

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

REAVALIANDO O BALANÇO DOS NUTRIENTES, DA ENERGIA E A
DIGESTIBILIDADE DOS AMINOÁCIDOS DE ALGUNS INGREDIENTES, NA
PRESENÇA OU NÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS, EM FRANGOS DE CORTE

ROBERT GUARACY APARECIDO CARDOSO ARAUJO

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Zootecnia como parte das exigências para
obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

BOTUCATU - SP

JULHO/2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

REAVALIANDO O BALANÇO DOS NUTRIENTES, DA ENERGIA E A
DIGESTIBILIDADE DOS AMINOÁCIDOS DE ALGUNS INGREDIENTES, NA
PRESENÇA OU NÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS, EM FRANGOS DE CORTE

ROBERT GUARACY APARECIDO CARDOSO ARAUJO

Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Zootecnia como parte das exigências para
obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

BOTUCATU - SP

JULHO/2020

A663r

Araujo, Robert Guaracy Aparecido Cardoso

Reavaliando o balanço dos nutrientes, da energia e a digestibilidade dos aminoácidos de alguns ingredientes, na presença ou não de enzimas exógenas, em frangos de corte / Robert Guaracy Aparecido Cardoso Araujo. -- Botucatu, 2020

94 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientador: Messias Alves da Trindade Neto

1. coeficiente de digestibilidade. 2. energia metabolizável. 3. enzimas exógenas. 4. ingredientes alternativos. 5. monogástricos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Robert Guaracy Aparecido Cardoso Araujo - Nascido em 09 de Fevereiro de 1991, na cidade de Sorocaba/SP - Brasil, filho de Nilza Cardoso da Silva e Guaracy Araujo. Em Dezembro de 2014, concluiu a graduação em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita filho” - UNESP - Campus de Dracena/Brasil. Em Março de 2015, iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Animal, área de concentração Produção Animal na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Programa interunidades do campus de Dracena e Ilha Solteira, realizando estudo na área de “Nutrição e Produção Animal”. Em março de 2017 iniciou o curso de Doutorado em Zootecnia da UNESP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Campus de Botucatu, com ênfase em Nutrição e Produção Animal. Em Julho de 2020 realizou a defesa de sua tese.

Dedicatória

À minha mãe Nilza, pelo amor, paciência, ensinamentos de vida e espelho profissional, que mesmo diante de todas as minhas dificuldades e fraquezas é a pessoa que mais acreditou em meus planos e trajetória que eu escolhi, foram suas orações que sempre me guiaram.

Aos meus irmãos Claudilenia, Cesania e Donisete, pelo amor, ensinamentos e exemplos de doçura e paz.

Com muito amor e gratidão,

DEDICO

Agradecimentos

À Deus, pelo dom da vida, por me proteger e dar forças para seguir em frente; é a ele que entrego as rédeas da minha vida. Obrigado Pai.

À minha mãe Nilza Cardoso, que é meu exemplo de vida, obrigado pelo mais belo e puro amor incondicional, cada momento ao seu lado vale mais que toda eternidade. Se hoje ergo minha cabeça e olho sempre para o horizonte é porque meus olhos refletem a você.

Ao meu amado pai Guaracy Araujo, por sempre me apoiar e acreditar nos meus objetivos e que mesmo sempre distante esteve ao meu lado me dando forças para continuar.

Aos meus irmãos que são meus heróis, obrigado por me aceitarem e deixarem fazer parte da vida de vocês. Eu não consigo encontrar uma palavra para descrever o que vocês representam para mim. Obrigado pelos momentos de alegria e companherismo. Aos demais familiares, por sempre acreditarem em mim e em meus sonhos e torcerem verdadeiramente pelo meu sucesso e felicidade.

Ao professor e orientador Dr. Messias Alves da Trindade Neto, pela confiança, ensinamentos éticos, morais, pessoais e profissionais, pela amizade, muita paciência, pelos conselhos e principalmente, pela oportunidade em orientação no doutorado. De todo meu coração, meu muito obrigado!

Ao Prof. Dr. José Roberto Sartori, obrigado pela amizade, conselhos, e ensinamentos, que sem dúvida nenhuma me levaram a um grande enriquecimento profissional e pessoal e, com certeza mais sede de conhecimento.

À toda equipe do Laboratório de Nutrição de Aves - LabAves, alunos de graduação e pós-graduação: Armando Carlos Contin Neto, Cassio Yutto Oura, Daniele Santos de Souza, Everton Moreno Muro, Fernanda Kaiser de Lima, Guilherme Aguiar Mateus Pasquali, Gustavo De Martino Barbosa, Jéssica Moraes Cruvinel, Juliana Célia Denadai, Julianna dos Santos

Batistioli, Laura Granero, Leonardo Henrique Zanetti, Livia Carrasco Dornelas, Mariana Poletto, Priscila Michelin Groff-Urayama, Raimundo Gonçalves Ferreira Netto, Tatiane Souza dos Santos, à todos vocês meu reconhecimento e gratidão, sem vocês nada disso seria possível!

Às funcionárias do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Cláudia Cristina Moreci e Ellen Casseiro Guilhen.

Ao Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, pela oportunidade e devida atenção.

Ao Laboratório de Alimentos e Bromatologia da Universidade de São Paulo - USP - Pirassununga - SP, pela contribuição na execução das análises laboratoriais: Ana, Renata, Simi e Éder.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro (Processo 2016/07352-8).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código de Financiamento 001, sem a qual não seria possível a execução deste trabalho.

À todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, que de alguma forma contribuíram com meu crescimento profissional e pessoal.

Aos membros da minha banca de qualificação e defesa, Prof. Dr. José Roberto Sartori, Dra. Juliana Célia Denadai, Prof. Dr. Everton Moreno Muro e Profa. Dra. Connie Gallardo Vela, pelas considerações importantes que contribuíram muito para a melhoria do meu trabalho.

À todos os funcionários da UNESP de Botucatu.

E a todos os demais que torceram por mim nesta fase tão importante da minha vida e que neste momento de emoção me falha a memória, serei eternamente grato!

À todos vocês, muito obrigado!

“...O meu pai foi peão

Minha mãe solidão

Meus irmãos

Perderam-se na vida

A custas de aventuras

Descasei, joguei

Investi, desisti

Se há sorte

Eu não sei

Nunca vi...”

Renato teixeira

*"Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida,
a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força,
muita determinação e sempre faça tudo com muito amor
e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá.*

De alguma maneira você chega lá."

Ayrton Senna

Lista de figura

Figura 1. Fracionamento das perdas endógenas.....	18
---	----

Lista de tabelas

Tabela 1. Composição bromatológica do farelo de arroz integral e farelo de canola testados em frangos de corte dos 28 aos 35 dias de idade.....	39
Tabela 2. Composição das dietas usadas nos ensaios de digestibilidade para coleta total de excretas e ileal.....	40
Tabela 3. Balanço nutricional aparente do farelo de arroz integral, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte.....	45
Tabela 4. Coeficiente de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos do farelo de arroz integral, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.....	46
Tabela 5. Coeficiente de digestibilidade ileal standardizado dos aminoácidos do farelo de arroz integral, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.....	47
Tabela 6. Balanço nutricional aparente do farelo de canola, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte.....	49
Tabela 7. Coeficiente de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos do farelo de canola, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.....	50
Tabela 8. Coeficiente de digestibilidade ileal standardizada dos aminoácidos do farelo de canola, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.....	51
Tabela 9. Composição bromatológica do farelo de girassol e farelo de linhaça testados em frangos de corte dos 28 aos 35 dias de idade.....	69
Tabela 10. Composição das dietas usadas nos ensaios de digestibilidade para coleta total de excretas e ileal.....	70
Tabela 11. Balanço nutricional aparente do farelo de girassol, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte.....	76
Tabela 12. Coficiente de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos do farelo de girassol, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.....	77

Tabela 13. Coeficiente de digestibilidade ileal estandardizada dos aminoácidos do farelo de girassol, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.....	78
Tabela 14. Balanço nutricional aparente do farelo de linhaça, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte.....	80
Tabela 15. Coeficiente de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos do farelo de linhaça, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.....	81
Tabela 16. Coeficiente de digestibilidade ileal estandardizada dos aminoácidos do farelo de linhaça, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.....	82

Sumário

CAPÍTULO 1.....	15
1. Considerações iniciais.....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Digestibilidade em frangos de corte.....	17
2.2 Uso de ingredientes alternativos.....	19
2.3 Fitase na nutrição de frangos de corte.....	21
2.4 Carboidrases na nutrição de frangos de corte.....	22
3. Referências Bibliográficas.....	24
CAPÍTULO 2 - Balanço de nutrientes, uso de energia, digestibilidade ileal dos aminoácidos do farelo de arroz integral e farelo de canola, na presença de multi-carboidrase e fitase, em frangos de corte.....	34
1. Introdução.....	36
2. Material e Métodos.....	37
3. Resultados.....	44
4. Discussão.....	52
5. Referências bibliográficas.....	57
CAPÍTULO 3 - Balanço dos nutrientes, da energia e a digestibilidade ileal dos aminoácidos do farelo de girassol e farelo de linhaça, com ou sem suplementação de multi-carboidrase e fitase, em frangos de corte.....	64
1. Introdução.....	66
2. Material e Métodos.....	67
3. Resultados.....	74
4. Discussão.....	83
5. Referências bibliográficas.....	87

IMPLICAÇÕES.....	93
Anexo 1.....	94

Reavaliando o balanço dos nutrientes, da energia e a digestibilidade dos aminoácidos de alguns ingredientes, na presença ou não de enzimas exógenas, em frangos de corte

Resumo: Objetivo deste estudo foi determinar os efeitos da inclusão de enzimas exógenas na digestibilidade do farelo de arroz integral, farelo de canola, farelo de girassol e farelo de linhaça em frango de corte. No experimento 1, avaliou-se o balanço nutricional e uso aparente de energia e no experimento 2 avaliou-se a digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos. Foram utilizados 344 frangos machos foram usados entre 21º e 35º dias de idade, os quais receberam as dietas experimentais, aplicadas em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 2 (0 e 200 mg/kg multi-carboidrase; 0 e 50 mg/kg fitase) aplicados em cinco repetições, cada um com quatro aves cada. Um grupo adicional de aves foi alimentados com uma dieta à base de milho (experimento 1) e uma dieta basal de 5% de caseína e amido de milho (experimento 2), usado para determinar os coeficientes do balanço de nutrientes e energia e os coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos, aplicados em seis repetições, com quatro aves cada em ambos experimentos. Nos primeiros sete dias as aves foram adaptadas às instalações e alimentadas com as dietas experimentais. No experimento 1 (28º aos 32º dias de idade), procedeu-se à coleta de excretas e, a partir do 33º dia (experimento 2) as aves receberam uma nova dieta até o 35º dia de idade, quando se deu o abate para amostragens do conteúdo ileal. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC GLM do SAS 9.2. Isoladas ou combinadas, as enzimas multi-carboidrase e fitase melhoraram o balanço de nutrientes, o uso aparente de energia, bem como a digestibilidade ileal dos aminoácidos do farelo de arroz integral, farelo de canola, farelo de girassol e farelo de linhaça.

Palavras chave: coeficiente de digestibilidade, energia metabolizável, enzimas exógenas, ingredientes alternativos, monogástricos.

Reevaluating the nutrient balance, energy and amino acids digestibility in some feedstuffs, with or without exogenous enzymes in broiler chickens

Abstract: The objective of this research was to determine the effects of exogenous enzymes addition on digestibility of brown rice bran, canola bran, sunflower bran and linseed bran in broiler. In trial 1, the nutritional balance and apparent use of energy were evaluated and in trial 2, the apparent and standardized ileal digestibility of amino acids was evaluated. Were used 344 male chickens were used between 21 and 35 days of age, received the experimental diets, applied in a completely randomized design, in a 2 x 2 factorial arrangement (0 and 200 mg/kg multi-carboidrase; 0 and 50 mg/kg fitase) applied in five repetitions, each with four birds each. An additional group of birds was fed a corn-basal diet (trial 1) and a basal diet of 5% casein and cornstarch (trial 2), used to determine the nutrient and energy balance coefficients and the coefficients digestibility of amino acids, applied in six repetitions, each with four birds each in both trial. In the first seven days the birds were adapted to the facilities and fed with experimental diets. In trial 1 (28th to 32nd days of age), excreta collection was conducted and, from the 33rd day (trial 2) the birds received a new diet until the 35th day of age, when slaughter for ileal content sampling took place. The data were subjected to analysis of variance using the PROC GLM of SAS 9.2. Isolated or combined, the multi-carboidrase and phytase enzymes improved the nutrient balance, the apparent use of energy, as well as the ileal digestibility of the amino acids of the brown rice bran, canola bran, sunflower bran and linseed bran.

Keywords: alternative ingredients, digestibility coefficient, exogenous enzymes, metabolizable energy, monogastric.

CAPÍTULO 1

Considerações iniciais

Os subprodutos vegetais são usados nas dietas de aves e suínos, com intuito de reduzir os custos da alimentação. A maioria dos ingredientes vegetais são ricos em carboidratos fibrosos, resistentes à digestão no trato gastrointestinal das aves, o que limita seu uso na alimentação (RALET et al., 1990). Dentre os compostos que prejudicam o aproveitamento desses ingredientes, estão os polissacarídeos não amiláceos (PNA) (ENGLYST et al., 2007; WOYENGO; NYACHOTI, 2011).

O alto consumo de fibras ou polissacarídeos não amiláceos aumenta a viscosidade intestinal, reduz o tempo de trânsito intestinal e a utilização de nutrientes (ADEOLA; COWIESON, 2011), afetando negativamente o uso dos nutrientes. Com isso, têm-se focado no uso de enzimas exógenas, isoladas ou combinadas em pesquisas com aves e suínos, no intuito de aumentar a biodisponibilidade dos nutrientes, em alimentos de origem vegetal (COWIESON et al., 2010; BEDFORD; COWIESON, 2012; DADALT et al., 2017; GALLARDO et al., 2018, 2019).

O fósforo, na maior parte dos alimentos vegetais, está na forma de fitato, e sua degradação é limitada no trato gastrointestinal das aves (SLOMINSKI, 2011). Nos ingredientes vegetais, as moléculas de fitato são encapsuladas com as proteínas dentro das células de aleurona e cercados por carboidratos, dificultando no aproveitamento dos nutrientes (HEARD et al., 2002). A suplementação de carboidrases nas dietas pode aumentar o valor nutritivo dos alimentos (ZIJLSTRA et al., 2010), além de melhorar o uso de energia e disponibilidade dos aminoácidos (WOYENGO; NYACHOTI, 2011).

Estudos anteriores demonstraram melhoria na utilização de nutrientes, da energia e digestibilidade de aminoácidos com uso de enzimas carboidrases e fitase em dietas de suínos e frangos de corte (SANDS et al., 2009; COWIESON; BEDFORD, 2009; KONG; ADEOLA,

2011; DADALT et al., 2016, 2017; GALLARDO et al. 2017, 2018, 2019).

Assim, a suplementação de enzimas nas dietas pode aumentar a digestibilidade dos constituintes orgânicos das rações, permitindo a redução da adição de fontes inorgânicas de minerais, especialmente de fósforo, devido à menor perda de nutrientes através da excreção fecal, reduzindo a contaminação ambiental em áreas onde a produção animal é intensiva (BOLLING et al., 2000).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi determinar o balanço nutricional, o uso de energia, a digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos do farelo de arroz integral, farelo de canola, farelo de girassol e farelo de linhaça com o uso de enzimas isoladas ou conjugadas, em frangos de corte, no período dos 28 aos 35 dias de idade.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Digestibilidade em frangos de corte

A digestibilidade dos nutrientes dietéticos baseia-se na coleta de excretas ou digesta ileal (SIBBALD; SLINGER, 1963; PARSONS, 1991). A digestibilidade aparente é definida como a fração do alimento consumido que não é recuperada nas excretas ou na porção terminal do íleo (STEIN et al., 2007; TAVERNARI et al., 2010).

A avaliação da digestibilidade, através da coleta total de excretas, é o mais utilizado. Nesse procedimento, estima-se a diferença entre a quantidade total do nutriente consumido e do nutriente excretado (ALMEIDA et al., 1999).

A digestibilidade ileal verdadeira e estandardizada são, normalmente, utilizadas como sendo uma só, mas, para diferenciá-las é importante o conhecimento sobre tipos de perdas endógenas.

