiglitazone, a PPAR- $\gamma$  agonist, fails to attenuate CLA-induced milk fat depression and hepatic lipid accumulation in lactating mice. **Lipids**, Champaign, v. 49, p. 641–653, 2014. doi: 10.1007/s11745-014-3906-7

WATERS, S. M. et al. Effect of level and duration of dietary n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on the transcriptional regulation of  $\Delta 9$ -desaturase in muscle of beef cattle. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 87, n. 1, p. 244–252, 2009. doi: 10.2527/jas.2008-1005

WEBB, E.; O'NEILL, H. The animal fat paradox and meat quality. **Meat Science**, Barking, v. 80, n. 1, p. 28–36, 2008. doi: 10.1016/j.meatsci.2008.05.029

WESTREICHER-KRISTEN, E.; STEINGASS, H.; RODEHUTSCORD, M. In situ ruminal degradation of amino acids and in vitro protein digestibility of undegraded CP of dried distillers' grains with solubles from European ethanol plants. **Animal**, Cambridge, v. 7, n. 12, p. 1901–1909, 2013. doi: 10.1017/S1751731113001730

WOOD, J. D. et al. Effects of fatty acids on meat quality: review. **Meat Science**, Barking, v. 66, n. 1, p. 21–32, 2004. doi: org/10.1016/S0309-1740(03)00022-6

WU, Q. et al. FATP1 is an insulin-sensitive fatty acid transporter involved in diet-induced obesity. **Molecular and Cellular Biology**, Washington-DC, v. 26, n. 9, p. 3455–3467, 2006. doi: 10.1128/MCB.26.9.3455-3467.2006

WYMAN, C. **Handbook on bioethanol: production and utilization**. Boca Raton: CRC press, 1996. 444 p.

ZHANG, H. et al. Effects of dietary energy level on lipid metabolism-related gene expression in subcutaneous adipose tissue of Yellow breed× Simmental cattle. **Animal Science Journal**, Tokyo, v. 86, n. 4, p. 392–400, 2015. doi: 10.1111/asj.12316

## CAPÍTULO II

### ARTIGO – QUALITATIVE CHARACTERISTICS OF BEEF AND EXPRESSION OF LIPOGENIC GENES FROM YOUNG BULLS FED DRIED DISTILLERS GRAIN<sup>1</sup>

#### ABSTRACT

The objective was to analyze tenderness, fatty acid profile, color and expression of genes involved in lipid metabolism in the muscle of young bulls fed diets with dry distillers grain with solubles (DDGS). Forty *Longissimus thoracis* from Nellore young bulls were analyzed in a completely randomized design, with two treatments: without or with DDGS in the diet (21% DM of diet). Eight rumen-fistulated Nellore bulls received the same diets and were assigned to a cross-over design to collect samples from the omasum to analyze fatty acid profile escaping rumen-reticulum. There was an interaction between time and diet for component L\* and a higher SF. Bulls fed DDGS had higher concentration of polyunsaturated and omega 6 fatty acids in the omasum. Muscle of animals fed DDGS had higher concentration of unsaturated FA, and there was a tendency to have reduced expression of *LPL* gene. DDGS can be fed as a protein supplement while maintaining meat quality when compared with steers fed cottonseed meal.

**Keywords:** DDGS. Fatty acids. Meat color. Tenderness.

#### 1. INTRODUCTION

The rises of costs in regular feedstuffs have lead beef producers to examine more cost-effective production methods and new sources of protein and energy as dry distillers grains with solubles (DDGS). The availability of DDGS in Brazil has led to start research on their effects

---

<sup>1</sup> Artigo formatado segundo as normas do periódico **Meat Science**.



on feedlot performance and carcass quality in *Bos indicus*. Usually, DDGS is a coproduct recognized as a good source of rumen undegradable protein (UDP) (Council, 2012). However, protein availability of distillers grains can be different among ethanol industrial plants, presumably due to differences in heating (Fastinger, Latshaw, & Mahan, 2006).

When starch in corn is fermented to produce ethanol, the remaining nutrients (protein, fat and fiber) are concentrated about 3-fold. Metabolism studies suggest that fat in DDGS may be partially protected from ruminal degradation leading to greater proportion of unsaturated fatty acids at duodenum (Klopfenstein, Erickson, & Bremer, 2008). Both, fat and undegradable protein content in DDGS explain some, but not all, of the greater nutritional value of DDGS compared with corn (Klopfenstein et al., 2008).

Fatty acid composition is one of the determining factor behind fat quality, lipid oxidation rate and flavor (Wood et al., 2003). In this case, beef from cattle finished on diets containing DDGS will likely have greater concentration of PUFA and, therefore, may be more susceptible to oxidative rancidity (Koger et al., 2010). Depenbusch, Coleman, Higgins and Drouillard (2009) found that concentration of linoleic acid, total n-6 fatty acids, and total PUFA linearly increased with increasing levels of DDGS. In addition to performance, carcass and beef quality traits are also important issues when a new feed ingredient is tested. In this sense, meat color is one of the most influential factors determining beef purchases for consumers. Animal diet can affect meat glycogen storage, antioxidant accumulation and chilling rate, which may influence muscle pH, myoglobin oxidation and finally beef color (Mancini & Hunt, 2005).

Fatty acid profile in muscle is also dependent of membrane transporters and enzymes activities, which can be evaluated indirectly by gene expression analyses. According to (Smith, Gill, Lunt, & Brooks, 2009), stearoyl CoA desaturase (SCD) converts saturated fatty acids (SFA) into monounsaturated fatty acids (MUFA), also SCD converts trans-vaccenic acid to conjugated linoleic acid (CLA). Lipoprotein lipase (LPL) and fatty acid binding protein

(FABP4) activity may also be influenced by fatty acids in the muscle. According to Oliveira et al. (2014) stearic acid concentration is positively correlated with the expression of these genes.

The hypothesis of this study is that young bulls feeding DDGS may improve fatty acid profile and affect expression of genes involved in lipid metabolism, reducing lipogenesis, even with a low ether extract DDGS. Therefore, the objective was to analyze carcass traits, chemical composition, fatty acid profile, tenderness and color of beef from young bulls fed diets with or without the inclusion of low ether extract DDGS. In addition, expression of genes involved in lipid metabolism in the muscle of these young bulls were also analyzed, and fatty acid escape from the rumen.

## **2. MATERIALS AND METHODS**

Two experiments were carried out simultaneously at the Department of Animal Science of the Sao Paulo State University. The protocol used was approved by the Ethics, Committee of animal use CEUA/UNESP- Jaboticabal (protocol number 12703/15).

### *2.1. Animals, diet and slaughter*

#### **Experiment 1**

Eight rumen-fistulated Nelore bulls assigned to a cross-over design with three periods of 24 days each, received diets contained corn silage as forage in the ratio of 30:70 (forage:concentrate) and two different concentrates: one without DDGS (control) and other with the inclusion of 21% in the dry matter of DDGS (Table 1). Diets were formulated according to National Research Council (NRC, 2000) to be isonitrogenous and were given *ad libitum* to the animals at 7:30 and 15:30. This trial had the objective to collect samples from the omasum to analyze fatty acid profile escaping rumen-reticulum. Twenty-one adaption days and 3 days of data collection were used in this trial. From each animal, in each period and in eight

different time points samples were collected and lyophilized for the fatty acid profile analysis (Allen & Linton, 2007).