As perdas endógenas são divididas em basal e específica. Juntando as duas, formam-se as perdas endógenas total (MOSENTHIN et al., 2000; JANSMAN et al., 2002). As perdas endógenas basais representam a quantidade mínima de aminoácidos, inevitavelmente, perdidas pelo animal. Estão relacionadas ao fluxo físico de matéria seca do alimento pela área digestiva, não sendo influenciada pela composição da dieta. A perda endógena específica é referente à composição do alimento, contribuindo com mais de 50% da perda endógena total de aminoácidos (SOUFFRANT, 1991) (Figura 1).

A digestibilidade ileal verdadeira é determinada através do valor de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos e a perda endógena ileal total (SIBBALD; SLINGER, 1963; NYACHOTI et al., 1997). Utiliza-se uma dieta isenta de proteína para determinar as perdas endógenas basais, sendo estimados os coeficientes de digestibilidade standardizados (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016). A utilização de dietas isentas de proteína, possibilita estimar a quantidade de substâncias endógenas não reabsorvidas. Assume-se que essa fração endógena excretada seja constante e que o valor para a excreta no balanço aparente pode ser corrigido para cálculo da digestibilidade standardizada (LAPLACE, 1996).

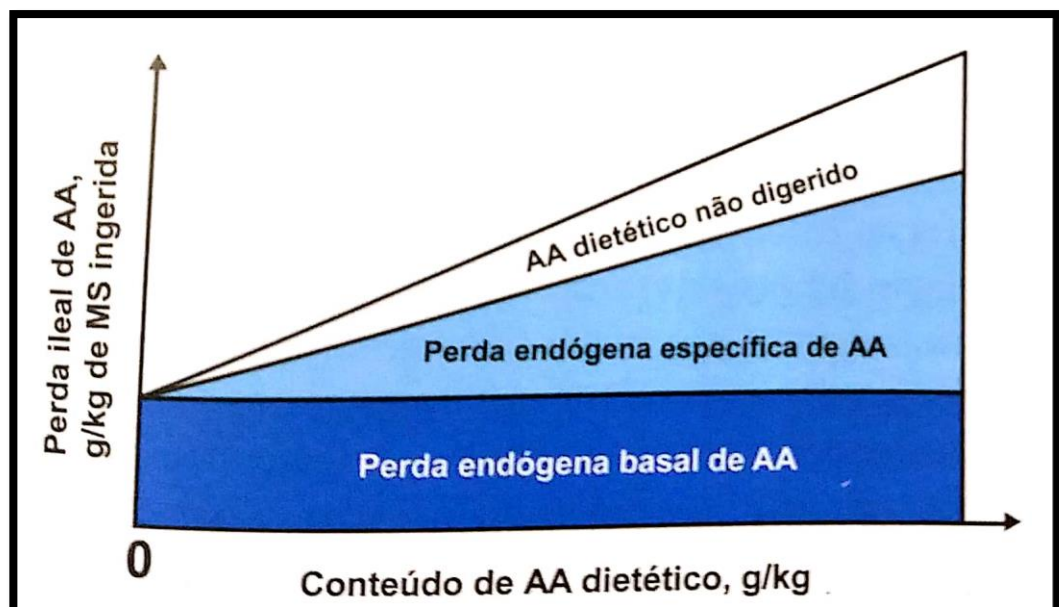


Figura 1. Fracionamento das perdas endógenas.

Fonte: Stein et al., 2007.

4.2 Uso de ingredientes alternativos

Na avicultura brasileira, os gastos com alimentação representam cerca de 60 a 70% dos custos totais (ARAUJO et al., 2019), sendo que o milho e o farelo de soja compõem a maior parte do custo da ração.

Estudos de ingredientes alternativos são uma realidade que acompanha o melhoramento e a nutrição animal por décadas, mas a falta de informações técnicas limita ou impede a utilização destes alimentos (MURAKAMI et al., 2009). Por isso, devem ser avaliados, com a possibilidade de substituição, parcial ou total, dos ingredientes convencionais sem inviabilização da produção. Dos ingredientes alternativos que podem ser utilizados nas rações dos frangos de corte, estão o farelo de arroz integral, farelo de canola, farelo de girassol e o farelo de linhaça, em presença de enzimas exógenas.

O farelo de arroz integral é um subproduto do polimento do grão de arroz (*Oryza sativa* L.), obtido após o seu descascamento e que não sofreu extração do óleo, contendo pericarpo, gérmen e pequenas quantidades de casca de arroz quebrado (EMBRAPA, 1985). É uma excelente fonte de nutrientes e energia em dietas de frangos de corte. Porém, sua utilização é limitada em função da presença de altos teores de polissacarídeos não amiláceos e ácidos fítics, o que prejudica a digestibilidade de todos os componentes nutritivos da dieta.

Estudos anteriores mostraram o efeito positivo do uso de enzimas exógenas na retenção dos nutrientes e energia, o que ratifica o aumento da disponibilidade pela hidrólise do ingrediente, como observaram Dadalt et al. (2017), Gallardo et al. (2019) e Trindade Neto et al. (2020), ao suplementarem fitase e carboidrases nas dietas com farelo de arroz as aves e leitões, respectivamente.

A canola (*Brassica napus* L. e *Brassica campestris* L.) é indicada como potencial fonte proteica na alimentação dos frangos de corte, em substituição parcial ao farelo de soja na dieta

das aves (MENG; SLOMINSKI, 2005). Possui baixos teores de glucosinolatos e ácidos erúcidos. O farelo de canola é subproduto resultante da moagem e extração do óleo do grão integral da canola (CANOLA COUNCIL OF CANADÁ, 2009). Seu teor de aminoácidos compara-se ao do farelo de soja, apresentando menos lisina e mais metionina e cistina (CANOLA COUNCIL OF CANADÁ, 2009; SLOMINSKI, 2011).

Contudo, o farelo de canola apresenta em sua composição 36,2% de proteína bruta, 25,1% de fibra em detergente neutro, 1743kcal/kg de energia metabolizável, 2,55% de extrato etéreo e 0,39% de fósforo disponível (ROSTAGNO et al., 2017). O alto teor de fibra é devido à alta proporção de casca em relação ao tamanho da semente (SORREL; SHURSON, 1992). Segundo Slominki (2011), dentre os polissacarídeos presentes na parede celular, estão arabinoxilanos, β -glucanos, arabinogalactanos, galactanos, galactomananos, mananos e polissacáridos pécnicos. Alguns estudos (COWIESON; RAVINDRAN, 2007; WOYENGO et al., 2010; KARIMI et al., 2013; GALLARDO et al., 2017) relataram que, ao suplementarem enzimas exógenas em dietas de aves com farelo de canola, mostraram-se efeitos positivos sobre o aproveitamento dos nutrientes.

O farelo de girassol é um subproduto da indústria de óleos vegetais, resultante da moagem de semente de girassol (*Helianthus sp.*), no processo industrial da extração do óleo, podendo ou não conter a casca. É um concentrado proteico que apresenta de 60 a 65% de proteína no endosperma e de 35 a 40% na casca (ALAGAWANY et al., 2015). O alto teor de proteína o preconiza como um substituto ao farelo de soja, porém, o alto teor de fibra prejudica o valor nutritivo deste ingrediente. Segundo Dusterhoft et al. (1997), o farelo de girassol apresenta 27,6% de polissacarídeos não amiláceos, sendo 23,1% insolúveis e 4,5% solúveis, além de 67% de fósforo em forma de fitato (ROSTAGNO et al., 2011). Resultados positivos sobre o aproveitamento dos nutrientes, energia e aminoácidos foram observados por Gallardo (2016), ao suplementar fitase e carboidrases nas dietas com farelo de girassol aos frangos de

corte.

A linhaça (*Linum usitatissimum* L.) contém todos os aminoácidos de uma proteína completa, além, de ser considerável fonte de lecitina, vitaminas e minerais, apresentando cerca de 25% de proteína bruta, 34% de fibra solúvel em detergente neutro, 21% de fibra solúvel em detergente ácido e 31% de extrato étereo (PETIT, 2002). Do processamento da semente de linhaça para obter o óleo, tem-se o farelo, utilizado na alimentação animal (GÓMEZ, 2003). Resultados positivos na degradação de fibras e uso de energia foram observados por Slominski et al. (2006), ao suplementar carboidratos nas dietas com semente de linhaça as aves.

2.3 Fitase na nutrição de frangos de corte

As fitases são enzimas que catalisam o desdobramento do radical fosfatado do inositol, liberando a molécula de fitato, para melhor aproveitamento do fósforo (SELLE; RAVINDRAN, 2007). O fósforo presente nos ingredientes de origem vegetal é de baixa biodisponibilidade para aves e suínos (NRC, 1994; Rostagno et al., 2017), em razão das ligações com as moléculas de fitato.

O fitato é composto por um anel de inositol ligado por até seis grupamentos fosfato que não estão disponíveis para a absorção (MAGA, 1982). Segundo Maenz (2001), o fitato é conduzido negativamente à pH básico, neutro e ácido. São ligados em moléculas na dieta e nas secreções endógenas do trato gastrointestinal pelas enzimas digestivas e mucinas, nas três condições de pH citadas. Deste modo, afeta-se a digestibilidade e aumentam as secreções endógenas dos nutrientes. As aves apresentam baixa atividade da fitase endógena quando comparada à suplementação exógena das fitases nas rações para frangos de corte, apresentando resultados positivos na liberação do fósforo (WILKINSON et al., 2014).

Segundo Maenz (2001), a fitase promove a hidrólise do complexo fósforo-fitato,

melhorando o aproveitamento do fósforo e energia pelos frangos. Segundo Choct et al. (2004); Bedford; Cowieson (2012), uma molécula de fitato apresenta em média 28,8% de fósforo, o que caracteriza sua propriedade antinutricional, ao limitar o aproveitamento do mineral, além de complexar-se os aminoácidos, enzimas, proteínas, cátions e amido. Por outro lado, as fitases melhoram a biodisponibilidade do fósforo dos ingredientes, facilitam o aproveitamento de outros minerais (cálcio, magnésio, ferro, zinco e cobre) e apresentam melhora na digestibilidade dos aminoácidos (COWIESON et al., 2006).

Estudos anteriores demonstraram um pronunciado efeito da fitase na retenção do fósforo e do cálcio em aves (GALLARDO et al., 2019) e leitões (DADALT et al., 2017; TRINDADE NETO et al., 2020). Portanto, a fitase facilita a ação enzimática para melhor absorção de minerais, permitindo redução de custos das dietas, pela menor inclusão do fósforo inorgânico nas rações. Além disso, melhora o aproveitamento de outros nutrientes da dieta pela redução da capacidade complexante do fitato. Adicionalmente, contribui para diminuir o impacto ambiental da produção avícola, por reduzir a excreção de fósforo (BEDFORD; PARTRIDGE, 2010; WILKINSON et al., 2014).

4.3 Carboidrases na nutrição de frangos de corte

As enzimas que quebram polímeros de carboidratos são consideradas como carboidrases, e sua principal função é a quebra dos componentes da fibra (ADEOLA; COWIESON, 2011). Com isso, as principais enzimas utilizadas na alimentação animal, que degradam as fibras, são xilanases e β -glucanase. A xilanase quebra os arabinoxilanos e a β -glucanase quebra os β -glucanos, presentes nos grãos e seus derivados. Porém, α -galactosidade, β -mananase e pectinase ajudam na hidrólise das fibras (BEDFORD; PARTRIDGE, 2010; ADEOLA; COWIESON, 2011).

Os frangos não produzem enzimas suficientes para hidrolisar a parede celular (PNA) e consequentemente, um melhor aproveitamento dos nutrientes presentes nos ingredientes (SLOMINSKI, 2011) que compõe a dieta das aves. Na possibilidade de quebra dos ingredientes e PNA, melhora-se a digestibilidade e o aproveitamento da energia e dos aminoácidos dos nutrientes pelos animais (OLUKOSI et al., 2007). Então, o uso das enzimas exógenas na nutrição animal permite o aumento da digestão das fibras no intestino delgado, na velocidade de trânsito intestinal, evita formação de material viscoso e melhora a qualidade de cama (CHOCT; ANNISON, 1992).

As enzimas carboidrases atuam sobre as fibras, hidrolisando os PNA e reduzindo a formação de água nas excretas. Hidrolisam-se ainda os antinutrientes contidos nas paredes celulares, fazendo com que os nutrientes, então encapsulados, tornem-se disponíveis para a digestão (SIMON, 1998; BEDFORD; PARTRIDGE, 2010). A suplementação de carboidrases na dieta de frangos de corte também tem efeitos sobre a utilização do nitrogênio e dos aminoácidos, pelo aumento da ação das enzimas proteases na proteína da dieta dos animais (BEDFORD; PARTRIDGE, 2010). Observação semelhante foi feita por Gallardo et al. (2019), quando adicionaram carboidrases na dieta das aves e verificaram o balanço de nutrientes, da energia e digestibilidade dos aminoácidos. Outro efeito das carboidrases na utilização do nitrogênio e utilização dos aminoácidos foi observada por Yin et al. (2010), no qual as carboidrases aumentaram o aproveitamento do amido e, indiretamente, melhorou a digestibilidade e a absorção do nitrogênio e aminoácidos. Segundo Bedford; Partridge (2010), as carboidrases beneficiam a absorção de alguns nutrientes fornecedores de energia na porção proximal do intestino, quando diminui a competição dos microrganismos pelos nutrientes e uso da energia (BEDFORD; PARTRIDGE, 2010).

Além dos benefícios dos estudos com fitases, citados na literatura, busca-se entender melhor como a suplementação de enzimas exógenas poderia modificar a recomendação no uso

de determinados ingredientes para aves e suínos. Conforme observaram Bedford; Partridge (2010), há um desafio prático, que é entender o melhor uso das enzimas exógenas e se há sinergia, quando combinadas nas formas de “pools”, como tem sido comercializada por indústrias do seguimento de aditivos. Dessa forma, o futuro das enzimas na produção animal é promissor e o papel da suplementação enzimática na dieta das aves mostra melhora sobre o aproveitamento dos nutrientes e energia para frangos de corte.

Referências Bibliográficas

ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non-ruminant animal production. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 10, p. 3189-3218, 2011.

ALAGAWANY, M. et al. The Practical Application of Sunflower Meal in Poultry Nutrition. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v. 3, n. 12, p. 634-648, 2015.

ALMEIDA, F. Q.; VALADARES FILHO, S. C.; LEÃO, M. I.; DONZELE, J. L.; SILVA, J. F.C.; CECON, P. R. Digestibilidade aparente pré-cecal, pós-ileal e total da proteína do milho e do farelo de soja. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 27, p. 530-537, 1999.

ARAÚJO, R. G. A. C. et al. Performance and Economic Viability of Broiler Chickens Fed with Probiotic and Organic Acids in an Attempt to Replace Growth-Promoting Antibiotics. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.21, 1-8, 2019.

BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. Feed enzymes, the future: bright hope or regulatory

minefield?. In:_____. **Enzymes in farm animal nutrition**. 2. ed. London, UK: CABI, 2010. cap 13, p. 85-95.

BEDFORD, M.; COWIESON, A. J. Exogenous Enzymes and their effects on Intestinal microbiology. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, n. 1-2, p. 76-85, 2012.

BOLLING, S. D. et al. The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens. **Poultry Science**, v.79, n. 2, p. 224-230, 2000.

CANOLA COUNCIL OF CANADÁ. **The canola meal feed industry guide**. Canadá: Canadian International Grains Institute, 2009. 4-9 p.

CHOCT, M.; ANNISON, G. Anti-nutritive activity of wheat pentosans in broiler chickens: roles of viscosity and gut microflora. **British Poultry Science**, v. 33, p. 821-834, 1992.

CHOCT, M. et al. comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 92, p. 53-61, 2004.

COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science**, v. 85, p.878-885, 2006.

COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Effect of phytic acid and microbial phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of growing broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, London, v. 98, n. 4, p. 745-752, 2007.

COWIESON, A. J.; BEDFORD, M. R. The effect of phytase and carbohydrase on ileal amino acid digestibility in monogastric diets: Complementary mode of action?. **Worlds Poultry Science Journal**, v.65, p.609-624, 2009.

COWIESON, A. J.; BEDFORD, M. R.; RAVINDRAN, V. Interactions between xylanase and glucanase in maize-soy based diets for broilers. **British Poultry Science**, v. 51, n. 2, p. 246-257, 2010.

DADALT, J. C. et al. Ileal Amino Acid digestibility of Broken Rice Fed to Postweaned Piglets with or without Multicarbohydrase and Phytase Supplementation. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 29, p. 1483-1489, 2016.

DADALT, J.C. et al. Ileal amino acid digestibility in micronized full fat soybean meal and textured soy flour fed to piglets with or without multicarbohydrase and phytase supplementation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 229, p. 106-116, 2017.

DUSTERHOFT, E. M.; POSTHUMUS, M. A.; VORAGEN, A. G. J. Non-starch polysaccharides from sunflower (*Heliantus annus*) meal and palm kernel (*Elaeis guinensis*) meal investigation of the structure of major polysaccharides. **Journal Science Food Agriculture**, v. 59, p. 151-160, 1997.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESAQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA - CNPSA. Tabela de composição química e valores energéticos de alimentos para suínos e aves. 2. ed. Concórdia: [s.n], 1985. p.29.

ENGLYST, K. N.; LIU, S.; ENGLYST, H. N. Review: nutritional characterization and measurement of dietary carbohydrates. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, p.S19-S39, 2007.

GALLARDO, C. **Balanço de nutrientes, uso aparente da energia e digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos do farelo do trigo, farelo de arroz, sorgo, farelo de canola, farelo de girassol, milho, farelo de soja e soja integral extrusada, com inclusão isolada e combinada de multi-carboidrase e fitase, em frangos de corte dos 14 aos 21 dias de idade.** 2016. 97f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Pirassununga.

GALLARDO, C. et al. Effects of multi-carbohydrase and phytase on standardized ileal digestibility of amino acids and apparent metabolizable energy in canola meal fed to broiler chicks. **Poultry Science**, v. 96, p. 3305-3313, 2017.

GALLARDO, C.; DADALT, J. C.; TRINDADE NETO, M. A. Nitrogen retention, energy, and amino acid digestibility of wheat bran, without or with multicarbohydrase and phytase supplementation, fed to broiler chickens¹. **Journal of Animal Science**, v. 96, p. 2371-2379, 2018.

GALLARDO, C.; DADALT, J. C.; TRINDADE NETO, M. A. Carbohydrases and phytase with rice bran, effects on amino acid digestibility and energy use in broiler chickens. **Animal**, v. 14, p. 482-490, 2019.

GÓMEZ, M. E. D. B. Modulação da composição de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta. I. Estabilidade oxidativa. São Paulo, 2003. 149 p. Tese - (Doutorado em Ciência dos Alimentos), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo - USP.

HEARD, P. J.; FEENEY, K. A.; ALLEN, G. G.; SHEWRI, P. R. Determination of the elemental composition of mature wheat grain using a modified secondary ion mass spectrometer (SIMS). *Plant Journal*, v. 30, p. 237-245, 2001.

JANSMAN, A.J.M. et al. Evaluation though literature data of the amount and amino acid composition of basal endogenous crude protein at the terminal ileal of pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.98, p.49-60, 2002.

KARIMI, A.; MIN, Y.; LU, C. Assessment of potential enhancing effects of a carbohydrase mixture on phytase efficacy in male broiler chicks fed phosphorus deficient diets from 1 to 18 days of age. **Poultry Science**, v.92, p.192-198, 2013.

KONG, C.; ADEOLA, O. Protein utilization and amino acid digestibility of canola meal in response to Phytase in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 90, n. 7, p. 1508–1515, 2011.

LAPLACE, J. P. Amino acid availability in pig feeding. In: WORLD CONGRESS OF ANIMAL FEEDING, 4., 1996, Madrid. **Anais...** Madrid: 1996. v.1, p.109-129.

MAENZ, D. D. Enzymatic and other characteristics of phytases as they relate to their use in animal feeds. Pages 61-84. In: M. R. Bedford and G. G. Partridge, eds. **Enzymes in farm**

animal nutrition. CABI Publishing, UK., 2001.

MAGA, J. A. Phytate: Its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, p. 1-9, 1982.

MENG, X.; SLOMINSKI, B. A. Nutritive value of corn, soybean meal, canola meal, and peas for broiler chickens as affected by a multicarbohydrase preparation of cell wall degrading enzymes. **Poultry Science**, v. 84, n. 8, p. 1242-1251, 2005.

MOSENTHIN, R. et al. The concept of digestible amino acids in diet formulation for pigs. **Livestock Production Science**, v.64, p.265-280, 2000.

MURAKAMI, A. E. et al. Avaliação econômica e desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de milheto em substituição ao milho. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 31, n. 1, p. 31-37, 2009.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of poultry. 9th ed. Washington, DC: National Academy of Sciences, 1994. 155 p.

NYACHOTI, C. M.; DE LANGE, C. F.; SCHULZE, H. Estimating endogenous amino acid flows at the terminal ileum and true ileal amino acid digestibilities in feedstuffs for growing pigs using the homoarginine method. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 12, p. 3206-3213, 1997.

OLUKOSI, O. A.; COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Age-related influence of a cocktail of

xylanase, amylase and protease or phytase individually or in combination in broilers. **Poultry Science**, v. 86, p. 77-86, 2007.

PARSONS, C. M. **Disponibilidad de aminoácidos en alimentos para aves**, Assoc. Amer. De Soya. Sep, Mexico p.1-8, 1991.

PETIT, H. V. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p.1482-1490, 2002.

RALET, M. C.; THIBAUT, J. F.; G. DELLA VALLE. Influence of extrusion cooking on the physico chemical properties of wheat bran. **Journal of Cereal Science**, v. 11, p.249-259, 1990.

ROSTAGNO, H. S. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 252 p.

ROSTAGNO, H. S. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2017. 488 p.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos. Jaboticabal: Funep, 2016. 262 p.

SANDS, J. S. et al. Responses of pigs to *Aspergillus niger* phytase supplementation of low-protein or high-phytin diets. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 2581-2589, 2009.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition-review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 135, n. 1, p. 1-41, 2007.

SIBBALD, I. R.; SLINGER, S. J. A. biological assay for metabolizable energy in poultry feed ingredients together with findings which demonstrate some of the problems associated with the evaluation of fats. **Poultry Science**, v. 42, n. 1, p. 313-325, 1963.

SIMON, O. The mode of action of NSP hydrolyzing enzymes in the gastrointestinal tract. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 7, p. 115-123, 1998.

SLOMINSKI, B. A.; MENG, X.; CAMPBELL, L. D.; GUENTER, W.; JONES, O. The use of enzyme technology for improved energy utilization from full-fat oilseeds. Part II: Flaxseed. **Poultry Science**, v. 85, p.1031-1037, 2006.

SLOMINSKI, B. A. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. **Poultry Science**, v. 90, p. 2013-2023, 2011.

SORREL, E. R.; SHURSON, G. C. Use of canola and canola meal in swine diets reviewed. **Feedstuffs**, v. 62, p. 513-516, 1992.

SOUFFRANT, W. C. Endogenous nitrogen losses during digestion in pigs. In: 5th International Symposium on digestive physiology in pigs, 1991, wageningen: Netherlands. Proceedings... Wageningen, Netherlands: PUDOC, p.147-166, 1991.

STEIN, H. H. et al. Amino acid bioavailability and digestibility in pig fed ingredients:

terminology and application. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 172-180, 2007.

TAVERNARI, F. C. et al. Avaliação nutricional e energética do farelo de girassol para aves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, p. 172-177, 2010.

TRINDADE NETO, M. A.; DADALT, J. C.; GALLARDO, C. Nutrient and energy balance, and amino acid digestibility in weaned piglets fed wheat bran and an exogenous enzyme combination. **Animal**, v.14, p.499-507, 2020.

WOYENGO, T. A.; KIARIE, E.; NYACHOTI, C. M. Energy and amino acid utilization in expeller-extracted canola meal fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.88, p.1433-1441, 2010.

WOYENGO, T. A.; NYACHOTI, C. M. Review: Supplementation of phytase and carbohydrases to diets for poultry. **Canadian Journal of Animal Science**, v.91, p.177-192, 2011.

WILKINSON, S. J. et al. Effect of dietary nonphytate phosphorus and calcium concentration on calcium appetite of broiler chicks. **Poultry Science**, v. 93, p. 1695-1703, 2014.

YIN, F. et al. Digestion rate of dietary starch affects systemic circulation of amino acids in weaned swine. **British Journal of Nutrition**, v. 103, p. 1404-1412, 2010.

ZIJLSTRA, R. T.; OWUSU-ASIEDU, A.; SIMMINS, P. H. Future of NSP-degrading enzymes to improve nutrient utilization of coproducts and gut health in pigs. **Livesock Science**, v.134, p.255-257, 2010.

CAPÍTULO 2

O capítulo 2 intitulado “**Balanço de nutrientes, uso de energia e digestibilidade ileal dos aminoácidos do farelo de arroz integral e farelo de canola, na presença de multi-carboidrase e fitase, em frangos de corte**” foi escrito de acordo com as normas do periódico “Animal”

Balanço de nutrientes, uso de energia e digestibilidade ileal dos aminoácidos do farelo de arroz integral e farelo de canola, na presença ou não da multi-carboidrase e fitase, em frangos de corte

Objetivo deste estudo foi determinar os efeitos da inclusão de enzimas exógenas na digestibilidade do farelo de arroz integral e farelo de canola em frango de corte. No experimento 1 (21º aos 32º dias de idade), avaliou-se o balanço nutricional e uso aparente de energia e no experimento 2 (33º aos 35º dias de idade) avaliou-se a digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos. Foram utilizados 184 frangos de corte machos, entre 21º e 35º dias de idade, foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado para receberem os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2 x 2 (0 e 200 mg/kg multi-carboidrase; 0 e 50 mg/kg fitase) aplicados em cinco repetições, com quatro aves cada. Um grupo adicional de aves foi alimentados com uma dieta à base de milho (experimento 1) e uma dieta basal de 5% de caseína e amido de milho (experimento 2), usado para determinar os coeficientes do balanço de nutrientes e energia e os coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos, aplicados em seis repetições, com quatro aves cada em ambos experimentos. Nos primeiros sete dias as aves foram adaptadas às instalações e alimentadas com as dietas experimentais. No experimento 1, procedeu-se a coleta de excretas e, a partir do 33º dia (experimento 2) as aves receberam nova dieta até o 35º dia de idade, quando se deu o abate para coleta do conteúdo ileal. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC GLM do SAS 9.2. A fitase foi uma alternativa na melhora do balanço de nutrientes e uso da energia e em conjunto as enzimas foram viável na digestibilidade dos aminoácidos do farelo de arroz. A combinação das enzimas influenciou no balanço de nutrientes e uso de energia e a fitase promoveu melhora sobre a digestibilidade dos aminoácidos do farelo de canola.

Palavras chave: digestibilidade estandardizada, ingredientes alternativos, monogástricos.

1. INTRODUÇÃO

A maioria dos ingredientes vegetais usados na alimentação das aves contém compostos antinutricionais, como os taninos, fitatos, inibidores de enzimas, polissacarídeos não amiláceos, que prejudicam o aproveitamento do próprio ingrediente (WOYENGO; NYACHOTI, 2011) e o desempenho animal. Têm-se focado no uso de enzimas exógenas, em pesquisas com frangos de corte, no intuito de aumentar a biodisponibilidade dos nutrientes de origem vegetal (COWIESON et al., 2010; BEDFORD; COWIESON, 2012; DADALT et al., 2016, 2017; GALLARDO et al., 2017, 2018, 2019).

A fitase tem potencial para minimizar os efeitos negativos ao ácido fítico, na hidrólise do fitato, e as carboidrases têm capacidade de aumentar o valor nutricional da dieta, eliminando o efeito encapsulador de nutriente das paredes celulares e, portanto, melhorando as disponibilidades de energia e aminoácidos (DADALT et al., 2016; GALLARDO et al., 2019). Dessa forma, com o uso de fitase e carboidrases há aumento da disponibilidade dos nutrientes, energia, além de diminuir os efeitos antinutricionais dos polissacarídeos não amiláceos (PNA) e fitato (KIARIE et al., 2016).

Segundo dados da literatura, a suplementação de carboidrases nas dietas pode aumentar o valor nutritivo dos alimentos alternativos (ZIJLSTRA et al., 2010, DADALT et al., 2016; GALLARDO et al., 2019; TRINDADE et al., 2020), além de melhorar a o uso de energia e disponibilidade dos aminoácidos (WOYENGO; NYACHOTI, 2011). Estudos anteriores mostram a melhoria da utilização de nutrientes, uso de energia e digestibilidade de aminoácidos com o uso das carboidrases e fitase, para suínos e frangos de corte (SANDS et al., 2009; COWIESON; BEDFORD, 2009; KONG; ADEOLA, 2011; DADALT et al., 2016, 2017; GALLARDO et al. 2017, 2018, 2019; TRINDADE et al., 2020).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi determinar o balanço nutricional, o uso de

energia, a digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos do farelo de arroz integral e farelo de canola, com o uso de enzimas isoladas ou conjugadas, em frangos de corte, no período dos 28 aos 35 dias de idade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios de digestibilidade e coleta de material ileal foram conduzidos na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ, Botucatu/SP. Todos os procedimentos experimentais foram revisados e aprovados pelo comitê de ética da UNESP e protocolados sob o nº 0094/2018 (anexo 1).

Período experimental, animais, instalações e dietas experimentais

Aos 21 dias de idade, os frangos foram alojados em gaiolas de metabolismo, para adaptação das aves e recebimento das dietas experimentais. As avaliações do farelo de arroz integral e do farelo de canola (Tabela 1), na presença ou não de enzimas exógenas, foram realizadas entre o período de 28 a 35 dias de idade, por meio de dois experimentos. No experimento 1, dos 28 aos 32 dias de idade, avaliou-se o balanço nutricional e o uso da energia pelo método de coleta total de excretas. No experimento 2, realizou-se dos 33 aos 35 dias de idade, e aos 35 dias de idade os frangos foram pesados e abatidos e coletado o conteúdo ileal para a avaliação da digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos.

No experimento 1, as dietas foram constituídas à base de milho e fornecida de forma farelada. As dietas do experimento 2 foram à base de amido de milho, fornecidas na forma de pellets. E para dieta controle, foi formulada com 5% de caseína para determinação das perdas endógenas dos aminoácidos. O óxido de cromo III (Cr_2O_3) foi adicionado em 0,3% a todas as

dietas do segundo experimento como marcador indigestível. O ingrediente teste foi incluído na dieta pela substituição de 20% da dieta basal, na matéria natural. Todas as dietas foram suplementadas com vitaminas e minerais, atendendo as exigências nutricionais dos frangos de corte na fase de crescimento (Rostagno et al. 2017) como mostra a Tabela 2.

Os frangos foram alojados em gaiolas metabólicas de arame galvanizado, com área de 1,00 x 0,50 m. Os comedouros foram do tipo frontal e os bebedouros do tipo *nipple*. Todas as gaiolas estavam equipadas com bandeja previamente preparada e revestida com plástico para o recolhimento das excretas.

Tabela 1. Composição bromatológica e aminoacídica do farelo de arroz integral e farelo de canola testados em frangos de corte dos 28 aos 35 dias de idade¹.

Item %	Ingredientes	
	Farelo de arroz	Farelo de canola
Matéria Seca (%)	89,87	89,61
Proteína bruta (%)	12,24	38,56
Energia bruta (kcal/kg)	4217	4261
Extrato etéreo(%)	16,30	2,25
Cálcio(%)	0,06	0,92
Fósforo total (%)	1,10	0,97
Fibra detergente neutro (%)	22,42	26,55
AA essenciais (%)		
Arginina	1,03	2,37
Histidina	0,39	1,05
Isoleucina	0,48	1,74
Leucina	0,91	2,43
Lisina	0,67	1,95
Metionina	0,23	0,62
Fenilalanina	0,55	1,26
Treonina	0,62	1,49
Triptofano	0,23	1,64
Valina	0,75	1,78
AA não essenciais (%)		
Alanina	0,82	1,48
Asparagina	1,27	2,29
Cistina	0,26	0,70
Glutamina	2,85	5,74
Glicina	0,75	1,56
Prolina	0,61	2,07
Serina	0,99	1,37
Tirosina	0,48	1,03

¹Valores na matéria natural

Tabela 2. Composição percentual e valores calculados das dietas usadas nos ensaios de digestibilidade para coleta total de excretas e ileal¹.