## **Experiment 2**

Forty Nellore young bulls with an average initial body weight of  $442 \pm 43$  kg were allotted in a completely randomized design with 2 treatments and 20 repetitions. Experimental period lasted 84 days and was preceded by an adaption period of 21 days. At the beginning of the adaption period, animals were treated for internal parasites (Doramectina 1% / Dectomax, Zoetis, Campinas, SP, Brazil). Animals were housed in individual pens with  $32 \text{ m}^2$  and received the same diets as the fistulated animals.

Animals fed with DDGS were slaughtered with 564 kg and animals fed control diet with 513 kg ( $P = 0.004$ ) by captive bolt and exsanguination, followed by hide removal and evisceration. Carcasses were identified, washed and divided into halves. Initial pH was subsequently measured at one hour post mortem, between the 12th and 13th ribs of *longissimus thoracis* (LT), using a Mettler M1120x pH meter (Mettler, Toledo International Inc., Columbus, EUA). Afterwards, the half carcasses were individually weighed and put into cold storage at  $2^\circ\text{C}$  for approximately 24 h. After cooling the carcass, final pH was measured at the same place as the initial pH was measured.

**Table 1**

Percentage of ingredients, chemical composition and percentage of fatty acids of experimental diets.

Diet	CONTROL <sup>1</sup>	DDGS <sup>2</sup>
Ingredients, % of DM		
Corn silage	30.0	30.0
DDGS	-	21.0
Cottonseed meal	16.0	-
Ground corn	42.0	34.6
Mineral mixture <sup>3</sup>	11.96	14.45
Nutrients, % of DM		
Dry matter <sup>4</sup>	73.4	73.7
Crude protein	14.2	15.1
Rumen degradable protein (%PB)	74.3	61.8
Rumen undegradable protein (%PB)	25.7	38.2
Neutral detergent fiber	21.8	31.6
Non-fiber Carbohydrate	69.3	66.1
Ether extract	1.94	2.16
Starch	42.2	36.7
Fatty acids, % of DM		
Lauric, C 12:0	2.33	0.13
Myristic, C 14:0	3.99	0.19
Myristoleic, C14:1 c9	1.34	0.054
Pentadecylic, C15:0	1.89	0.45
Palmitic, C16:0	18.8	22.9
Palmitoleic, C16:1 c9	3.77	0.51
Stearic, C 18:0	7.66	2.84
Oleic, C18:1 c9	17.3	37.2
Elaidic, C18:1 t9	1.15	0.13
Linoleic, C18:2 c9 c12	12.9	26.4
$\alpha$ -linolenic, C18:3 n3	3.92	3.67
Arachidic, C20:0	2.47	0.39
EPA, C20:5 n3	1.72	0.03
DHA, C22:6 n3	0.78	0.14

<sup>1</sup>Diet without DDGS; <sup>2</sup>Diet with 21% DDGS in DM and corn meal; <sup>3</sup>Assurance levels per kg of concentrate: CONTROL- (NDT 63%, kaolin: 7.06 g; CaCO<sub>3</sub>: 1.97 g; Urea: 1.02 g; Ca: 1.39 g; P: 0.3 g; Na: 0.35 g; Zn: 48 mg; Cu: 15.7 mg; Mg: 35.9 mg; Co: 0.92 mg; I: 0.7 mg; Se: 0.2 mg; Vitamin A: 2.600 UI; Vitamin D: 360 UI; Vitamin E: 36 mg; Fe: 66.8 mg; F: 3.34 mg; sodium monensin 23 mg). DDGS- (NDT 63%, kaolin: 8.23 g; CaCO<sub>3</sub>: 2.58 g; Urea: 1.02 g; Ca: 1.5 g; P: 0.3 g; Na: 0.36 g; Zn: 48 mg; Cu: 15.7 mg; Mg: 35.9 mg; Co: 1.21 mg; I: 7 mg; Se: 0.2 mg; Vitamin A: 2.600 UI; Vitamin D: 360 UI; Vitamin E: 36 mg; Fe: 56.75 mg; F: 12.3 mg; sodium monensin 23 mg, Bicalcium phosphate: 0.12g); <sup>4</sup>- Natural matter basis.

**Table 2**

Chemical composition of dry distillers grain.

Nutrients, % of DM	
Dry matter <sup>1</sup>	90.46
Crude protein	28.98
Rumen degradable protein (%PB)	61.8
Rumen undegradable protein (%PB)	38.2
Ashes	4.74
Ether extract	3.11
Starch	5

1- Natural matter basis.

### 2.2. Fatty acid from omasum

Lipid content from omasum were extracted from lyophilized samples according to procedure established by Shingfield et al. (2003) and methylated according to Christie (1982) with adaptations by Chouinard, Girard and Brisson (1998).

After transmethylation, omasum samples were analyzed in a gas chromatographer (Focus GC-Finnigan, Thermo Finnigan, San Jose, CA, USA), with a flame ionization detector and a capillary column SLB-IL111 with 100 m × 0.25 µm internal diameter and 0.20 µm film thickness (Supelco, Bellefonte, PA, USA). Hydrogen was used as the carrier gas at a flow rate of 2.0 mL/min. The starting programmed temperature of the oven was 70 °C, which was maintained for 4 min, followed by an increase of 13 °C/min up to 150 °C, maintained for 39 min and an increase of 10 °C/min up to 215 °C, maintenance for 10 min, 53 min in total. The vaporizer temperature was 250 °C and the detector was at 300 °C.

The different fatty acids for omasum were identified by comparison of the retention times of methyl esters in the samples with commercial standards (Supelco TM Component FAME Mix, cat 18919, Sigma Supelco, Bellefonte, PA, USA) and Conjugated Linoleic Acid, CLA, cat 05632 – Sigma Supelco, Bellefonte, PA, USA). Fatty acids were quantified by

normalizing the areas of methyl esters. Fatty acid results were expressed as percentage of the area (%) obtained using Chromquest 4.1 software (Thermo Electron. Milan. Italy).

### 2.3. Meat collection and analysis

Fat thickness was measured between the 12<sup>th</sup> and 13<sup>th</sup> ribs,  $\frac{3}{4}$  of the medial border of the LT with a graduated caliper. Rib eye area was also measured between the 12<sup>th</sup> and 13<sup>th</sup> ribs and outlined in transparency paper and determined after reading in LAI-3100 area meter (LICOR, Lincoln, NE, USA).

Twenty-four hours after the slaughter and after cooling, six 2.54 cm-thick steaks of the LT muscle were collected from the left side of the carcass from the 13<sup>th</sup> rib for chemical composition, fatty acid profile, color, thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS index), cooking loss (CL) and shear force (SF) analyses. Each steak was identified and vacuum packed in polyethylene bags (water vapor permeability  $<10 \text{ g/m}^2/24 \text{ h}$  at  $38 \text{ }^\circ\text{C}$  and oxygen permeability  $<40 \text{ mL/m}^2/24 \text{ h}$  at  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) and storage at  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  for 30 days until analysis procedure.