Ingredientes (%)	Coleta total	Coleta ileal
	DB	DB ₂
Milho	85,01	-
Amido	-	50,27
Óleo de soja	2,00	1,20
Cloreto de colina 60%	0,02	0,02
Sal	0,25	0,32
Bicarbonato de sódio	0,38	0,35
Calcário calcítico	0,81	0,69
Fosfato bicálcico	2,40	2,37
Celulose	5,00	5,00
Dextrose anidra	-	30,00
Caseína	-	5,00
Oxido de cromo	-	0,30
Premix vit. + mineral ³	0,50	0,50
Caulin ⁴	3,63	3,98
Total	100	100
Valores calculados		
Matéria seca (%)	88,80	92,93
Proteína bruta (%)	6,70	4,21
Cálcio (%)	0,92	0,86
Fósforo disponível (%)	0,40	0,34
EM (kcal/kg)	3050	3100
Sódio (%)	0,22	0,22
Cloro (%)	0,20	0,19
Ácido linoleico (%)	2,68	0,63

¹Inclusão do ingrediente teste de forma natural. DB: dieta à base de milho; DB₂: dieta à base de amido de milho e caseína. ³Premix vitamínico-mineral por kg de ração: vitamina A 9.000 UI; vitamina D3 1.600 UI; vitamina E 14 UI; vitamina K3 1,5 mg; vitamina B1 1 mg; vitamina B2 4 mg; ácido pantotênico 8,28 mg; vitamina B6 18 mg; vitamina B12 12 mμg; niacina 0,03 mg; ácido fólico 0,3 mg; biotina 0,05 mg; selênio 0,25 mg; Cu 9 mg; Fe 30 mg; I 1 mg; Zn 60 mg Mn 60mg. ⁴Caulin: caulin mineral, usado como inerte para ajustar a formulação.

Delineamento experimental e enzimas utilizadas

As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado para receberem os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2 x 2 (0 e 200 mg/kg multi-carboidrase; 0 e 50 mg/kg fitase), aplicados em cinco repetições, com quatro aves cada. Um grupo adicional de aves foi alimentado com uma dieta à base de milho (experimento 1) e uma dieta basal de 5% de caseína e amido de milho (experimento 2), usado para determinar os coeficientes do balanço de nutrientes e energia e os coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos, aplicados em seis repetições, com quatro aves cada, em ambos os experimentos. Nos primeiros sete dias, as aves foram adaptadas às instalações e alimentadas com as dietas experimentais.

As enzimas utilizadas foram o complexo multi-carboidrase, o qual é formado por: alfa-galactosidase (mínimo, 35 U/g), galactomananase (mínimo, 110 U/g), xilanase (mínimo, 1.500 U/g), beta-glucanase (mínimo, 1.100 U/g), obtidas da fermentação de *Aspergillus niger* e *Aspergillus oryzae*. A fitase (GenoPhos®) é derivada do *Saccharomyces cerevisiae*, contendo genes de *Escherichia coli* e *Citrobacter braakii* com atividades de fitase (mínimo, 10.000 FTU/g), a qual foi adicionada 500 FTU/kg de ração. A unidade (U) de alfa-galactosidase é definida como a quantidade da enzima que libera 1 µmol p- nitrophenol/min. A unidade de galactomananase corresponde à quantidade da enzima capaz de diminuir a metade da viscosidade inicial do galactomanano/min. A unidade de xilanase é definida como a quantidade da enzima que produz 1 µmol de xilose/min a pH 5,5 a 50°C, e a unidade de betaglucanase corresponde à quantidade da enzima para produzir 1 µmol de beta-glucano/min a pH 4,8 a 50°C. A unidade de fitase (FTU) é definida como a quantidade de enzima necessária para libertar 1 mmol fosfato inorgânico por minuto, a pH 5,5 a 37°C.

Balanço de nutrientes e uso aparente de energia

Durante o período experimental do balanço de nutrientes e o uso aparente de energia, foram colhidas as excretas duas vezes por dia, por quatro dias consecutivos, às 08h e às 16h. Ao final, foi efetuado o controle do consumo de alimento por gaiola.

As excretas foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas por repetição e armazenadas em freezer a -16°C. Ao final do período experimental, foi determinada a quantidade de ração consumida, bem como a quantidade total de excretas produzidas, que foram descongeladas e homogeneizadas, retirada uma alíquota de cada repetição, pesada e, novamente, congeladas a -40°C, para posterior pré-secagem em liofilizador.

Na determinação do balanço aparente da MS, PB, Ca, P e FDN e valor da EM dos ingredientes testes, foram adotadas as orientações de Medel et al. (1999). Os valores de EM aparente foram determinados segundo Campbell et al. (1983):

$$EMIT = EBIT - [(EFIT - (1 - X) * EFDR) / X]$$

Onde: EMIT: energia metabolizável do ingrediente teste; EBIT: energia bruta do ingrediente teste; EFIT: energia da excreta proveniente do tratamento com o ingrediente teste; EFDR: energia das fezes proveniente do tratamento, usando dieta referência; X: inclusão do ingrediente teste à dieta referência.

Digestibilidade ileal aparente (DIA) e digestibilidade ileal estandardizada (DIE) dos aminoácidos

Após 48 horas de consumo das dietas a base de amido (controle) e controle + ingrediente teste (CI - tratamentos), os frangos foram abatidos para retirada de 10 cm do íleo terminal, aproximadamente 2 cm antes da junção ileocecal. O conteúdo ileal foi coletado em potes plásticos identificados e armazenados em congelador a -20°C, para posteriores procedimentos e análises.

Os cálculos da DIA e DIE (%) dos aminoácidos foram realizados segundo a metodologia descrita por Nyachoti et al. (1997):

$$\text{DIAAA (\%)} = 100 - [100 \times (\text{AA}_{\text{digesta}} \times \text{CrO}_2 \text{ dieta}) / (\text{AA}_{\text{dieta}} \times \text{CrO}_{2\text{digesta}})]$$

A DIA aparente foi estandardizada, usando as médias das perdas endógenas dos aminoácidos (AAEL; g/kg), calculada com a seguinte fórmula:

$$\text{AAEL (g/kg)} = \text{AA}_{\text{digesta}} \times (\text{CrO}_2 \text{ dieta} / \text{CrO}_{2\text{digesta}})$$

Os cálculos da DIE (%) dos aminoácidos foram calculados segundo a seguinte fórmula:

$$\text{DIEAA (\%)} = [\text{DIAAA} + (\text{AAEL}/\text{AA}_{\text{dieta}})] \times 100$$

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados foi realizada com o auxílio do pacote estatístico SAS (2012) com critério de 5% de significância, para determinar os efeitos dos fatores e da interação. A homogeneidade das variâncias e a normalidade dos resíduos foram verificadas pelo teste de Hartley e a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk. O modelo estatístico adotado está representado a seguir:

$$Y_{ij} = \mu + a_i + b_j + (a_i \times b_j) + e_{ij}$$

Onde: Y_{ij} = variável resposta dos frangos alimentados com multi-carboidrase e fitase;

μ = efeito geral da média;

a_i = efeito fixo da multi-carboidrase;

b_j = efeito fixo da fitase;

($a_i \times b_j$) = efeito da interação entre multi-carboidrase e fitase;

e_{ij} = erro (resíduo).

3. RESULTADOS

Farelo de arroz integral

Os efeitos dos tratamentos no balanço de nutrientes e na energia metabolizável nos frangos de corte alimentados com farelo de arroz integral, apresentados na Tabela 3, mostram a interação ($P < 0,05$) positiva da multi-carboidrase e fitase sobre o aproveitamento da matéria seca e fibra, além de uma tendência de melhora no aproveitamento do nitrogênio ($P = 0,076$).

As enzimas isoladas apresentaram efeitos ($P < 0,05$) favoráveis para o balanço de mineral, nitrogênio e energia. A suplementação de fitase mostrou efeitos ($P < 0,05$) positivo para cálcio, fósforo, EMA e EM/EB, enquanto a multi-carboidrase, apenas no nitrogênio.

Os coeficientes da digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos do farelo de arroz integral, suplementados ou não com multicaboidrase e fitase, são apresentados nas Tabelas 4 e 5, respectivamente. No geral, a suplementação isolada ou combinada das enzimas multicaboidrase e fitase influenciou ($P < 0,05$) positivamente na digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos, exceto ($P > 0,05$) na digestibilidade aparente da leucina, e na digestibilidade estandardizada da isoleucina, leucina e tirosina.

Os valores médios da digestibilidade aparente e estandardizado dos dezessete aminoácidos do farelo de arroz integral foram: 79,60 e 91,71% sem enzima; 84,22 e 92,80% multi-carboidrase; 85,71 e 94,87% fitase; e 83,52 e 93,13% multi-carboidrase + fitase, respectivamente.

Os valores médios da digestibilidade dos aminoácidos, decorrentes da suplementação isolada de multi-carboidrase ou fitase foram maiores, comparados ao tratamento sem enzimas, cujas médias aparentes foram 84,22 e 85,71%. Na digestibilidade estandardizada o maior valor médio foi dado ao tratamento isolado de fitase, 94,87%.

Houve interação de multicaboidrase e fitase ($P<0,05$) na digestibilidade aparente da arginina, histidina, isoleucina, lisina, metionina, treonina, valina, asparagina, glicina, prolina, serina e tirosina. Porém, com a adição isolada de multi-carboidrase ou fitase, houve efeito ($P<0,05$) para alanina, glutamina, fenilalanina e triptofano. Na digestibilidade estandardizada, houve interação ($P<0,05$) das enzimas multi-carboidrase e fitase para histidina, lisina, metionina, treonina, triptofano, valina, asparagina, glicina, prolina e serina. A suplementação isolada de multi-carboidrase apresentou efeito significativo ($P<0,05$) para a arginina, fenilalanina, alanina e glutamina. Assim, comparadas à dieta sem enzimas, a combinação de multi-carboidrase e fitase melhorou ($P<0,05$) a digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos em 4,92% e 1,55%, respectivamente.

Tabela 3. Balanço nutricional aparente do farelo de arroz integral, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte.

Item % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
MS	0,796	0,836	0,867	0,885	0,009	0,338	0,001	0,004
N	0,477	0,531	0,512	0,529	0,009	0,003	0,122	0,076
EMA kcal/kg	2834	2880	3077	2971	55,134	0,596	0,008	0,186
Ca	0,649	0,676	0,757	0,744	0,019	0,323	0,001	0,749
P	0,698	0,789	0,838	0,819	0,029	0,242	0,009	0,080
FDN	0,471	0,542	0,742	0,760	0,012	0,011	0,001	0,048
EM/EB	0,586	0,595	0,636	0,614	0,011	0,587	0,008	0,180

N=5; ¹MS: Matéria seca; N: Nitrogênio; EMA: Energia metabolizável aparente; Ca: Cálcio; P: Fósforo; FDN: Fibra em detergente neutro. ²EPM, Erro padrão da média.

Tabela 4. Coeficiente de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos do farelo de arroz integral, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.

Item %	Fitase ² 0		Fitase 50		EPM ³	P-valor		
	MC ¹ 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arginina	88,45	91,29	91,77	92,00	1,063	0,001	0,005	0,014
Histidina	85,27	91,17	92,07	91,08	1,054	<0,001	<0,001	<0,001
Isoleucina	73,01	79,30	80,90	77,72	1,657	0,001	0,050	<0,001
Leucina	85,71	85,98	87,32	86,14	1,232	0,127	0,417	0,207
Lisina	69,00	79,01	87,53	85,57	1,429	<0,001	<0,001	<0,001
Metionina	78,98	88,43	91,67	91,86	1,127	<0,001	<0,001	<0,001
Fenilalanina	89,37	90,60	91,70	91,44	1,043	0,004	0,319	0,130
Treonina	79,22	83,43	83,82	81,80	1,728	0,072	0,176	0,001
Triptofano	91,72	89,38	88,85	83,83	1,219	0,003	0,008	0,287
Valina	84,84	87,70	89,04	87,20	1,115	0,002	0,321	0,001
AA não essenciais								
Alanina	87,78	87,79	89,13	89,29	1,193	0,016	0,889	0,883
Asparagina	74,53	83,21	88,23	85,96	1,635	<0,001	0,001	<0,001
Glutamina	88,71	89,50	91,58	91,33	0,930	<0,001	0,527	0,228
Glicina	69,25	80,77	83,17	81,14	1,825	<0,001	<0,001	<0,001
Prolina	48,94	60,12	52,41	38,62	2,191	<0,001	0,202	<0,001
Serina	70,81	74,21	76,98	74,86	1,675	0,001	0,408	0,002
Tirosina	87,67	89,87	90,82	89,95	1,431	0,022	0,315	0,029

N=5; ¹MC, multi-carboidrase (0 e 200 mg/kg na dieta), (200 mg/kg de MC contendo 700 U de α -galactosidase, 2 200 U de galactomananase, 30 000 U de xylanase e 22 000 U de β -glucanase/kg na dieta). ²Fitase, fitase (0 e 50 mg/kg na dieta). ³EPM, Erro padrão da média.

Tabela 5. Coeficiente de digestibilidade ileal estandardizado dos aminoácidos do farelo de arroz integral, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.

Item %	Fitase ² 0		Fitase 50		EPM ³	P-valor		
	MC ¹	MC	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFita
	0	200						se
AA essenciais								
Arginina	94,21	95,76	96,32	96,09	1,338	0,050	0,284	0,155
Histidina	93,56	96,03	96,93	95,96	1,174	0,010	0,173	0,005
Isoleucina	94,79	94,38	94,89	94,58	1,650	0,844	0,634	0,945
Leucina	93,26	92,76	94,14	93,04	1,351	0,353	0,202	0,631
Lisina	83,42	87,17	96,41	94,12	1,426	<0,001	0,268	0,001
Metionina	91,85	95,46	99,02	98,98	1,137	<0,001	0,003	0,002
Fenilalanina	93,97	94,64	95,71	95,14	1,404	0,050	0,933	0,340
Treonina	92,56	94,29	94,70	89,94	1,833	0,196	0,083	0,001
Triptofano	94,11	89,04	92,04	89,19	0,350	0,101	0,010	0,050
Valina	94,93	95,43	96,90	95,00	1,497	0,267	0,313	0,050
AA não essenciais								
Alanina	93,99	93,56	94,95	94,65	1,270	0,050	0,529	0,908
Asparagina	86,80	91,50	96,85	94,92	1,439	<0,001	0,047	<0,001
Glutamina	97,49	96,32	99,01	98,63	1,361	0,010	0,219	0,527
Glicina	82,55	89,26	92,10	90,75	1,588	<0,001	0,002	<0,001
Prolina	81,28	83,48	84,28	73,98	1,711	0,001	<0,001	<0,001
Serina	96,25	93,32	92,62	93,18	2,007	0,050	0,206	0,050
Tirosina	94,04	95,14	96,00	94,99	1,766	0,267	0,954	0,199

N=5; ¹MC, multi-carboidrase (0 e 200 mg/kg na dieta), (200 mg/kg de MC contendo 700 U de α -galactosidase, 2 200 U de galactomananase, 30 000 U de xylanase e 22 000 U de β -glucanase/kg na dieta). ²Fitase, fitase (0 e 50 mg/kg na dieta). ³EPM, Erro padrão da média.

Farelo de canola

Os efeitos do balanço de nutrientes e energia metabolizável aparente do farelo de canola para frangos de corte, com ou sem suplementação de multi-carboidrase e fitase, são mostrados na Tabela 6.

Houve efeito positivo de interação ($P<0,05$) sobre o aproveitamento do N, FDN, EMA e EM/EB. Em comparação à dieta sem enzimas, a combinação das enzimas aumentou o aproveitamento do N, FDN e EMA em 4,01%, 16,16%, e 7,84%, respectivamente. A suplementação isolada da fitase mostrou efeito positivo ($P<0,05$) sobre o aproveitamento da matéria seca e fósforo, enquanto a multi-carboidrase pronunciou efeito positivo sobre o aproveitamento da matéria seca.

Os coeficientes da digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos, na presença ou não de enzimas exógenas, são apresentados nas Tabelas 7 e 8, respectivamente. Houve interação ($P<0,05$) para a digestibilidade aparente dos aminoácidos: histidina, metionina e serina, e, na digestibilidade estandardizada, o efeito de interação ($P<0,05$) se deu para metionina, glutamina e serina. Porém, a maioria dos coeficientes analisados do farelo de canola, apresentou efeito com a suplementação isolada das enzimas.

Efeito positivo isolado das enzimas multi-carboidrase ou fitase sobre a digestibilidade aparente foram percebidos a arginina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, valina, alanina, glutamina, glicina, prolina, tirosina, isoleucina e triptofano. Na digestibilidade estandardizada, o efeito se deu para arginina, histidina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina, alanina, glicina, prolina, isoleucina e lisina. A suplementação com carboidrases apresentou indicação de tendência ($P=0,092$) na digestibilidade aparente para a glicina.