One of the six steaks was thawed overnight at room temperature ( $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ), ground and used to analyze beef composition (protein, ether extract, ashes and dry matter) in the Laboratory of Meat Quality at Federal University of Lavras using near infrared analyzes AOAC method: 2007-04) through the equipment Foodscan<sup>TM</sup> (FOSS, Hillerod, Denmark). Four of the six steaks were thawed at  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  overnight before aging for 0, 7, 14 and 21 days *post mortem* at  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ , and each sample was analyzed for color, CL and SF. CL was obtained as the difference between the weight of the steak before and after cooking on a pre-heated grill at  $200 \text{ }^\circ\text{C}$ . A thermometer was used to monitor the internal temperature of the steak until the center reached  $71 \text{ }^\circ\text{C}$ . Subsequently, each steak was conditioned to room temperature and after temperature stabilization the steak was weighed (AMSA, 1995).

Shear force was obtained from the same samples used for CL and analyzed in the same day. Six slices samples per steak with 1.0 x 1.0 x 2.5 cm, free of visible fat and connective tissue were obtained from the center of cooked samples with the direction of muscle fibers parallel to the length (Silva et al., 2015). Each slice was completely sheared perpendicularly to the muscle fibers with a Warner–Bratzler blade of 1.016 mm at a speed of 200 mm/min (Ramos & Gomide, 2007) using a TA.XT.plus texture analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Vienna Court, UK). Maximum force (N) was recorded and the average from six slices was used as shear force value for each animal.

The last steak was used to analyze the fatty acid profile. Muscle lipid were extracted according to the procedures established by Hara and Radin (1978) and methylated according to Christie (1982).

After transmethylation, muscle samples were analyzed in the same gas chromatographer as the omasum samples within the same program. The different fatty acids for muscle were identified by comparison of the retention times also as the omasum samples.

The  $\Delta 9$  desaturase and elongase enzyme activity indexes were calculated according to Malau-Aduli, Siebert, Bottema and Pitchford (1997). The atherogenic index was calculated according to Ulbricht and Southgate (1991) as an indicator of the risk of cardiovascular disease.

The calculations were performed as follows:

$\Delta 9$  desaturase activity 16:  $100 [(C16:1cis9)/(C16:1cis9+C16:0)]$ ;

$\Delta 9$  desaturase activity 18:  $100 [(C18:1cis9)/(C18:1cis9+C18:0)]$ ;

Elongase activity:  $100 [(C18:0+C18:1cis9)/(C16:0+C16:1cis9+ C18:0+C18:1cis9)]$ ; and

Atherogenic index:  $[C12:0 + 4(C14:0) + C16:0]/\Sigma MUFA + \Sigma PUFA$ ).

#### *2.4 Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS)*

From the steaks chosen for the TBARS analyzes, twenty gram of meat sample from each steak was thawed at 4 °C to perform analyzes in two different time points. Zero and four days were chosen in order to simulate retail display. Samples were identified, packed in polyethylene tray, overwrapped with PVC film and stored for 0 and 4 days at 4 °C. The determination of thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) was performed according to Tarladgis, Watts, Younathan and Dugan (1960) and adapted by Carvalho et al. (2014). The absorbance was measured at 530 nm in a spectrophotometer (Bel Photonics, model SP 1105, Piracicaba, Brazil). The TBARS value expressed as the mg of malonaldehyde/kg meat was obtained multiplying absorbance by 7.8.

#### *2.5. Meat color*

Determination of the L\*, a\* and b\* color components during blooming was done after thawing LT muscle samples for 12 hours in refrigerated temperature (4 °C). Beef were removed from the packaging and exposed at room temperature for 30 min for myoglobin oxygenation. Color reading was performed on the surface of steaks with a Minolta CM-700 spectrophotometric colorimeter (Konica Minolta, Osaka, Japan) and using the CIE L\*a\*b\* system, illuminant A and 10° as the standard observing point. Six readings were performed per slice and the averages were used in the statistical analysis.

#### *2.6. Gene expression analyses*

Samples for gene expression were collect in the LT from the hot carcass, stored in liquid nitrogen and immediate stored in -80 °C until analysis procedure. The design of target and reference primers was performed using sequences that are registered and published in the GenBank public data bank, a National Center for Biotechnology Information (NCBI) platform.



Primers (Table 3) were designed using the Oligo Perfect Designer software (Invitrogen, Karlsruhe, Germany).

Total RNA was extracted from the LT muscle samples using QIAzol (QIAGEN, Valencia, CA, USA) and treated with Turbo DNA-free (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). The cDNA synthesis was performed using the High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Then samples were stored at -20 °C.

For gene expression analysis by reverse-transcription quantitative PCR (RT-qPCR), the Mastercycler realplex (Eppendorf, Foster City, CA, USA) was used with the SYBR Green detection system (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). The RT-qPCR analyses for each studied gene were performed using cDNAs from 20 biological replicates with three technical replicates per biological replicate. The results were normalized using the threshold cycle (CT) method for the expression of the reference genes *β-actin* and *glyceraldehyde- 3-phosphate dehydrogenase*. A validation assay was performed to demonstrate that the amplification efficiencies of the target and reference genes were approximately equivalent. Standard curves were generated for the studied genes with the following dilutions: 1:5, 1:25, 1:125, 1:625 and 1:3125.

The relative expression levels were calculated according to the method described by Pfaffl (2001) which is based on CT values that are corrected for the amplification efficiency for each primer pair.

**Table 3**

Sequences (5' to 3') and efficiencies of the primers used in the reverse-transcription quantitative PCR (RT-qPCR).

Symbol	Name	Forward (F) and reverse (R)	Access number	Amplicon	R <sup>2</sup>	Efficiency
<i>PPARA</i>	<i>Peroxisome proliferator - activated receptor alpha</i>	F CAATGGAGATGGTGGACACA R TTGTAGGAAGTCTGCCGAGAG	NM_001034036.1	95	0.99	99.2
<i>PPARG</i>	<i>Peroxisome proliferator - activated receptor gamma</i>	F CGACCAACTGAACCCAGAGT R TCAGCGGGAAGGACTTTATG	NM_181024.2	83	0.99	99.9
<i>SREBF1</i>	<i>Sterol regulatory element Binding protein</i>	F GAGCCACCCTTCAACGAA R TGTCTTCTATGTCGGTCAGCA	NM_001113302.1	88	0.98	94.6
<i>SCD1</i>	<i>Stearoyl CoA desaturase</i>	F TTATTCGTTATGCCCTTGG R TTGTCATAAGGGCGGTATCC	NM_173959.4	83	0.98	95.8
<i>ACACA</i>	<i>Acetyl CoA carboxylase</i>	F TGAAGAAGCAATGGATGAACC R TTCAGACACGGAGCCAATAA	NM_174224.2	88	0.99	96.6
<i>LPL</i>	<i>Lipoprotein lipase</i>	F CTCAGGACTCCCGAAGACAC R GTTTTGCTGCTGTGGTTGAA	NM_001075120.1	98	0.99	96.7
<i>FABP4</i>	<i>Adipocyte-type fatty acid-binding protein</i>	F GGATGATAAGATGGTGCTGGA R ATCCCTTGGCTTATGCTCTCT	NM_174314.2	73	0.99	92.6
<i>FASN</i>	<i>Fatty acid synthase</i>	F ATCAACTCTGAGGGGCTGAA R CAACAAAACCTGGTGCTCACG	U34794.1	83	0.97	99.5
<i>ACOX</i>	<i>Acyl-coenzyme A oxidase 1</i>	F GCTGTCCTAAGGCGTTTGTG R ATGATGCTCCCCTGAAGAAA	BC102761.2	83	0.99	99.0
<i>CPT2</i>	<i>Carnitine palmitoyltransferase 2</i>	F CATGACTGTCTCTGCCATCC R ATCACTTTTGGCAGGGTTCA	BC105423.1	91	0.91	99.9
<i>β-actin</i>	<i>β-actin</i>	F GTCCACCTTCCAGCAGATGT R CAGTCCGCCTAGAAGCATTT	BC142413.1	90	0.99	100.0
<i>GAPDH</i>	<i>Glyceraldehyde 3-phosphate Dehydrogenase</i>	F CGACTTCAACAGCGACACTC R TTGTCGTACCAGGAAATGAGC	NM_001034034.1	96	0.99	101.4