A média da digestibilidade aparente dos aminoácidos analisados foram: 85,48% na ausência de enzimas, 90,33% com multi-carboidrase, 89,26% com fitase e 87,55% com a

combinação das enzimas. Enquanto as médias da digestibilidade estandardizada foram: 91,85% na ausência de enzimas; 95,11% com multi-carboidrase; 93,93% com fitase; e 93,91% com a combinação das enzimas. Com relação à dieta sem enzimas, a digestibilidade aparente dos aminoácidos melhorou 5,7% na presença da multi-carboidrase, 4,4% na presença da fitase e 2,4% com a combinação das enzimas. Enquanto que, para a digestibilidade estandardizada dos aminoácidos a melhora foi de 3,6% com multi-carboidrase, 2,3% com fitase e 2,2% com a combinação das duas enzimas.

Tabela 6. Balanço nutricional aparente do farelo de canola, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte.

Item % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
MS	0,777	0,792	0,784	0,772	0,002	0,002	0,013	0,214
N	0,749	0,769	0,758	0,779	0,004	0,008	0,509	0,013
EMA kcal/kg	1390	1470	1398	1499	0,027	0,001	0,100	0,001
Ca	0,745	0,786	0,751	0,778	0,044	0,448	0,973	0,878
P	0,568	0,601	0,625	0,615	0,054	0,293	0,049	0,112
FDN	0,365	0,411	0,385	0,424	0,006	0,001	0,320	0,043
EM/EB	0,686	0,725	0,690	0,729	0,001	0,001	0,029	0,001

N=5; ¹MS: Matéria seca; N: Nitrogênio; EMA: Energia metabolizável aparente; Ca: Cálcio; P: Fósforo; FDN: Fibra em detergente neutro. ²EPM, Erro padrão da média.

Tabela 7. Coeficiente de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos do farelo de canola, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.

Item %	Fitase ² 0		Fitase 50		EPM ³	P-valor ⁴		
	MC ¹	MC	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFita
	0	200						se
AA essenciais								
Arginina	90,14	94,13	93,97	90,64	1,636	0,787	0,001	0,962
Histidina	85,93	94,30	94,04	89,29	1,038	0,001	<0,001	0,004
Isoleucina	84,82	86,94	84,29	87,17	0,811	<0,001	0,301	0,687
Leucina	89,86	92,17	90,73	90,41	1,173	0,076	0,023	0,409
Lisina	86,68	90,78	87,41	89,40	1,251	<0,001	0,050	0,571
Metionina	92,48	95,91	96,51	95,97	1,290	0,023	0,003	0,003
Fenilalanina	89,59	92,58	92,96	89,46	1,453	0,701	0,001	0,856
Treonina	77,59	87,81	86,73	80,80	1,592	0,008	<0,001	0,153
Triptofano	79,40	85,54	81,33	83,60	1,181	0,002	0,192	0,843
Valina	85,92	90,53	88,95	87,00	1,035	0,011	<0,001	0,587
AA não essenciais								
Alanina	83,90	93,94	93,54	84,03	1,610	0,721	<0,001	0,852
Aspargina	89,13	90,01	89,66	89,47	1,358	0,583	0,389	0,990
Glutamina	90,11	93,84	93,40	92,15	0,974	0,011	<0,001	0,085
Glicina	80,54	89,39	88,63	82,26	1,552	0,092	<0,001	0,497
Prolina	84,76	82,02	81,49	85,81	1,233	0,172	<0,001	0,636
Serina	74,18	84,28	84,04	81,39	1,423	<0,001	<0,001	<0,001
Tirosina	88,12	91,43	89,82	89,43	1,193	0,015	0,003	0,782

N=5; ¹MC, multi-carboidrase (0 e 200 mg/kg na dieta), (200 mg/kg de MC contendo 700 U de α -galactosidase, 2 200 U de galactomananase, 30 000 U de xylanase e 22 000 U de β -glucanase/kg na dieta). ²Fitase, fitase (0 e 50 mg/kg na dieta). ³EPM, Erro padrão da média.

Tabela 8. Coeficiente de digestibilidade ileal estandardizada dos aminoácidos do farelo de canola, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.

Item %	Fitase ² 0		Fitase 50		EPM ³	P-valor ⁴		
	MC ¹	MC	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFita
	0	200						se
AA essenciais								
Arginina	94,42	96,72	96,57	94,57	1,646	0,835	0,010	0,999
Histidina	91,94	97,01	96,87	93,98	1,471	0,116	<0,001	0,170
Isoleucina	92,46	95,10	93,34	94,86	1,316	0,003	0,362	0,583
Leucina	94,16	95,83	94,66	94,67	1,171	0,127	0,131	0,536
Lisina	91,81	95,30	92,44	94,30	1,252	0,001	0,164	0,739
Metionina	98,35	99,99	99,99	99,99	0,640	0,011	0,011	0,011
Fenilalanina	93,36	95,28	95,52	93,10	1,452	0,705	0,004	0,993
Treonina	88,58	94,22	93,28	90,68	1,183	0,011	<0,001	0,289
Triptofano	85,22	90,75	81,43	94,54	1,181	0,004	0,001	0,872
Valina	92,36	95,26	94,04	93,24	1,040	0,038	0,001	0,720
AA não essenciais								
Alanina	90,78	96,77	96,54	90,91	1,610	0,813	<0,001	0,944
Aspargina	94,23	94,93	94,78	95,41	1,960	0,460	0,963	0,565
Glutamina	95,51	97,79	97,51	97,40	0,973	0,024	0,014	0,050
Glicina	87,33	93,40	92,85	89,10	1,580	0,125	<0,001	0,411
Prolina	89,94	89,32	88,35	91,15	1,088	0,039	0,003	0,808
Serina	88,90	95,34	95,37	95,30	1,544	0,001	0,001	0,001
Tirosina	92,05	93,91	93,26	93,31	1,653	0,216	0,240	0,690

N=5; ¹MC, multi-carboidrase (0 e 200 mg/kg na dieta), (200 mg/kg de MC contendo 700 U de α -galactosidase, 2 200 U de galactomananase, 30 000 U de xylanase e 22 000 U de β -glucanase/kg na dieta). ²Fitase, fitase (0 e 50 mg/kg na dieta). ³EPM, Erro padrão da média.

4. DISCUSSÃO

Farelo de arroz integral

As diferenças encontradas na composição dos nutrientes e da energia do farelo de arroz integral (FAI), quando comparado aos descritos na literatura, podem estar relacionadas às características intrínsecas do FAI nas diferentes avaliações.

Apesar de resultados controversos encontrados na literatura sobre uso de enzimas exógenas na alimentação de frangos de corte (BAREKATAIN et al., 2014; LIU et al., 2015; AMERAH et al. 2017; GALLARDO et al., 2017, 2018, 2019), no presente experimento, a suplementação isolada de fitase, melhorou ($P<0,05$) o balanço de nutrientes e o uso de energia do FAI.

Avaliando a suplementação enzimática em frangos de corte, Gallardo et al. (2017) relataram que o PNA e o fitato são considerados elementos antinutrientes na alimentação das aves e os principais componentes de PNA presentes no FAI são arabinose e xilose (ANNISON et al., 1995). Com relação à arabinose, tem-se: xilose do FAI de 1:23, em comparação com o farelo de trigo com 0:58 (ANNISON et al., 1995) que relataram que isso, geralmente, confere alta viscosidade à digesta. A alta viscosidade no conteúdo intestinal causa redução das atividade enzimática e absorção dos nutrientes (BAO et al., 2013). Por outro lado, o FAI apresenta alto nível total de fósforo 1,5% (NRC, 1994) e 1,83% (ROSTAGNO et al., 2017), todavia, com baixa disponibilidade de fósforo devido ao seu alto teor de fitato.

O aumento da retenção de nutrientes e da energia pode ser associado à degradação total ou parcial desses componentes antinutrientes. As enzimas carboidrases destroem a parede celular, liberando os nutrientes para absorção (GALLARDO et al., 2017). Essas enzimas também reduzem a viscosidade da digesta (KIARIE et al., 2016) e, indiretamente, facilita o

contato entre as enzimas endógenas e exógenas com os compostos químicos, como a fitase e fitato (WOYENGO; NYACHOTI, 2011).

O efeito positivo encontrado no balanço de nutrientes e energia, apresentados no presente estudo, pode estar diretamente associado à suplementação de fitase, melhorando a disponibilidade de proteínas, gorduras, amido e fibras, pela redução na produção de mucina, decorrente da maior renovação celular provocada pela presença do fitato na dieta (SLOMINSKI, 2011). No entanto, a presença de fatores antinutricionais do FAI faz com que haja inibição de enzimas endógenas e aumento das secreções endógenas dos aminoácidos, prejudicando a digestibilidade dos aminoácidos (BAO et al., 2013). Li et al. (1996) observaram que as enzimas degradadoras de PNA pode hidrolisar compostos da parede celular, reduzindo a viscosidade formada no intestino, fazendo com que haja aumento da digestibilidade dos aminoácidos.

O pronunciado efeito isolado da fitase na retenção do cálcio e fósforo ratifica o aumento da disponibilidade pela hidrólise do complexo mineral fitato (DADALT et al., 2017). Portanto, eram esperados efeitos sobre o fósforo e cálcio, como observaram Gallardo et al. (2019) e Trindade Neto et al. (2020), ao suplementarem fitase e carboidrases nas dietas testes de aves e leitões, respectivamente.

O melhor aproveitamento da matéria seca e fibra do FAI pode estar associado à especificidade das enzimas, promovendo melhor ação quando comparado à suplementação individual de enzimas (SLOMINSKI, 2011). Logo, a ação combinada das enzimas pode resultar na maior utilização dos nutrientes e desempenho animal (COWIESON et al., 2017; DADALT et al., 2017).

Comparado-se aos resultados do FAI sem enzima, a combinação fitase + multi-carboidrase, aumentou a digestibilidade dos aminoácidos aparente e estandardizados, estando diretamente associada à melhora na hidrólise do PNA. Com isso, foram observados aumentos

na digestibilidade estandardizada com a suplementação de multi-carboidrase e fitase, quando comparado à inclusão isolada dos aminoácidos. Os efeitos positivos da digestibilidade dos aminoácidos encontrado no presente estudo estão de acordo com os trabalhos de Ravindran et al. (1999) e Gallardo et al. (2018, 2019).

O aumento da digestibilidade dos aminoácidos depende do nível de atividade enzimática e disponibilidade de substratos, como ocorreu no aproveitamento dos nutrientes e aminoácidos do ingrediente teste (EMIOLA et al., 2009). Geralmente, alimentos com maior quantidade de PNA respondem melhor à suplementação de carboidrases (ADEOLA; COWIESON, 2011). Sendo assim, a quantidade e a composição bromatológica do FAI favoreceram de forma mais pronunciada à ação da multi-carboidrase e, em proporção, a ação da fitase sobre a digestibilidade dos aminoácidos.

A suplementação isolada da fitase apresentou-se como alternativa favorável para o maior aproveitamento dos nutrientes e energia do farelo de arroz. Em combinação, as enzimas são uma opção para aumentar a digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos do farelo de arroz.

Farelo de Canola

Alguns estudos (COWIESON; RAVINDRAN, 2007; WOYENGO et al., 2010; KARIMI et al., 2013; GALLARDO et al., 2017) demonstraram que a suplementação de enzimas exógenas aumenta a eficácia do aproveitamento dos nutrientes e da energia em aves. O maior aproveitamento dos nutrientes foi associado à degradação dos componentes antinutrientes na dieta animal (JÓZEFIK et al., 2010; KIARIE et al., 2016), com a liberação das proteínas, carboidratos, lipídios e minerais (WOYENGO; NYACHOTI, 2011; KIARIE et al., 2014; GALLARDO et al., 2017).

A inclusão das enzimas apresentou aumento sobre a retenção do nitrogênio, em comparação ao tratamento sem enzimas. O aumento do nitrogênio está relacionado à maior hidrólise das proteínas, aumentando sua disponibilidade para absorção. No entanto, Gallardo et al. (2017) observaram que a combinação de fitase e carboidrases nas dietas, contendo o farelo de canola fornecidas as aves, estão de acordo como o encontrado no presente estudo.

O aumento no aproveitamento do fósforo observado com adição isolada de fitase sugere a hidrólise do fitato e o aumento no aproveitamento dos minerais. Como observaram (SELLE et al., 2000), a suplementação de fitase na dieta dos frangos aumenta o aproveitamento do fósforo e nitrogênio, impedindo a formação dos complexos fitato-proteína.

Estudo realizado por Slominski (2011), ao suplementar fitase em dietas a base de milho e farelo de soja em frangos, encontrou efeitos significativos sobre o aproveitamento do fósforo, tal como observado no presente estudo. Ao combinarem multi-carboidrase e fitase na dieta dos frangos, Woyengo et al. (2010) e Gallardo et al. (2017) encontraram efeitos positivos para o balanço do fósforo, em comparação com as aves sem enzimas.

A maior retenção do nitrogênio e fibra pode ter contribuído com o aumento na retenção da energia. Meng; Slominski (2005) e Gallardo et al. (2017), ao suplementarem multi-carboidrase ou fitase em dietas a base de farelo de canola em frangos de corte, verificaram efeitos favoráveis para o aproveitamento da energia e fibra. Por outro lado, Mushtaq et al. (2007), ao suplementarem β -glucanase e xilanase a dieta dos frangos contendo farelo de canola, não verificaram efeitos positivos no uso de energia. Dessa forma, acredita-se que a suplementação da fitase na dieta das aves reduz a energia para a produção de mucina, devido ao maior turnover celular, causado pelo fitato presente na dieta dos frangos (COWIESON et al., 2011), promovendo melhor uso da energia. O aproveitamento da fibra com a suplementação combinada da multi-carboidrase e fitase sugere redução dos efeitos negativos na utilização da fibra do farelo de canola.

Os resultados do presente estudo indicam que a digestibilidade dos aminoácidos aparente e estandardizados foram aumentados nos frangos que consumiram o farelo de canola suplementados com enzimas, comparadas com aqueles sem enzimas. Isso confirma os efeitos benéficos das enzimas na digestibilidade das proteínas, aumentando a absorção dos aminoácidos (KIARIE et al., 2010; COWIESON et al., 2011; GALLARDO et al., 2017).

Os resultados encontrados concordam com Cowieson; Ravindran (2007), ao sugerirem que os efeitos da fitase, na retenção do nitrogênio e na redução de perdas de aminoácidos endógenas, deveu-se à clivagem do fitato-proteína e não ao aumento da digestibilidade dos aminoácidos. De acordo com Cowieson et al. (2017), o fitato se liga à proteína sob condições ácidas, formando complexos binários de proteínas fitato, impossibilitando a ação da pepsina nesses complexos.

Os resultados do presente estudo indicam que a digestibilidade dos aminoácidos foi melhor nos frangos que receberam dietas suplementadas com enzimas exógenas, confirmando benefícios das enzimas na digestão das proteínas e, absorção dos aminoácidos (COWIESON; BEDFORD, 2009; KIARIE et al., 2010; COWIESON et al., 2011). Porém, as enzimas multicaboidrase ou fitase, quando adicionadas ao farelo de canola, influenciaram positivamente na digestibilidade aparente e estandardizado dos aminoácidos.

Segundo Emiola et al. (2009), o aumento da digestibilidade dos aminoácidos depende do nível de atividade enzimática e disponibilidade de substratos, como ocorreu na digestibilidade dos nutrientes e aminoácidos do farelo de canola.

Estudo realizado por Gallardo et al. (2017), utilizando frangos de corte na fase inicial, encontraram efeitos positivos na digestibilidade dos aminoácidos em frangos de corte alimentados com dieta à base de farelo de canola suplementado com enzimas exógenas. E os resultados encontrados por Kong; Adeola (2011) relataram que a suplementação de fitase em

frangos de corte melhorou em 3% a digestibilidade de 18 aminoácidos em dietas contendo 38% de farelo de canola, como o presente estudo.

A combinação de multi-carboidrase e fitase foram caracterizados como uma alternativa viável no aproveitamento dos nutrientes e da energia do farelo de canola. A fitase isolada pode ser uma estratégia eficaz no aumento da digestibilidade dos aminoácidos do farelo de canola.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Opportunities and challenges in using exogenous enzyme to improve non ruminant animal production. **Journal of Animal Science**, v.89, p.3189-3218, 2011.

ANNISON, G.; MOUGHAN, P. J.; THOMAS, D. V. Nutritive activity of soluble rice bran arabinoxylans in broiler diets. **British Poultry Science**, v.36, p.479-488, 1995.

AMERAH, A. M. et al. Effect of exogenous xylanase, amylase, and protease as single or combined activities on nutrient digestibility and growth performance of broilers fed corn/soy diets. **Poultry Science**, v. 96, p.807-816, 2017.

BAO, Y. M.; ROMERO, L. F.; COWIESON, A. J. Functional patterns of exogenous enzymes in different feed ingredients. **World's Poultry Science Journal**, v.69, p.759-774, 2013.

BAREKATAIN, M. R.; NOBLET, J.; WU, S. B.; IJI, P. A.; CHOCT, M.; SWICK, R. A. Effect of sorghum distillers dried grains with solubles and microbial enzymes on metabolizable and net energy values of broiler diets. **Poultry Science**, v. 93, p. 1-9, 2014.

BEDFORD, M.; COWIESON, A. J. Exogenous Enzymes and their effects on Intestinal microbiology. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, p. 76-85, 2012.

CAMPBELL, G. L.; CAMPBELL, L. D.; BLAIRI, R. Calculation of metabolizable energy for ingredients incorporated at low levels into a reference diet. **Poultry Science**, v. 62, p. 705-707, 1983.

COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Effect of phytic acid and microbial phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of growing broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, London, v. 98, n. 4, p. 745-752, 2007.

COWIESON, A. J.; BEDFORD, M. R. The effect of phytase and carbohydrase on ileal amino acid digestibility in monogastric diets: Complementary mode of action?. **Worlds Poultry Science Journal**, v.65, p.609-624, 2009.

COWIESON, A. J.; BEDFORD, M. R.; RAVINDRAN, V. Interactions between xylanase and glucanase in maize-soy based diets for broilers. **British Poultry Science**, v. 51, n. 2, p. 246-257, 2010.

COWIESON, A. J.; WILCOCK, P.; BEDFORD, M. R. Superdos-ing effects of phytase in poultry and other monogastrics. **World's Poultry Science Journal**, v.67, p.225-235, 2011.

COWIESON, A. J. et al. A systematic view on the effect of phytase on ileal amino acid digestibility in broilers. **Animal Feed Science and Technology**, v.225, p.182-194, 2017.

DADALT, J. C. et al. Ileal Amino Acid digestibility of Broken Rice Fed to Postweaned Piglets with or without Multicarbohydase and Phytase Supplementation. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 29, p. 1483-1489, 2016.

DADALT, J.C. et al. Ileal amino acid digestibility in micronized full fat soybean meal and textured soy flour fed to piglets with or without multicarbohydase and phytase supplementation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 229, p. 106-116, 2017.

EMIOLA, I. A. et al. Growth performance and nutrient digestibility in pigs fed wheat distillers dried grains with solubles-based diets supplemented with a multicarbohydase enzyme. **Journal of Animal Science**, v.87, p.2315-2322, 2009.

GALLARDO, C. et al. Effects of multi-carbohydase and phytase on standardized ileal digestibility of amino acids and apparent metabolizable energy in canola meal fed to broiler chicks. **Poultry Science**, v. 96, p. 3305-3313, 2017.

GALLARDO, C.; DADALT, J. C.; TRINDADE NETO, M. A. Nitrogen retention, energy, and amino acid digestibility of wheat bran, without or with multicarbohydase and phytase supplementation, fed to broiler chickens¹. **Journal of Animal Science**, v. 96, p. 2371-2379, 2018.

GALLARDO, C.; DADALT, J. C.; TRINDADE NETO, M. A. Carbohydrases and phytase with rice bran, effects on amino acid digestibility and energy use in broiler chickens. **Animal**, v. 14, p. 482-490, 2019.

JÓZEFIK, D. et al. Multi-carbohydrase and phytase supplementation improves growth performance and liver insulin receptor sensitivity in broiler chickens fed diets containing full-fat rapeseed. **Poultry Science**, v. 89, p. 1939-1946, 2010.

KIARIE, E. et al Influence of phytase and carbohydrase enzymes on apparent ileal nutrient and standardized ileal amino acid digestibility in growing pigs fed wheat and barley-based diets. **Livestock Science**, v.134, p.85-87, 2010.

KIARIE, E. L. F.; ROMERO, RAVINDRAN, R. Xylanase supplementation improves growth performance of broiler chickens fed either corn/corn DDGS or wheat/wheat bran based diets. **Poultry Science**, v.93, p.1186-1196, 2014.

KIARIE, E.; WALSH M. C.; NYACHOTI, C. M. Performance, digestive function and mucosal responses to selected feed additives for pigs. **Journal of Animal Science**, v. 94, p. 169-180, 2016.

KARIMI, A.; MIN, Y.; LU, C. Assessment of potential enhancing effects of a carbohydrase mixture on phytase efficacy in male broiler chicks fed phosphorus deficient diets from 1 to 18 days of age. **Poultry Science**, v.92, p.192-198, 2013.

KONG, C.; ADEOLA, O. Protein utilization and amino acid digestibility of canola meal in

response to Phytase in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 90, n. 7, p. 1508-1515, 2011.

LIU, S. Y.; SELLE, P. H.; COWIESON, A. J. Strategies to enhance the performance of pigs and poultry on sorghum-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 181, p. 1- 14, 2015.

LI, S. et al. Effect of beta-glucanase supplementation to hullless barley- or wheat-soybean meal diets on the digestibilities of energy, protein, beta-glucans, and amino acids in young pigs. **Journal of Animal Science**, v.74, p.1649-1656, 1996.

MEDEL, P.; SALADO, S.; DE BLAS, J. C.; MATEOS, G. G. Processed cereals in diets for early weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 82, n. 3-4, p. 145-156, 1999.

MENG, X.; SLOMINSKI, B. A. Nutritive value of corn, soybeanmeal, canola meal, and peas for broiler chickens as affected by amulticarbohydrase preparation of cell wall degrading enzymes. **Poultry Science**, v.84, p.1242-1251, 2005.

MUSHTAQ, T. et al. Influenceof canola meal-based diets supplemented with exogenous enzyme and digestible lysine on performance, digestibility, carcass, and immunity responses of broiler chickens. **Poultry Science**, v.86, p.2144-2151, 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of poultry. 9th ed. Washington, DC: National Academy of Sciences, 1994. 155 p.

NYACHOTI, C. M.; DE LANGE, C. F.; SCHULZE, H. Estimating endogenous amino acid flows at the terminal ileum and true ileal amino acid digestibilities in feedstuffs for growing pigs using the homoarginine method. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 12, p. 3206-3213, 1997.

RAVINDRAN, V.; SELLE, P. H.; BRYDEN, W. L. Effects of phytase supplementation, individually and in combination, with glycanase, on the nutritive value of wheat and barley. **Poultry Science**, v.78, p.1588-1595, 1999.

ROSTAGNO, H. S. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2017. 488 p.

SELLE, P. H. et al. Phytate and phytase: Consequences for protein utilisation. **Nutrition Research Reviews**, v.13, p.255-278, 2000.

SANDS, J. S. et al. Responses of pigs to *Aspergillus niger* phytase supplementation of low-protein or high-phytin diets. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 2581-2589, 2009.

SLOMINSKI, B. A. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. **Poultry Science**, v. 90, p. 2013-2023, 2011.

STATISTICAL ANALISYS SYSTEM (SAS). **User's guide**. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc., 2012.

TRINDADE NETO, M. A.; DADALT, J. C.; GALLARDO, C. Nutrient and energy balance, and amino acid digestibility in weaned piglets fed wheat bran and an exogenous enzyme combination. **Animal**, v.14, p.499-507, 2020.

WOYENGO, T. A.; KIARIE, E.; NYACHOTI, C. M. Energy and amino acid utilization in expeller-extracted canola meal fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.88, p.1433-1441, 2010.

WOYENGO, T. A.; NYACHOTI, C. M. Review: Supplementation of phytase and carbohydrases to diets for poultry. **Canadian Journal of Animal Science**, v.91, p.177-192, 2011.

ZIJLSTRA, R. T.; OWUSU-ASIEDU, A.; SIMMINS, P. H. Future of NSP-degrading enzymes to improve nutrient utilization of coproducts and gut health in pigs. **Livestock Science**, v.134, p.255-257, 2010.

CAPÍTULO 3

O capítulo III intitulado “**Balanço dos nutrientes, da energia e a digestibilidade ileal dos aminoácidos do farelo de girassol e farelo de linhaça, com ou sem suplementação de multi-carboidrase e fitase, em frangos de corte** de acordo com as normas do periódico “Animal”

Balanço dos nutrientes, da energia e a digestibilidade ileal dos aminoácidos do farelo de girassol e farelo de linhaça, com ou sem suplementação de multi-carboidrase e fitase, em frangos de corte

Objetivo deste estudo foi determinar os efeitos da inclusão de enzimas exógenas na digestibilidade de alguns ingredientes pelo frango de corte. No experimento 1 (28º aos 32º dias de idade), avaliou-se o balanço nutricional e uso aparente de energia e no experimento 2 (33º aos 35º dias de idade) avaliou-se a digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos. Os ingredientes avaliados foram: farelo de girassol e farelo de linhaça. Foram utilizados 184 frangos de corte machos, entre 21º e 35º dias de idade, foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado para receberem os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2 x 2 (0 e 200 mg/kg multi-carboidrase; 0 e 50 mg/kg fitase) aplicados em cinco repetições, com quatro aves cada. Um grupo adicional de aves foi alimentados com uma dieta à base de milho (experimento 1) e uma dieta basal de 5% de caseína e amido de milho (experimento 2), usado para determinar os coeficientes do balanço de nutrientes e energia e os coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos, aplicados em seis repetições, com quatro aves cada em ambos experimentos. Nos primeiros sete dias as aves foram adaptadas às instalações e alimentadas com as dietas experimentais. No experimento 1, procedeu-se a coleta de excretas e, a partir do 33º dia (experimento 2) as aves receberam nova dieta até o 35º dia de idade, quando se deu o abate para coleta do conteúdo ileal. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC GLM do SAS 9.2. Isoladas ou combinadas, as enzimas multi-carboidrase e fitase melhoraram o balanço de nutrientes, e ao uso de energia, e a combinação das enzimas foram uma alternativa na digestibilidade dos aminoácidos do farelo de girassol. A combinação das enzimas influenciou no balanço de nutrientes e uso de energia e a fitase promoveu melhora sobre a digestibilidade dos aminoácidos do farelo de linhaça.

Palavras chave: digestibilidade estandardizada, ingredientes alternativos, monogástricos.

1. INTRODUÇÃO

O grão de milho como fonte de energia e o farelo de soja como fonte proteica são os ingredientes mais comumente utilizados na alimentação das aves, porém, devido a preços altos e por serem ingredientes imprevisíveis, outros ingredientes vegetais podem ser uma alternativa para a dieta das aves (COWIESON; BEDFORD, 2009; KIARIE; NYACHOTI, 2009).

No entanto, a maioria dos ingredientes vegetais usados na alimentação das aves contém compostos antinutricionais, como os polissacarídeos não amiláceos e os fitatos que prejudicam o aproveitamento do próprio ingrediente (WOYENGO; NYACHOTI, 2011) dessa forma, tem-se utilizado enzimas exógenas com objetivo de aumentar o aproveitamento dos nutrientes e uso de energia (COWIESON et al., 2010; BEDFORD; COWIESON, 2012; DADALT et al., 2016, 2017; GALLARDO et al., 2017, 2018, 2019; TRINDADE NETO et al., 2020) em pesquisas com frangos de corte e suínos.

A fitase tem potencial em minimizar os efeitos negativos do ácido fítico, na descomplexação do fitato, e as carboidrases em aumentar o valor nutricional da dieta, eliminando o efeito encapsulador dos nutrientes presente na parede celular e, portanto, melhorando as disponibilidades dos nutrientes, além de diminuir os efeitos antinutricionais dos PNA e fitato (KIARIE et al., 2016; DADALT et al., 2016; GALLARDO et al., 2019).

Portanto, pesquisas anteriores mostraram melhor aproveitamento dos nutrientes, da energia e digestibilidade dos aminoácidos com a suplementação das enzimas exógenas, para suínos e frangos de corte (SANDS et al., 2009; COWIESON; BEDFORD, 2009; KONG e ADEOLA, 2011; DADALT et al., 2016, 2017; GALLARDO et al. 2017, 2018, 2019).

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi determinar o balanço nutricional, uso de energia, digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos do farelo de girassol e farelo

de linhaça, com uso de enzimas isoladas ou conjugadas, em frangos de corte na fase dos 28 aos 35 dias de idade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios de digestibilidade e coleta de material ileal foram conduzidos na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ, Botucatu/SP. Todos os procedimentos experimentais foram revisados e aprovados pelo comitê de ética da UNESP e protocolados sob o nº 0094/2018 (anexo 1).

Período experimental, animais, instalações e dietas experimentais

Aos 21 dias de idade, os frangos foram alojados em gaiolas de metabolismo, para adaptação das aves e recebimento das dietas experimentais. As avaliações do farelo de girassol e farelo de linhaça (Tabela 9), na presença ou não de enzimas exógenas, foram realizadas entre o período de 28 a 35 dias de idade, por meio de dois experimentos. No experimento 1, dos 28 aos 32 dias de idade, avaliou-se o balanço nutricional e o uso da energia pelo método de coleta total de excretas. No experimento 2, realizou-se dos 33 aos 35 dias de idade, e aos 35 dias de idade os frangos foram pesados, abatidos e coletado o conteúdo ileal para a avaliação da digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos.

No experimento 1, as dietas foram constituídas à base de milho e fornecida de forma farelada. As dietas do experimento 2 foram à base de amido de milho, fornecidas na forma de pellets. E para dieta controle, foi formulada com 5% de caseína para determinação das perdas endógenas dos aminoácidos. O óxido de cromo III (Cr_2O_3) foi adicionado em 0,3% a todas as dietas do segundo experimento como marcador indigestível. O ingrediente teste foi incluído

na dieta pela substituição de 20% da dieta basal, na matéria natural. Todas as dietas foram suplementadas com vitaminas e minerais, atendendo as exigências nutricionais dos frangos de corte na fase de crescimento (Rostagno et al. 2017) como mostra a Tabela 10.

Os frangos foram alojados em gaiolas metabólicas de arame galvanizado, com área de 1,00 x 0,50 m. Os comedouros foram do tipo frontal e os bebedouros do tipo *nipple*. Todas as gaiolas estavam equipadas com bandeja previamente preparada e revestida com plástico para o recolhimento das excretas.

Tabela 9. Composição bromatológica e aminoacídica do farelo de girassol e farelo de linhaça testados em frangos de corte dos 28 aos 35 dias de idade¹.

Item %	Ingredientes	
	Farelo de girassol	Farelo de linhaça
Matéria Seca (%)	90,96	89,84
Proteína bruta (%)	29,36	37,68
Energia bruta (kcal/kg)	4387	4174
Extrato etéreo (%)	4,85	5,93
Cálcio (%)	0,60	0,81
Fósforo total (%)	1,01	0,93
Fibra detergente neutro (%)	32,09	20,66
AA essenciais (%)		
Arginina	2,06	3,28
Histidina	0,59	0,75
Isoleucina	1,03	1,47
Leucina	1,56	2,08
Lisina	0,78	1,40
Metionina	0,44	0,65
Fenilalanina	1,29	1,65
Treonina	0,87	1,30
Triptofano	1,02	1,00
Valina	1,26	1,75
AA não essenciais (%)		
Alanina	1,31	1,60
Asparagina	2,78	3,20
Cistina	0,45	0,60
Glutamina	4,45	6,68
Glicina	0,29	2,05
Prolina	1,10	1,35
Serina	1,45	1,50
Tirosina	0,89	0,87

¹Valores na matéria natural

Tabela 10. Composição percentual e valores calculados das dietas usadas nos ensaios de digestibilidade para coleta total de excretas e ileal¹.