### 2.7. Statistical analyses

The pH, chemical composition, fatty acid profile (meat and omasum) and enzyme indices were analyzed using PROC GLM from SAS with the treatments as the fixed effect and animal as random effect. Shear force, CL, color and lipid oxidation were analyzed using PROC MIXED procedure of SAS. For these characteristics, the model included diet and days along with their interaction as fixed effects, and animals as random effect. Animals within treatment were considered as random variable and day as a repeated measure in time.

To calculate gene expression a Shapiro-Wilk test was performed to assess the normality of all collected data. When data were not normally distributed, they were transformed using PROC RANK from SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). Then, gene expression was analyzed using PROCGLM from SAS.

Characteristics with  $P \leq 0.05$  were discussed as significant effect and  $0.05 < P \leq 0.10$  were discussed as trends.

## 3. RESULTS

The LT muscle of animals fed DDGS had greater protein and collagen content, but moisture content was the opposite, being greater in muscle of animals fed control diet. Rib eye area, ash and ether extract concentrations were not affected by treatments (Table 4).

**Table 4**

Chemical composition (%) of *longissimus thoracis* from young bulls fed dried distillers grains with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control).

Muscle Chemical Composition	Treatment		SEM	P- Value
	Control <sup>1</sup>	DDGS <sup>2</sup>		
Moisture (%)	73.4	72.7	0.22	0.04
Protein (%)	22.1	22.7	0.22	0.05
Ether extract (%)	3.03	3.07	0.17	0.87
Ashes (%)	1.37	1.43	0.11	0.69
Collagen (%)	1.33	1.49	0.04	0.01

<sup>1</sup>Diet without DDGS; <sup>2</sup>Diet with 21% DDGS in DM and corn meal.

Analysis of fatty acid showed that lauric and pentadecylic acid content was greater in the omasum and consequently in the muscle of animals fed control diet. Analysis of fatty acid escape from rumen showed that palmitoleic acid content was greater in the omasum of animals fed control diet. Muscle of young bulls fed control diet had greater concentration of myristic and palmitic acids. On the other hand, linoleic acids contents were greater in the omasum and in the muscle of animals DDGS diet. Oleic acid contents were greater in the omasum of animals DDGS diet, and there was a tendency of trans-octadecenoic acid and CLA contents to be greater in the omasum of animals fed DDGS. Concentration of arachidonic acids contents were higher in the muscle of animals fed DDGS diet. Palmitoleic, stearic, octadecenoic, oleic, CLA,  $\alpha$ -linoleic and Docosa-hexaenoic-acid (DHA) content were not different in the muscle of animals from both treatments (Table 5).

**Table 5**

Composition (%) of main fatty acids in the omasum and muscle of young bulls fed dried distillers grains with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control).

FATTY ACID	Omasum				Muscle			
	Treatment		SEM	P- Value	Treatment		SEM	P- Value
	Control <sup>1</sup>	DDG <sup>2</sup>			Control <sup>1</sup>	DDG <sup>2</sup>		
Lauric	0.15	0.12	0.005	0.01	0.07	0.06	0.003	0.02
Myristic	1.05	1.13	0.080	0.45	3.08	2.67	0.128	0.03
Myristoleic	nd	nd	-	-	0.66	0.66	0.043	0.99
Pentadecylic	0.65	0.52	0.027	0.01	0.31	0.26	0.011	0.01
Palmitic	15.4	15.0	0.38	0.39	2607	2409	0.421	0.01
Palmitoleic	0.55	0.44	0.018	0.01	3.60	3.57	0.120	0.84
Stearic	60.9	60.1	1.123	0.61	13.8	13.6	0.530	0.75
Octadecenoic	4.53	5.34	0.290	0.06	1.02	1.00	0.064	0.86
Oleic	4.01	4.72	0.198	0.02	38.5	40.2	0.758	0.12
Elaidic	0.39	0.41	0.025	0.65	0.15	0.15	0.015	0.93
Linoleic,	0.73	1.25	0.139	0.02	3.56	6.35	0.380	<0.01
CLA	0.01	0.02	0.008	0.07	0.25	0.26	0.016	0.65
$\alpha$ -linolenic	0.01	nd	-	-	0.21	0.22	0.015	0.56
Arachidic	nd	nd	-	-	0.02	nd	0.004	0.01
Arachidonic	nd	nd	-	-	0.82	1.13	0.098	0.03
EPA	nd	nd	-	-	nd	nd	-	-
DHA	nd	nd	-	-	0.05	0.07	0.008	0.23

<sup>1</sup>Diet without DDGS; <sup>2</sup>Diet with 21% DDGS in DM and corn meal.

Omasum and consequently muscle of animals fed DDGS had greater concentration of polyunsaturated and omega 6. Muscle of animals fed DDGS had greater concentration of unsaturated, omega 6/omega 3 ratio. Concentration of saturated acids and unsaturated/saturated ratio was greater in the muscle of animals fed control diet (Table 6).

**Table 6**

Proportion of fatty acids (%) in the omasum and muscle of young bulls fed dried distillers grains with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control).

FATTY ACID	Omasum				Muscle			
	Treatment		SEM	P- Value	Treatment		SEM	P- Value
	Control <sup>1</sup>	DDG <sup>2</sup>			Control <sup>1</sup>	DDG <sup>2</sup>		
∑ Saturated	80.1	79.9	0.662	0.84	45.73	42.32	0.761	0.01
∑ Unsaturated	18.6	19.4	0.603	0.36	53.05	56.57	0.738	0.01
∑UFA/ ∑SFA	0.24	0.24	0.009	0.65	1.71	1.35	0.039	0.01
∑ Monounsaturated	17.93	18.23	0.488	0.67	47.02	48.02	0.892	0.43
∑ Polyunsaturated	0.74	1.26	0.124	0.01	5.36	8.58	0.532	0.01
∑ Omega 3	0.01	0.01	0.005	0.49	0.26	0.29	0.019	0.33
∑ Omega 6	0.67	1.2	0.112	0.01	4.39	7.49	0.471	<0.01
∑ Omega 6/ ∑Omega 3	6.42	20.0	6.44	0.15	16.11	25.15	0.816	<0.01

Muscle of animals fed DDGS had greater concentration of elongase activity and the atherogenicity index was greater in the muscle of animals fed control diet (Table 7).

**Table 7**

Indices of enzymes involved in fatty acid metabolism and atherogenic index of muscle of young bulls fed dried distillers grains with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control).