Ingredientes (%)	Coleta total	Coleta ileal
	DB	DB ₂
Milho	85,01	-
Amido	-	50,27
Óleo de soja	2,00	1,20
Cloreto de colina 60%	0,02	0,02
Sal	0,25	0,32
Bicarbonato de sódio	0,38	0,35
Calcário calcítico	0,81	0,69
Fosfato bicálcico	2,40	2,37
Celulose	5,00	5,00
Dextrose anidra	-	30,00
Caseína	-	5,00
Oxido de cromo	-	0,30
Premix vit. + mineral ⁴	0,50	0,50
Caulin ³	3,63	3,98
Total	100	100
Valores calculados		
Matéria seca (%)	88,80	92,93
Proteína bruta (%)	6,70	4,21
Cálcio (%)	0,92	0,86
Fósforo disponível (%)	0,40	0,34
EM (kcal/kg)	3050	3100
Sódio (%)	0,22	0,22
Cloro (%)	0,20	0,19
Ácido linoleico (%)	2,68	0,63

¹Inclusão do ingrediente teste de forma natural. DB: dieta à base de milho; DB₂: dieta à base de amido de milho e caseína. ³Premix vitamínico-mineral por kg de ração: vitamina A 9.000 UI; vitamina D3 1.600 UI; vitamina E 14 UI; vitamina K3 1,5 mg; vitamina B1 1 mg; vitamina B2 4 mg; ácido pantotênico 8,28 mg; vitamina B6 18 mg; vitamina B12 12 mμg; niacina 0,03 mg; ácido fólico 0,3 mg; biotina 0,05 mg; selênio 0,25 mg; Cu 9 mg; Fe 30 mg; I 1 mg; Zn 60 mg Mn 60mg. ⁴Caulin: caulin mineral, usado como inerte para ajustar a formulação

Delineamento experimental e enzimas utilizadas

As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado para receberem os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2 x 2 (0 e 200 mg/kg multi-carboidrase; 0 e 50 mg/kg fitase), aplicados em cinco repetições, com quatro aves cada. Um grupo adicional de aves foi alimentado com uma dieta à base de milho (experimento 1) e uma dieta basal de 5% de caseína e amido de milho (experimento 2), usado para determinar os coeficientes do balanço de nutrientes e energia e os coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos, aplicados em seis repetições, com quatro aves cada, em ambos os experimentos. Nos primeiros sete dias, as aves foram adaptadas às instalações e alimentadas com as dietas experimentais.

As enzimas utilizadas foram o complexo multi-carboidrase, o qual é formado por: alfa-galactosidase (mínimo, 35 U/g), galactomananase (mínimo, 110 U/g), xilanase (mínimo, 1.500 U/g), beta-glucanase (mínimo, 1.100 U/g), obtidas da fermentação de *Aspergillus niger* e *Aspergillus oryzae*. A fitase (GenoPhos®) é derivada do *Saccharomyces cerevisiae* contendo genes de *Escherichia coli* e *Citrobacter braakii* com atividades de fitase (mínimo, 10.000 FTU/g), a qual foi adicionada 500 FTU/kg de ração. A unidade (U) de alfa-galactosidase é definida como a quantidade da enzima que libera 1 µmol p- nitrophenol/min. A unidade de galactomananase corresponde à quantidade da enzima capaz de diminuir a metade da viscosidade inicial do galactomanano/min. A unidade de xilanase é definida como a quantidade da enzima que produz 1 µmol de xilose/min a pH 5,5 a 50°C, e a unidade de betaglucanase corresponde à quantidade da enzima para produzir 1 µmol de beta-glucano/min a pH 4,8 a 50°C. A unidade de fitase (FTU) é definida como a quantidade de enzima necessária para libertar 1 mmol fosfato inorgânico por minuto, a pH 5,5 a 37°C.

Balanço de nutrientes e uso aparente de energia

Durante o período experimental do balanço de nutrientes e o uso aparente de energia, foram colhidas as excretas duas vezes por dia, por quatro dias consecutivos, às 08h e às 16h. Ao final, foi efetuado o controle do consumo de alimento por gaiola.

As excretas foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas por repetição e armazenadas em freezer a -16°C. Ao final do período experimental, foi determinada a quantidade de ração consumida, bem como a quantidade total de excretas produzidas, que foram descongeladas e homogeneizadas, retirada uma alíquota de cada repetição, pesada e, novamente, congeladas a -40°C, para posterior pré-secagem em liofilizador.

Na determinação do balanço aparente da MS, PB, Ca, P e FDN e valor da EM dos ingredientes testes, foram adotadas as orientações de Medel et al. (1999). Os valores de EM aparente foram determinados segundo Campbell et al. (1983):

$$EMIT = EBIT - [(EFIT - (1 - X) * EFDR) / X]$$

Onde: EMIT: energia metabolizável do ingrediente teste; EBIT: energia bruta do ingrediente teste; EFIT: energia da excreta proveniente do tratamento com o ingrediente teste; EFDR: energia das fezes proveniente do tratamento, usando dieta referência; X: inclusão do ingrediente teste à dieta referência.

Digestibilidade ileal aparente (DIA) e digestibilidade ileal estandardizada (DIE) dos aminoácidos

Após 48 horas de consumo das dietas a base de amido (controle) e controle + ingrediente teste (CI - tratamentos), os frangos foram abatidos para retirada de 10 cm do íleo terminal, aproximadamente 2 cm antes da junção ileocecal. O conteúdo ileal foi coletado em

potes plásticos identificados e armazenados em congelador a -20°C, para posteriores procedimentos e análises.

Os cálculos da DIA e DIE (%) dos aminoácidos foram realizados segundo a metodologia descrita por Nyachoti et al. (1997):

$$\text{DIAAA (\%)} = 100 - [100 \times (\text{AA}_{\text{digesta}} \times \text{CrO}_2 \text{ dieta}) / (\text{AA}_{\text{dieta}} \times \text{CrO}_{2\text{digesta}})]$$

A DIA aparente foi estandardizada, usando as médias das perdas endógenas dos aminoácidos (AAEL; g/kg), calculada com a seguinte fórmula:

$$\text{AAEL (g/kg)} = \text{AA}_{\text{digesta}} \times (\text{CrO}_2 \text{ dieta} / \text{CrO}_{2\text{digesta}})$$

Os cálculos da DIE (%) dos aminoácidos foram calculados segundo a seguinte fórmula:

$$\text{DIEAA (\%)} = [\text{DIAAA} + (\text{AAEL}/\text{AA}_{\text{dieta}})] \times 100$$

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados foi realizada com o auxílio do pacote estatístico SAS (2012) com critério de 5% de significância, para determinar os efeitos dos fatores e da interação. A homogeneidade das variâncias e a normalidade dos resíduos foram verificadas pelo teste de Hartley e a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk. O modelo estatístico adotado está representado a seguir:

$$Y_{ij} = \mu + a_i + b_j + (a_i \times b_j) + e_{ij}$$

Onde: Y_{ij} = variável resposta dos frangos alimentados com multi-carboidrase e fitase;

μ = efeito geral da média;

a_i = efeito fixo da multi-carboidrase;

b_j = efeito fixo da fitase;

$(a_i \times b_j)$ = efeito da interação entre multi-carboidrase e fitase;

e_{ij} = erro (resíduo).

3. RESULTADOS

Farelo de girassol

Os resultados do balanço dos nutrientes e energia metabolizável aparente do farelo de girassol para frangos de corte são apresentados na Tabela 11. A suplementação isolada ou combinada das enzimas teve efeito positivo ($P < 0,05$) no balanço dos nutrientes e uso da energia. Houve interação ($P < 0,05$) da multi-carboidrase e fitase no aproveitamento do cálcio, fósforo e fibra.

A inclusão isolada da multi-carboidrase mostrou efeito ($P < 0,05$) no aproveitamento da matéria seca, nitrogênio e energia. E a combinação das enzimas multi-carboidrase e fitase aumentou em 11,75% o aproveitamento do cálcio e 11,30%, a fibra, comparado ao tratamento sem enzimas.

Os resultados da digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos do farelo de girassol, na presença ou não de enzimas exógenas, são apresentados nas Tabelas 12 e 13, respectivamente. No geral, a suplementação isolada ou combinada das enzimas mostrou maiores coeficientes de digestibilidade para todos os aminoácidos avaliados, quando comparados ao do tratamento sem enzimas.

Houve interação ($P < 0,05$) da multi-carboidrase e fitase na digestibilidade aparente dos aminoácidos do farelo de girassol, para todos os aminoácidos analisados, com exceção da

arginina. A arginina apresentou efeito ($P < 0,05$) com a adição isolada de multi-carboidrase e fitase. Na digestibilidade estandardizada dos aminoácidos, houve efeito ($P < 0,05$) de interação para triptofano, valina, asparagina, glicina, prolina, serina e tirosina. E com a inclusão isolada da fitase, houve efeito ($P < 0,05$) à digestibilidade estandardizada para a arginina, leucina, fenilalanina e alanina. A inclusão isolada da multi-carboidrase indicou tendência significativa para a arginina ($P = 0,084$), histidina ($P = 0,097$), lisina ($P = 0,055$) e glutamina ($P = 0,083$).

As médias da digestibilidade aparente dos dezessete aminoácidos avaliados, foram: 87,36% sem enzima, 90,88% com multi-carboidrase, 89,92% com fitase e 89,62% combinação das duas enzimas. E para a digestibilidade estandardizada as respectivas médias foram: 95,93% sem enzima, 96,23 com multi-carboidrase, 95,98% com fitase e 96,56% combinação das duas enzimas.

A digestibilidade aparente dos aminoácidos melhorou em 2,59% e, para a digestibilidade estandardizada dos aminoácidos, em 0,66%, com a combinação de multicarboidrase e fitase, comparado ao tratamento sem enzimas.

Tabela 11. Balanço nutricional do farelo de girassol, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte.

Item % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
MS	0,768	0,791	0,763	0,780	0,369	0,001	0,061	0,483
N	0,756	0,767	0,744	0,763	0,467	0,005	0,098	0,365
EMA	2013	2171	1996	2112	29,414	0,001	0,216	0,492
kcal/kg								
Ca	0,715	0,773	0,683	0,799	1,183	0,001	0,806	0,028
P	0,372	0,573	0,469	0,760	0,559	0,001	0,001	0,001
FDN	0,478	0,488	0,443	0,532	0,517	0,001	0,415	0,001
EM/EB	0,435	0,469	0,431	0,456	0,636	0,001	0,214	0,492

N=5; ¹MS: Matéria seca; N: Nitrogênio; EMA: Energia metabolizável aparente; Ca: Cálcio; P: Fósforo; FDN: Fibra em detergente neutro. ²EPM, Erro padrão da média.

Tabela 12. Coeficiente de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos do farelo de girassol, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.

Item %	Fitase ² 0		Fitase 50		EPM ³	P-valor ⁴		
	MC ¹	MC	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFita
	0	200						se
AA essenciais								
Arginina	92,48	94,65	94,34	94,84	1,010	0,039	0,010	0,086
Histidina	93,12	95,06	94,92	94,71	0,804	0,050	0,028	0,009
Isoleucina	83,69	87,28	88,15	85,85	1,708	0,050	0,412	0,001
Leucina	88,13	92,05	91,82	91,26	1,171	0,014	0,006	0,001
Lisina	87,10	91,23	88,18	86,90	1,792	0,095	0,061	0,004
Metionina	93,57	94,13	95,21	93,03	1,478	0,685	0,239	0,050
Fenilalanina	92,31	94,15	94,21	94,82	1,025	0,104	0,002	0,027
Treonina	85,00	89,69	89,00	89,11	1,742	0,043	0,007	0,010
Triptofano	83,94	86,17	82,47	87,65	0,829	0,076	0,004	0,031
Valina	89,17	91,97	91,69	91,33	1,450	0,167	0,078	0,027
AA não essenciais								
Alanina	89,81	93,10	92,34	92,22	1,310	0,188	0,018	0,012
Aspargina	86,61	91,18	90,47	90,51	1,527	0,033	0,004	0,004
Glutamina	91,98	93,68	93,95	93,41	1,149	0,118	0,277	0,045
Glicina	84,24	86,15	87,25	84,67	1,563	0,289	0,636	0,005
Prolina	77,09	86,63	78,11	78,25	1,879	0,001	0,001	0,001
Serina	77,13	84,85	84,25	83,17	2,129	0,012	0,003	0,001
Tirosina	89,73	93,02	92,28	91,85	1,522	0,326	0,050	0,015

N=5; ¹MC, multi-carboidrase (0 e 200 mg/kg na dieta), (200 mg/kg de MC contendo 700 U de α -galactosidase, 2 200 U de galactomananase, 30 000 U de xylanase e 22 000 U de β -glucanase/kg na dieta). ²Fitase, fitase (0 e 50 mg/kg na dieta). ³EPM, Erro padrão da média.

Tabela 13. Coeficiente de digestibilidade ileal estandardizada dos aminoácidos do farelo de girassol, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.

Item %	Fitase ² 0		Fitase 50		EPM ³	P-valor ⁴		
	MC ¹	MC	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFita
	0	200						se
AA essenciais								
Arginina	96,07	97,80	97,54	96,12	1,043	0,084	0,028	0,228
Histidina	96,82	97,79	97,84	96,60	0,802	0,097	0,125	0,110
Isoleucina	96,19	96,88	98,16	98,79	1,523	0,234	0,527	0,453
Leucina	95,72	96,72	96,14	95,96	1,478	0,118	0,023	0,119
Lisina	95,22	97,89	97,90	97,24	1,609	0,055	0,052	0,126
Metionina	98,86	98,98	98,41	98,17	1,363	0,922	0,318	0,770
Fenilalanina	96,90	97,86	98,21	97,68	1,024	0,105	0,006	0,122
Treonina	97,63	97,30	97,10	97,06	1,547	0,112	0,060	0,248
Triptofano	87,02	89,32	82,59	93,74	0,829	0,067	0,001	0,004
Valina	96,66	98,24	97,49	98,99	1,146	0,034	0,401	0,044
AA não essenciais								
Alanina	95,01	97,10	97,65	96,01	1,341	0,139	0,035	0,108
Aspargina	95,79	96,70	96,38	97,24	1,520	0,029	0,012	0,039
Glutamina	98,74	98,19	98,70	98,60	0,997	0,083	0,492	0,551
Glicina	89,87	90,57	92,01	93,86	1,623	0,335	0,338	0,048
Prolina	92,27	94,05	92,81	95,63	1,440	0,761	0,040	0,007
Serina	96,35	96,59	97,28	97,43	1,424	0,012	0,100	0,005
Tirosina	96,61	96,85	97,46	97,68	1,159	0,030	0,223	0,010

N=5; ¹MC, multi-carboidrase (0 e 200 mg/kg na dieta), (200 mg/kg de MC contendo 700 U de α -galactosidase, 2 200 U de galactomananase, 30 000 U de xylanase e 22 000 U de β -glucanase/kg na dieta). ²Fitase, fitase (0 e 50 mg/kg na dieta). ³EPM, Erro padrão da média.

Farelo de linhaça

Resultados positivos ($P<0,05$) da inclusão das enzimas foram identificados sobre o aproveitamento dos nutrientes e da energia, suplementados com enzimas exógenas, são apresentados na Tabela 14. No presente estudo, observou-se que as aves alimentadas com farelo de linhaça, sem suplementação de enzimas, diminuíram a eficiência no aproveitamento dos nutrientes, energia e aminoácidos, em comparação às dietas suplementadas de enzimas.

As enzimas combinadas interagiram ($P<0,05$) sobre o nitrogênio e energia. A inclusão isolada da multi-carboidrase apresentou efeito significativo ($P<0,05$) para a matéria seca e cálcio, enquanto que, na adição isolada da fitase, os efeitos ($P<0,05$) foram observados à matéria seca, cálcio, fósforo e fibra.

A combinação das enzimas aumentou 4,08% o aproveitamento do nitrogênio e 5,21% na energia, comparada ao grupo sem enzimas. A suplementação isolada da fitase incrementou a matéria seca em 2,97%, a retenção do cálcio em 10,11%, do fósforo em 8,10% e a fibra em 11,89%, em comparação à dieta sem enzimas.

Os resultados de digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos do farelo de linhaça, com ou sem enzimas exógenas, estão apresentados nas Tabelas 15 e 16. A inclusão das enzimas isoladas ou combinadas influenciou ($P<0,05$) positivamente a digestibilidade dos aminoácidos.

Houve interação positiva ($P<0,05$) da multi-carboidrase e fitase na digestibilidade aparente da isoleucina, lisina, metionina, treonina, triptofano, glicina e prolina. Com relação à combinação das enzimas, houve melhora de 3,38% na digestibilidade aparente dos aminoácidos do farelo de linhaça, em comparação a dietas sem enzimas. Na digestibilidade estandardizada dos aminoácidos, os efeitos de interação ($P<0,05$) das duas enzimas mais evidentes foram para isoleucina, metionina, lisina, triptofano e prolina, mostrando melhora de 3,62% com a combinação das enzimas.