FATTY ACID	Treatment		SEM	P- Value
	CONTROL <sup>1</sup>	DDG <sup>2</sup>		
Δ9 desaturase 16	11.76	12.20	0.372	0.40
Δ9 desaturase 18	73.94	74.55	0.916	0.88
Elongase	63.47	65.23	0.484	0.02
Atherogenicity index	0.73	0.64	0.026	0.02

<sup>1</sup>Diet without DDGS; <sup>2</sup>Diet with 21% DDGS in DM and corn meal.

Δ9-desaturase activity 16: 100 [(C16:1cis9)/(C16:1cis9+C16:0)];

Δ9-desaturase activity 18: 100 [(C18:1cis9)/(C18:1cis9+C18:0)];

Elongase activity: 100 [(C18:0+C18:1cis9)/(C16:0+C16:1cis9+C18:0+C18:1cis9)];

Atherogenicity activity: [C12:0+4(C14:0)+C16:0]/∑MUFA + ∑PUFA).

Beef from animals fed DDGS did not differ in lipid oxidation compared with muscle from animals fed control diets. However, beefs in day 0 were less oxidated compared with the analyses done 4 days after (Figure 3).

There were no treatment effect in expression of *PPARA*, *PPARG*, *SREBF1*, *FABP4*, *ACACA*, *FASN*, *SCD1* and *ACOX*. However, muscle of animals fed DDGS diet had lesser expression of *LPL* and tended to increase the expression of *CPT2* (Figure 4).

There was an interaction between aging time and diet for  $L^*$  in muscle from animals fed DDGS (Figure 1A). Muscle of animals fed DDGS had higher  $L^*$  during 14 days of aging then values dropped, and, muscle of animals fed control had higher  $L^*$  values after 7 days then values dropped. When  $a^*$  and  $b^*$  were evaluated, muscle from animals fed DDGS tended to have higher  $a^*$  and had higher  $b^*$  compared with steaks from animals fed control diet. Components  $a^*$  decreased until 7 days for both treatments and then started to increase, and component  $b^*$  decreased until 7 days for control and 14 days for DDGS then started to increase (Figure 1B and 1C).

Muscle from animals fed DDGS had greater SF and CL compared to animals fed control diet (Figure 2). SF was affected by aging time, decreasing during 21 days of aging time (Figure 2A) and CL also was affected by aging time, increasing after 7 days of aging time in muscle of animals fed DDGS and decreasing after 7 days of aging time in muscle of animals fed control diet.

#### **4. DISCUSSION**

Chemical composition of bovine muscles is relatively constant (approximately 75% water, 19 to 25% protein and 1 to 2% minerals), and the greatest variability observed is usually in lipid content (Geay, Bauchart, Hocquette, & Culioli, 2001). In this study, as usually expected, the variation in protein and moisture was proportional, when moisture was greater in control

diet, protein content was lesser, and the opposite happened, when moisture was lesser in DDGS, protein content was greater. Different results were reported by Segers et al. (2011) that found no differences in moisture, protein, or lipid in steers were fed with DDGS as a protein source. Also, Aldai, Aalhus, Dugan, Robertson, McAllister, Walter and McKinnon (2010), reported no difference in beef lean tissue composition when corn, wheat dried distillers grains, or a barley-based finishing diets were fed to beef cattle.

The absence of difference in the ether extract content of muscle can be explained by the lack of diet effect on expression of genes linked to lipogenesis and lipolysis. Intramuscular fat content is the result between synthesis, muscle uptake and degradation, and gene expression results show that these mechanisms were acting in a similar way. *PPARA* regulates lipid metabolism, being responsible for the synthesis and the  $\beta$ -oxidation of fatty acids in the muscle (Bionaz, Chen, Khan, & Loo, 2013), *PPARG* is essential for adipogenesis (Obsen et al., 2012) and *SREBF1* is associated with regulation of lipogenesis (Harvatine, & Bauman, 2006). As no difference in these three transcription factors were found in this study (Figure 4), probably lipogenesis and lipolysis were similar in muscle of both groups, and also that may result in no differences in other genes expression. For example, genes related to the fatty acids synthesis in the muscle, (*ACACA*, *FASN* and *SCD1*), and genes related to fatty acid degradation in the muscle (*ACOX*) had no difference on their mRNA abundance.

The greater concentration of PUFA in the omasum of young bulls fed DDGS and consequently in the muscle of those animals, was probably due to the greater concentration of linoleic acid in DDGS diet. These differences are largely attributed to increased quantities of the C18:2 *cis* 9, *cis*-12 by approximately 78.4% in beef from animals fed DDGS. There was also an increase of 71.2% of this fatty acid in the omasum of DDGS fed animals. DDGS is a coproduct resulted from corn ethanol plant where starch content of the corn is hydrolyzed and fermented to alcohol to be used as energy source. Therefore, the final starch content of DDGS



is 5%, and there is an increase in other nutrient such as protein, fiber and ether extract. However, the DDGS used in this study had low ether extract, due to its original process and the EE content of the corn used to produce ethanol. It is possible to see the efficiency of the muscle to use or uptake PUFA due to the large difference on its concentration in omasum and muscle. Fatty acids absorbed in the intestine may be taken up to be used in intramuscular fat or subcutaneous tissue, in this case, more PUFA was taken up by muscle while SFA went to subcutaneous.

Muscle from animals fed DDGS had lower lauric, myristic and palmitic acids, which is beneficial for human health, because they are considerate hypercholesterolemic (Vahmani et al., 2015). According to French, O'Riordan, Monahan, Caffery and Moloney (2003), myristic acid is the most undesirable SFA for human health, along with lauric and palmitic acid. According to Woollett, Spady and Dietschy (1992), the fatty acids act on LDL receptors in the liver, thereby reducing uptake of LDL from plasma. Also the atherogenicity index was smaller in animals fed low ether extract DDGS diets, which demonstrate a better fatty acid profile of the muscle when it was used.

The greater amounts of hypercholesterolemic fatty acids in the beef from bulls fed control diet can be due to the lower UFA concentration. In other words, UFA from DDGS diluted muscle SFA content. Similar results were observed in Koger et al. (2010) and Segers et al. (2011) study, using DDGS to finishing steers.

The n-6 and n-3 fatty acids are known for their effects on human health (Gill, Van Overbeke, Depenbusch, Drouillard, & DiCostanzo, 2008). Therefore, the balance of n-6 to n-3 fatty acids is an important determinant in reducing the risk of inflammatory and autoimmune disorders such as diabetes, CHD, hypertension, diabetes and arthritis (Vahmani et al., 2015). DDGS was able to reduce hypercholesterolemic fatty acids, but acted increasing n-6:n-3 ratio since DDGS diet had low EPA and DHA. However, results of this study were above the ratio

considered ideal, according to the Department of Health (1994), the ideal omega-6:omega-3 ratio must be between 4:1 and 5:1.

CLA *cis*- 9, *trans*- 11 is other important fatty acid for human health and it is produced, in the rumen, as an intermediate of biohydrogenation (Bauman, Baumgard, Corl, & Griinari, 2000) or, in the muscle, by the action of SCD (Smith et al., 2006). Therefore, an explanation for the absence of difference of CLA *cis* 9, *trans*-11 content in the muscle is due to no difference in the expression of *SCD1*, since this encode the enzyme that converts trans-vaccenic acid to CLA. In addition, the lack of difference on trans octadecenoic acids also explain this result. This observation are in agreement with previous studies by Gill et al. (2008), Koger et al. (2010) and Segers et al. (2011), showing that the use of DDG in feedlot diets has few or no effect on CLA content.

The greater expression of *LPL* in LT muscles of animals fed control diet can be due to the difference in the composition of fatty acids in the muscle tissue, once ether extract were similar in both diets (Table 1). According to Wang, Kuksis and Manganaro (1982) and Oliveira et al. (2014), *LPL* expression is regulated by fatty acids. The greater concentration of linoleic and arachidonic acid in muscle of bulls fed DDGS diets may explain *LPL* expression results. Joseph, Pratt, Pavan, Rekaya and Duckett (2010) examining changes in expression of genes involved in lipogenesis in bovine adipose tissues from animals fed corn oil (57% C18:2 n-6) showed that adding 0.31 kg/d of oil supplementation down-regulates gene expression of *LPL*.

Lipid oxidation, increased over time as indicated by TBARS concentrations. Similarly of this trial, Depenbusch et al. (2009) did not found difference among increasing DDGS in lipid oxidation, compared with steam-flaked corn. Similarly, Segers et al. (2011), working with steers fed DDGS did not found significance effect. However, Gill et al. (2008) found greater lipid oxidation in the muscle from animals fed DDGS at 15% of the DM diet and attributed this result to the increased in PUFA concentrations in the muscle. Likewise, Koger et al. (2010)

concluded that beef from cattle finished on diets containing DDGS will likely have a greater proportion of PUFA and therefore may be more susceptible to oxidative rancidity. Even though there was a greater concentration of PUFA in the muscle of animals fed DDGS in the present study, TBARS was not affected and one explanation is the low concentration of ether extract in muscles, compared to the other studies mentioned above.

Despite an increase in oxidation during aging time, this meat is considered acceptable for consumption. According to (Tarladgis et al., 1960), TBARS value of approximately 0.5 mg of malonaldehyde/kg of meat can be considered the threshold for acceptable meat, and above this value indicates a level of lipid oxidation products, which can be detected by consumers.

Meat color is mainly determined by the concentration of pigment and chemical state of the heme group (Mancini & Hunt, 2005). In this study, L\* values changed over the display period (aging time), probably due to myoglobin oxidation. According to Faustman and Cassens (1990) and McKenna et al. (2005) the decline of the meat color indices over the aging period can be attributed to the oxidation of myoglobin (deoxymyoglobin or oxymyoglobin) to metmyoglobin, probably due to decreased metmyoglobin reducing activity, resulting in metmyoglobin accumulation in meat. Depenbusch et al. (2009) only reported darker color in steaks from heifers fed DDGS at 45% of diet DM. Data from our study also agree with those of Gill et al. (2008), who noted lighter color from cattle fed DDGS than cattle fed no distillers grains. Koger et al. (2010) reported that beef from cattle fed distillers grains were redder than beef from cattle fed no distillers grains, which is in agreement with the present study, that showed a tendency for meat to be redder with the inclusion of DDGS.

Results of Smith, Crouse, Mandigo and Neer (1977) and Coleman et al. (1995) indicated that tenderness, as measured by SF, is sensitive to diet effects. According to Koohmaraie (1992), 85% of tenderness variation can be due to enzymatic process variation established during aging time process. Along with diet and aging time, final muscle pH can influence meat

tenderness, as observed in the present study. The muscle final pH from animals fed DDGS was lower, therefore more free water was available to lose, that may be the reason for beef to become less tender (Lobo-Jr et al., 2012). However, Roeber, Gill and DiCostanzo (2005), Gill et al. (2008), Koger et al. (2010) and Segers et al. (2011), reported no differences in SF values of beefs from steers fed diets with or without distillers grains.

## 5. CONCLUSION

This study suggests that dried distillers grains plus solubles with low ether extract increases beef quality by improving fatty acid profile and color. In addition, the use of this ingredient with low EE concentration is not able to change expression of most genes involved in lipid metabolism.

## REFERENCES

- Aldai, N., Aalhus, J., Dugan, M., Robertson, W., McAllister, T., Walter, L., & McKinnon, J. (2010). Comparison of wheat-versus corn-based dried distillers' grains with solubles on meat quality of feedlot cattle. *Meat Science*, 84(3), 569–577.
- Allen, M. S., & Linton, J. A. V. (2007). *In vivo methods to measure digestibility and digestion kinetics of feed fractions in the rumen*. Paper presented at the Simpósio Internacional Avanços em Técnicas de Pesquisa em Nutrição de Ruminantes, São Paulo, SP.
- AMSA, A. M. S. A.-. (1995). *Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness Measurements of fresh meat*. Chicago: American Meat Science Association (AMSA) & National Live Stock and Meat Board.
- Bauman, D., Baumgard, L., Corl, B., & Griinari, d. J. (2000). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Journal of Animal Science*, 77(E-Suppl), 1-15.

- Bionaz, M., Chen, S., Khan, M. J., & Loor, J. J. (2013). Functional Role of PPARs in Ruminants: Potential Targets for Fine-Tuning Metabolism during Growth and Lactation. *PPAR Research*, Article ID 684159, 1–28.
- Carvalho, J., Chizzotti, M., Ramos, E., Neto, O. M., Lanna, D., Lopes, L., ... Ladeira, M. (2014). Qualitative characteristics of meat from young bulls fed different levels of crude glycerin. *Meat Science*, 96(2), 977-983.
- Chouinard, P., Girard, V., & Brisson, G. (1998). Fatty Acid Profile and Physical Properties of Milk Fat from Cows fed Calcium Salts of Fatty Acids with Varying Unsaturation<sup>1</sup>. *Journal of Dairy Science*, 81(2), 471-481.
- Christie, W. W. (1982). A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters. *Journal of Lipid Research*, 23(7), 1072-1075.
- Coleman, S., Gallavan, R., Williams, C., Phillips, W., Volesky, J., Rodriguez, S., & Bennett, G. (1995). Silage or limit-fed grain growing diets for steers: I. Growth and carcass quality. *Journal of Animal Science*, 73(9), 2609-2620.
- Council. U. S. Grains Council. (2012). *A guide to distiller's dried grains with solubles (DDGS)*. Disponible en: <[http://www.ddgs.umn.edu/prod/groups/cfans/@pub/@cfans/@ansci/documents/asset/cfans\\_asset\\_417244.pdf](http://www.ddgs.umn.edu/prod/groups/cfans/@pub/@cfans/@ansci/documents/asset/cfans_asset_417244.pdf)>. Access: 27 Set. 2017.
- Depenbusch, B. E., Coleman, C. M., Higgins, J. J., & Drouillard, J. S. (2009). Effects of increasing levels of dried corn distillers grains with solubles on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of yearling heifers<sup>1</sup>. *Journal of Animal Science*, 87(8), 2653-2663. doi: 10.2527/jas.2008-1496
- Fastinger, N. D., Latshaw, J., & Mahan, D. (2006). Amino acid availability and true metabolizable energy content of corn distillers dried grains with solubles in adult cecectomized roosters. *Poultry Science*, 85(7), 1212-1216.

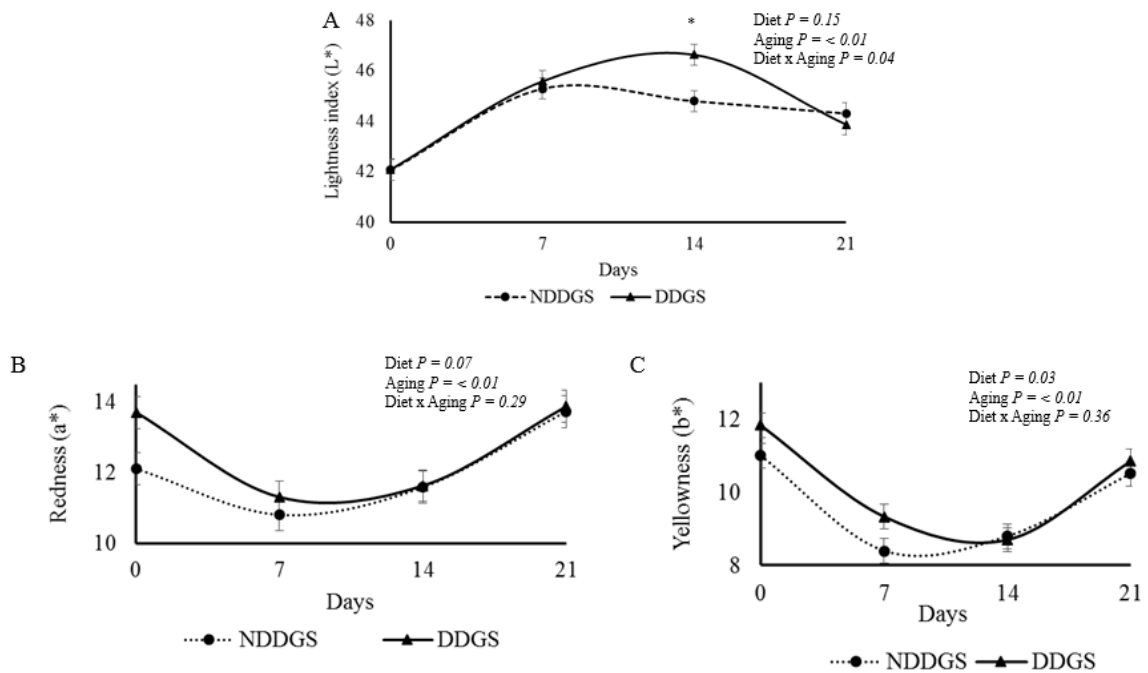
- Faustman, C., & Cassens, R. (1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat: a review. *Journal of Muscle Foods*, 1(3), 217-243.
- French, P., O'Riordan, E. G., Monahan, F. J., Caffery, P. J., & Moloney, A. P. (2003). Fatty acid composition of intra-muscular triacylglycerols of steers fed autumn grass and concentrates. *Livestock Production Science*, 81.
- Geay, Y., Bauchart, D., Hocquette, J. F., & Culioli, J. (2001). Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. *Reproduction Nutrition Development*, 41(1), 1-26.
- Gill, R., Van Overbeke, D., Depenbusch, B., Drouillard, J., & DiCostanzo, A. (2008). Impact of beef cattle diets containing corn or sorghum distillers grains on beef color, fatty acid profiles, and sensory attributes<sup>12</sup>. *Journal of Animal Science*, 86(4), 923-935.
- Hara, A., & Radin, N. S. (1978). Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Analytical Biochemistry*, 90(1), 420-426.
- Harvatine, K., & Bauman, D. (2006). SREBP1 and thyroid hormone responsive spot 14 (S14) are involved in the regulation of bovine mammary lipid synthesis during diet-induced milk fat depression and treatment with CLA. *The Journal of Nutrition*, 136(10), 2468 - 2474.
- Joseph, S. J., Pratt, S. L., Pavan, E., Rekaya, R., & Duckett, S. K. (2010). Omega-6 fat supplementation alters lipogenic gene expression in bovine subcutaneous adipose tissue. *Gene Regulation and Systems Biology*, 4, GRSB. S5831.
- Klopfenstein, T. J., Erickson, G. E., & Bremer, V. R. (2008). Board-invited review: Use of distillers by-products in the beef cattle feeding industry<sup>1</sup>. *Journal of Animal Science*, 86(5), 1223-1231.

- Koger, T. J., Wulf, D., Weaver, A., Wright, C., Tjardes, K., Mateo, K., ... Smart, A. (2010). Influence of feeding various quantities of wet and dry distillers grains to finishing steers on carcass characteristics, meat quality, retail-case life of ground beef, and fatty acid profile of longissimus muscle. *Journal of Animal Science*, 88(10), 3399-3408.
- Koohmaraie, M. (1992). The role of Ca<sup>2+</sup>-dependent proteases (calpains) in postmortem proteolysis and meat tenderness. *Biochimie*, 74, 239.
- Lobo-Jr, A., Delgado, E., Mourão, G., Pedreira, A., Berndt, A., & Demarchi, J. (2012). Interaction of dietary vitamin D3 and sunlight exposure on B. indicus cattle: Animal performance, carcass traits, and meat quality. *Livestock Science*, 145(1), 196-204.
- Malau-Aduli, A., Siebert, B., Bottema, C., & Pitchford, W. (1997). A comparison of the fatty acid composition of triacylglycerols in adipose tissue from Limousin and Jersey cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, 48(5), 715-722.
- Mancini, R., & Hunt, M. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71(1), 100-121.
- McKenna, D., Mies, P., Baird, B., Pfeiffer, K., Ellebracht, J., & Savell, J. (2005). Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. *Meat Science*, 70(4), 665-682.
- NRC. (2000). *Nutrient Requirements of Beef Cattle* (updated 7th ed.). Washington, DC, USA: National Academy Press.
- Obsen, T., Faergeman, N. J., Chung, S., Martinez, K., Gobern, S., Loreau, O., ... McIntosh, M. (2012). Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases de novo lipid synthesis in human adipocytes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 23(6), 580-590.
- Oliveira, D. M., Chalfun-Junior, A., Chizzotti, M. L., Barreto, H. G., Coelho, T. C., Paiva, L. V., ... Ladeira, M. M. (2014). Expression of genes involved in lipid metabolism in the muscle of beef cattle fed soybean or rumen-protected fat, with or without monensin supplementation. *Journal of Animal Science*, 92(12), 5426-5436.

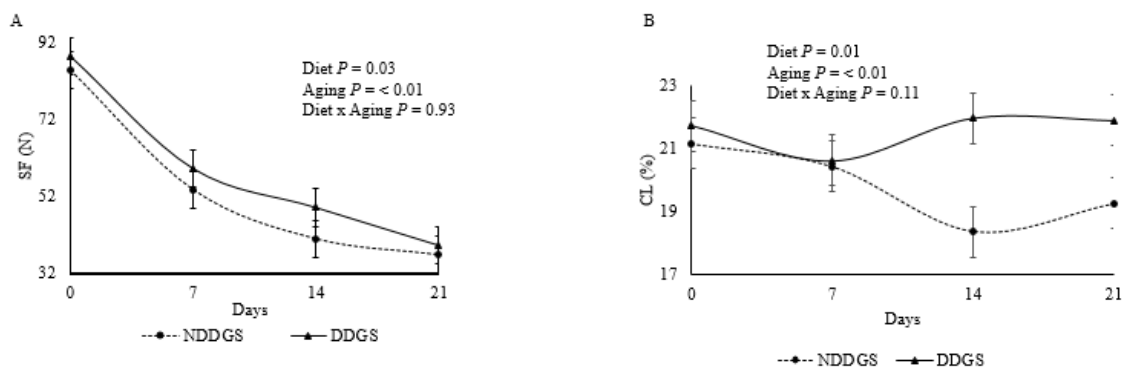
- Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research*, 29(9), e45.
- Ramos, E. M., & Gomide, L. A. M. (2007). *Avaliação da qualidade de carne: fundamentos e metodologias*. E. M. Ramos (Ed.) (pp. 599).
- Roeber, D., Gill, R., & DiCostanzo, A. (2005). Meat quality responses to feeding distiller's grains to finishing Holstein steers. *Journal of Animal Science*, 83(10), 2455-2460.
- Segers, J., Stewart, R., Lents, C., Pringle, T., Froetschel, M., Lowe, B., ... Stelzleni, A. (2011). Effect of long-term corn by-product feeding on beef quality, strip loin fatty acid profiles, and shelf life. *Journal of Animal Science*, 89(11), 3792-3802.
- Shingfield, K., Ahvenjärvi, S., Toivonen, V., Ärölä, A., Nurmela, K., Huhtanen, P., & Griinari, J. M. (2003). Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Animal Science*, 77(1), 165-179.
- Silva, D. R. G., Torres Filho, R. A., Cazedey, H. P., Fontes, P. R., Ramos, A. L. S., & Ramos, E. M. (2015). Comparison of Warner–Bratzler shear force values between round and square cross-section cores from cooked beef and pork Longissimus muscle. *Meat Science*, 103, 1-6.
- Smith, G. M., Crouse, J., Mandigo, R., & Neer, K. L. (1977). Influence of feeding regime and biological type on growth, composition and palatability of steers. *Journal of Animal Science*, 45(2), 236-253.
- Smith, S. B., Gill, C. A., Lunt, D. K., & Brooks, M. A. (2009). Regulation of fat and fatty acid composition in beef cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 22(9), 1225-1233.
- Smith, S. B., Lunt, D. K., Chung, K. Y., Choi, C. B., Tume, R. K., & Zembayashi, M. (2006). Adiposity, fatty acid composition, and delta-9 desaturase activity during growth in beef cattle. *Animal Science Journal*, 77(5), 478-486.



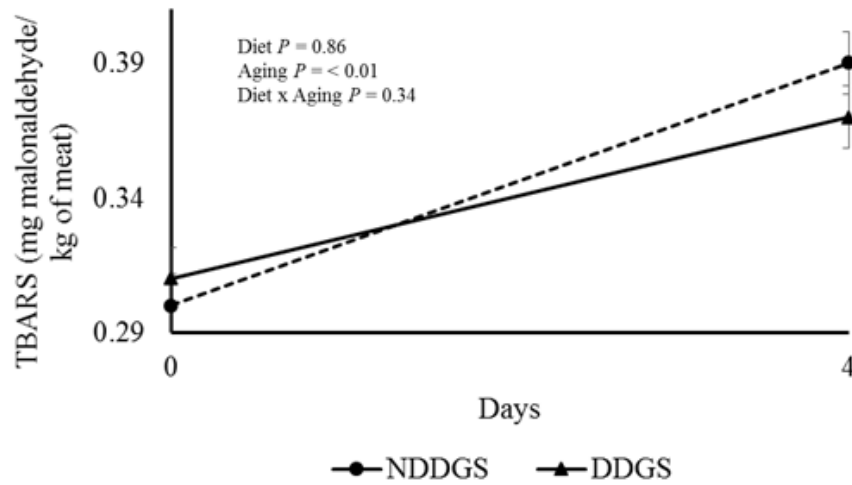
- Tarladgis, B. G., Watts, B. M., Younathan, M. T., & Dugan, L. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. [journal article]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 37(1), 44-48.
- Ulbricht, T., & Southgate, D. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*, 338(8773), 985-992.
- Vahmani, P., Mapiye, C., Prieto, N., Rolland, D. C., McAllister, T. A., Aalhus, J. L., & Dugan, M. E. (2015). The scope for manipulating the polyunsaturated fatty acid content of beef: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 6(1), 1.
- Wang, C.-S., Kuksis, A., & Mangano, F. (1982). Studies on the substrate specificity of purified human milk lipoprotein lipase. *Lipids*, 17(4), 278-284.
- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., ... Enser, M. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: review. *Meat Science*, 66(1), 21-32.
- Woollett, L. A., Spady, D. K., & Dietschy, J. M. (1992). Saturated and unsaturated fatty acids independently regulate low density lipoprotein receptor activity and production rate. *Journal of Lipid Research*, 33(1), 77-88.



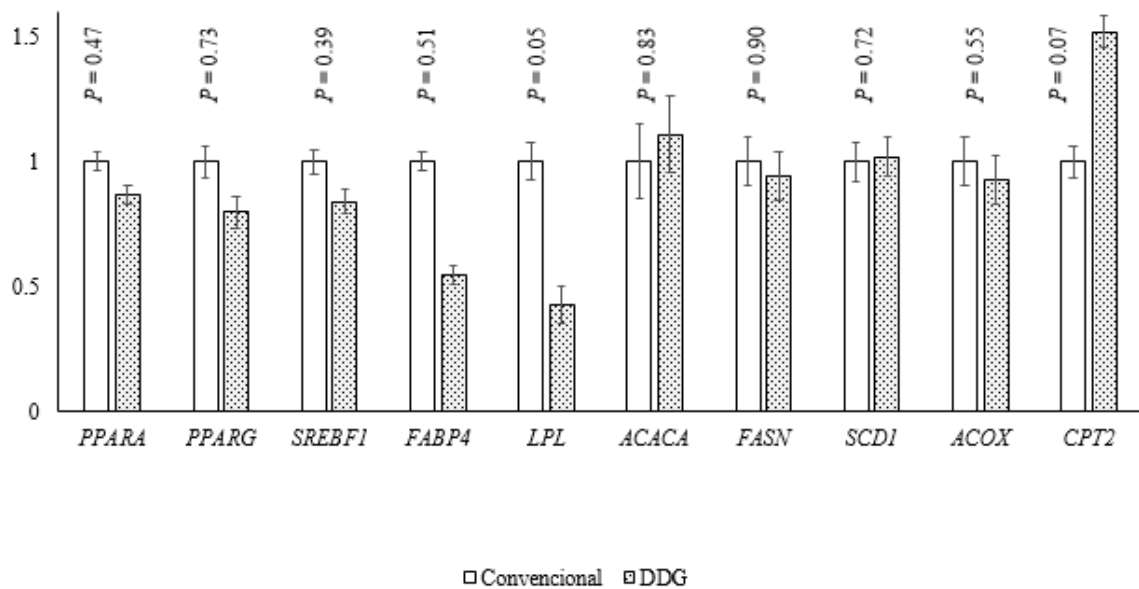
**Fig. 1.** A- Lightness index ( $L^*$ ), B- redness ( $a^*$ ) and C- yellowness ( $b^*$ ) of meat from young bulls fed dried distillers grain with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control) on different aging times.



**Fig. 2.** A- Shear force (SF) and B- Cooking loss (CL) of meat from young bulls fed dried distillers grain with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control) on different aging times.



**Fig. 3.** Lipid oxidation of meat from young bulls fed dried distillers grain with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control) on different aging times.



**Fig. 4.** Gene expression of the muscle of young bulls fed dried distillers grains with solubles (DDGS) or a diet without distillers grain with solubles (Control).