As aves alimentadas com farelo de linhaça suplementadas isoladas com fitase apresentaram efeito para a digestibilidade aparente aos seguintes aminoácidos, arginina, histidina, leucina, fenilalanina, valina, alanina e asparagina. Com a adição isolada de multi-carboidrase, os efeitos pronunciados foram a asparagina e serina. Na digestibilidade estandardizada, as aves suplementadas com fitase apresentaram efeito a arginina, histidina, leucina, fenilalanina, treonina, valina, alanina, asparagina, glutamina e glicina. E no tratamento com multi-carboidrase os efeitos foram a fenilalanina, valina, asparagina, glutamina e glicina.

As médias dos coeficientes da digestibilidade aparente dos dezessete aminoácidos do farelo de linhaça, foram: 86,47% sem enzima; 87,40% na presença de multi-carboidrase; 88,54% na presença de fitase e 89,40% multi-carboidrase e fitase. Para a digestibilidade estandardizada para os mesmos aminoácidos analisados foram: 91,37% sem enzima; 92,43% para multi-carboidrase; 94,00% para fitase e 94,68% multi-carboidrase e fitase.

Tabela 14. Balanço nutricional do farelo de linhaça, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte.

Item % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
MS	0,774	0,799	0,797	0,787	0,367	0,003	0,013	0,481
N	0,539	0,545	0,544	0,561	0,429	0,021	0,179	0,028
EMA	3073	3096	3153	3233	11,668	0,004	0,001	0,027
kcal/kg								
Ca	0,663	0,720	0,730	0,714	1,236	0,003	0,001	0,126
P	0,580	0,612	0,627	0,613	1,113	0,232	0,019	0,129
FDN	0,454	0,460	0,508	0,464	1,188	0,235	0,029	0,134
EM/EB	0,635	0,649	0,651	0,668	0,241	0,004	0,001	0,028

N=5; ¹MS: Matéria seca; N: Nitrogênio; EMA: Energia metabolizável aparente; Ca: Cálcio; P: Fósforo; FDN: Fibra em detergente neutro. ²EPM, Erro padrão da média.

Tabela 15. Coeficiente de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos do farelo de linhaça, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.

Item %	Fitase ² 0		Fitase 50		EPM ³	P-valor ⁴		
	MC ¹	MC	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFita
	0	200						se
AA essenciais								
Arginina	88,07	89,55	92,18	91,66	1,679	0,066	0,013	0,996
Histidina	94,00	94,13	95,35	95,16	0,842	0,224	0,045	0,385
Isoleucina	85,45	83,20	84,88	87,74	2,044	0,744	0,045	0,013
Leucina	86,49	86,96	89,96	88,99	2,087	0,199	0,028	0,412
Lisina	86,87	82,91	88,69	90,05	1,915	0,148	<0,001	0,007
Metionina	91,86	89,69	93,24	94,02	1,846	0,416	0,003	0,043
Fenilalanina	89,47	91,02	92,09	91,10	1,669	0,107	0,050	0,722
Treonina	86,33	84,76	86,80	87,79	1,628	0,696	0,029	0,049
Triptofano	78,19	90,35	86,12	91,45	0,789	0,001	0,006	0,001
Valina	87,64	88,10	91,02	90,76	1,477	0,116	0,007	0,344
AA não essenciais								
Alanina	87,60	88,50	91,06	90,62	1,964	0,181	0,048	0,716
Aspargina	86,57	87,57	87,79	86,05	1,752	0,050	0,031	0,439
Glutamina	91,29	90,53	91,25	92,89	1,384	0,485	0,080	0,071
Glicina	85,99	85,81	86,23	89,23	1,629	0,050	0,023	0,044
Prolina	76,40	84,66	80,60	84,98	1,998	<0,001	0,050	0,016
Serina	79,90	80,31	79,20	77,57	2,394	0,027	0,794	0,984
Tirosina	87,94	87,71	88,66	89,71	1,788	0,597	0,112	0,447

N=5; ¹MC, multi-carboidrase (0 e 200 mg/kg na dieta), (200 mg/kg de MC contendo 700 U de α -galactosidase, 2 200 U de galactomananase, 30 000 U de xylanase e 22 000 U de β -glucanase/kg na dieta). ²Fitase, fitase (0 e 50 mg/kg na dieta). ³EPM, Erro padrão da média.

⁴Quando médias tiver P<0,05 mantem-se diferentes entre si.

Tabela 16. Coeficiente de digestibilidade ileal estandardizada dos aminoácidos do farelo de linhaça, combinado ou não com enzimas, em frangos de corte aos 35 dias de idade.

Item %	Fitase ² 0		Fitase 50		EPM ³	P-valor ⁴		
	MC ¹	MC	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFita
	0	200						se
AA essenciais								
Arginina	91,14	91,59	93,25	94,74	1,279	0,109	0,001	0,379
Histidina	93,33	94,47	96,75	97,39	0,842	0,312	0,045	0,518
Isoleucina	93,83	92,65	94,66	97,42	0,213	1,359	0,001	0,005
Leucina	91,22	91,29	94,84	93,67	1,899	0,279	0,009	0,312
Lisina	93,87	90,41	95,05	96,16	1,533	0,105	0,001	0,004
Metionina	97,77	94,65	98,68	99,60	1,592	0,143	0,001	0,012
Fenilalanina	91,63	95,02	95,90	94,97	1,214	0,038	0,001	0,768
Treonina	91,23	92,11	95,18	94,72	1,654	0,352	0,002	0,828
Triptofano	78,29	90,46	92,38	93,54	0,789	0,001	0,001	0,001
Valina	93,42	94,01	94,76	93,69	1,470	0,043	0,007	0,324
AA não essenciais								
Alanina	91,31	92,85	93,33	92,76	1,990	0,115	0,042	0,952
Aspargina	91,38	92,78	92,93	92,81	1,753	0,050	0,037	0,767
Glutamina	94,34	95,01	95,76	95,17	1,243	0,049	0,005	0,516
Glicina	89,60	90,22	90,83	90,50	1,791	0,047	0,013	0,217
Prolina	87,67	90,39	90,27	93,53	2,124	0,006	0,373	0,047
Serina	91,43	91,28	90,50	93,06	1,819	0,721	0,204	0,862
Tirosina	91,91	92,07	92,91	95,90	1,848	0,497	0,106	0,617

N=5; ¹MC, multi-carboidrase (0 e 200 mg/kg na dieta), (200 mg/kg de MC contendo 700 U de α -galactosidase, 2 200 U de galactomananase, 30 000 U de xylanase e 22 000 U de β -glucanase/kg na dieta). ²Fitase, fitase (0 e 50 mg/kg na dieta). ³EPM, Erro padrão da média.

⁴Quando médias tiver P<0,05 mantem-se diferentes entre si.

4. DISCUSSÃO

Farelo de girassol

Grande parte dos trabalhos encontrados na literatura sobre a digestibilidade do farelo de girassol, enfatiza benefícios no uso de xilanase e glucanase, para frangos de corte em fase de crescimento. A adição de enzimas exógenas nas dietas das aves auxilia no aproveitamento dos ingredientes, para quebrar e hidrolisar a estrutura da parede celular dos grãos (ADEOLA; COWIESON, 2011), aumentando a disponibilidade dos nutrientes, energia e aminoácidos.

Os efeitos no aproveitamento dos nutrientes e uso da energia encontrado no presente estudo foi semelhante àqueles descritos por Gallardo (2016), ao suplementar fitase e carboidrases nas dietas a base de farelo de girassol em frangos de corte. Fafiolu et al. (2015), estudando a digestibilidade do farelo de girassol em frangas, com ou sem a inclusão de xilanase e β -glucanases, observaram que as suplementações enzimáticas favorecem o aproveitamento da material seca, proteína, fibra e cinzas, quando compararam à dieta sem enzimas.

Segundo Düsterhöft et al. (1997) e Egli et al. (2002), o farelo de girassol apresenta em sua composição em média 27,6% de PNA e 0,4 a 6,4% de fitatos. Com isso, as características do farelo de girassol foram determinantes para ação das enzimas, conforme os tratamentos estudados, e a resposta foi maximizada pela suplementação das enzimas.

A presença de fibra solúvel no farelo de girassol pode aumentar a viscosidade intestinal, dificultando a digestão e a absorção dos nutrientes, resultando em menor aproveitamento da energia (FREITAS; SAKOMURA; EZEQUIEL, 2006). A quebra da parede celular do farelo de girassol pelas carboidrases, diminui a viscosidade intestinal, estabilizando a produção de muco, diminuindo absorção de água e permitindo que as enzimas endógenas interajam com os substratos (SLOMINKI, 2011).

O efeito aditivo no aproveitamento do cálcio e o fósforo indicou que as enzimas tiveram substrato suficiente para atuar na liberação dos minerais. Como foi observado, houve aumento no aproveitamento do cálcio e fósforo, devido a ambos os minerais participarem do mesmo complexo cálcio-fitato (EMIOLA et al., 2009).

A fibra mostrou maior aproveitamento com a combinação das enzimas, um aumento de 11,30% no aproveitamento da fibra, comparado à dieta sem enzimas. Este efeito positivo pode estar associado à especificidade das enzimas, promovendo melhor ação, quando comparado à suplementação individual de enzimas (SLOMINSKI, 2011). A ação combinada das enzimas pode resultar na maior utilização dos nutrientes e desempenho animal (COWIESON et al., 2017; DADALT et al., 2017). Assim, rações com ingredientes ricos em fibra visam aumentar o uso de energia contida na fibra, e reduzir os efeitos antinutricionais, dos PNA presente nos ingredientes (FAFIOLU et al., 2015).

O aumento da suplementação das enzimas multi-carboidrase e fitase ao farelo de girassol aumentou a digestibilidade dos aminoácidos, assemelhando-se aos resultados encontrados por Cowieson; Ravindran (2007); Kong; Adeola (2011) e Gallardo (2016). Com o aumento da digestibilidade, houve a quebra dos PNA por ação das carboidrases e possível neutralização do fitato por ação da fitase, reduzindo as propriedades estruturais ou químicas do fitato e da proteína no farelo de girassol. Segundo Selle; Ravindran (2007), pode haver uma redução no aproveitamento dos aminoácidos quando a capacidade de complexação entre o fitato e as proteínas, durante a passagem do alimento, reduz a atividade das proteases. Logo, a capacidade das proteína de ligar-se ao fitato é determinada por sua estrutura, e a capacidade do fitato de ligar-se às proteínas é determinada pela sua solubilidade, a qual depende do grau de complexação com os minerais (OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2008).

A suplementação das enzimas exógenas apresentou-se como alternativa favorável para o maior aproveitamento dos nutrientes e energia. E a combinação das enzimas são uma opção

para aumentar a digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos do farelo de girassol.

Farelo de linhaça

De forma geral, poucos são os trabalhos encontrados na literatura sobre o aproveitamento dos nutrientes, energia e aminoácidos do farelo de linhaça para frangos de corte. Os valores encontrados do aproveitamento dos nutrientes, energia e aminoácidos do farelo de linhaça, suplementados ou não com enzimas exógenas, abrem caminhos para novos estudos.

A adição de enzimas exógenas nas dietas das aves auxilia no aproveitamento dos ingredientes, para quebrar e hidrolisar a estrutura da parede celular dos grãos, aumentando a disponibilidade dos nutrientes, energia e aminoácidos (COWIESON; RAVINDRAN, 2007; WOYENGO et al., 2010; KARIMI et al., 2013; DADALT et al., 2016; GALLARDO et al., 2018, 2019).

As enzimas carboidrases destroem a parede celular, liberando os nutrientes para melhor absorção (GALLARDO et al., 2017, 2018) pelas aves. Essas enzimas também reduzem a viscosidade da digesta (KIARIE et al., 2016), facilitando o contato entre as enzimas endógenas e exógenas com os compostos químicos, como a fitase e fitato (WOYENGO; NYACHOTI, 2011).

A inclusão das enzimas apresentou um aumento sobre a retenção do nitrogênio, em comparação ao tratamento sem enzimas. O aumento do nitrogênio está relacionado à maior hidrólise das proteínas, aumentando sua disponibilidade para absorção. No entanto, Gallardo et al. (2017) observaram um resultado similar ao presente estudo, combinando fitase e carboidrases nas dietas contendo o farelo de canola fornecido às aves.

No aproveitamento do cálcio e o fósforo, indicou-se que as enzimas tiveram substrato suficiente para atuar na liberação dos minerais, aumentando o aproveitamento de ambos minerais, devido ao fato de participarem do mesmo complexo cálcio-fitato (EMIOLA et al., 2009).

Houve melhora no aproveitamento da fibra na presença das enzimas, comparado ao tratamento sem enzimas. Esse efeito ocorreu devido à especificidade da enzima com substrato. Como relatado por Adeola; Cowieson (2011), alimentos com maior quantidade de PNA propiciam melhor resposta à suplementação enzimática, sugerindo que a adição da fitase reduz o efeito negativo sobre a utilização da fibra do farelo de linhaça. Como observado por Gallardo et al. (2019), ao suplementarem fitase nas dietas com farelo de arroz em frangos, em que encontraram uma resposta semelhante ao do presente estudo.

A suplementação enzimática na alimentação dos frangos permitiu aumento na digestibilidade aparente e standardizada dos aminoácidos nos frangos aos 35 dias de idade. Os frangos que consumiram as dietas contendo enzimas apresentaram melhores coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos.

Utilizando dietas à base de trigo e sorgo, suplementadas com carboidrases e fitase, em frangos de corte de 7 a 28 dias, observaram-se efeitos semelhantes ao do presente estudo sobre a digestibilidade dos aminoácidos (SELLE et al., 2003). De acordo com Selle; Ravindran (2007), benefícios no aumento da retenção do nitrogênio e dos aminoácidos, promovidos pela adição de carboidrases ou fitases em dietas de frangos de corte, estariam associados às reduções no fluxo e nas perdas dos aminoácidos endógenos. Isto se deveria à maior concentração desses aminoácidos na mucosa intestinal. Assim, ao diminuir as perdas endógenas, mantém-se o equilíbrio intestinal, favorecendo a absorção dos aminoácidos (OMOGBENIGUN; NYACHOTI; SLOMISKI, 2004; COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2006).

Resultados obtidos no presente experimento sugerem que, sob a ação das enzimas, pode

haver maior liberação dos aminoácidos complexados pelo fitato no farelo de linhaça, refletindo-se, portanto, no aumento da digestibilidade aparente e estandardizada, observada nos frangos aos 35 dias de idade.

A combinação de multicaboidrase e fitase foi a alternativa mais viável no aumento do aproveitamento dos nutrientes e energia. E a fitase mostrou ser mais eficaz no aumento da digestibilidade dos aminoácidos do farelo de linhaça.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Opportunities and challenges in using exogenous enzyme to improve non ruminant animal production. **Journal of Animal Science**, v.89, p.3189-3218, 2011.

CAMPBELL, G. L.; CAMPBELL, L. D.; BLAIRI, R. Calculation of metabolizable energy for ingredients incorporated at low levels into a reference diet. **Poultry Science**, v. 62, n. 4, p. 705-707, 1983.

COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science**, v. 85, p. 878-885, 2006.

COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Effect of phytic acid and microbial phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of growing broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, London, v. 98, n. 4, p. 745-752, 2007.

COWIESON, A. J.; BEDFORD, M. R. The effect of phytase and carbohydrase on ileal amino acid digestibility in monogastric diets: Complementary mode of action?. **Worlds Poultry Science Journal**, v.65, p.609-624, 2009.

COWIESON, A. J.; BEDFORD, M. R.; RAVINDRAN, V. Interactions between xylanase and glucanase in maize-soy based diets for broilers. **British Poultry Science**, v. 51, n. 2, p. 246-257, 2010.

COWIESON, A. J. et al. A systematic view on the effect of phytase on ileal amino acid digestibility in broilers. **Animal Feed Science and Technology**, v.225, p.182-194, 2017.

DADALT, J. C. et al. Ileal Amino Acid digestibility of Broken Rice Fed to Postweaned Piglets with or without Multicarbohydrase and Phytase Supplementation. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 29, p. 1483-1489, 2016.

DADALT, J.C. et al. Ileal amino acid digestibility in micronized full fat soybean meal and textured soy flour fed to piglets with or without multicarbohydrase and phytase supplementation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 229, p. 106-116, 2017.

DUSTERHOFT, E. M.; POSTHUMUS, M. A.; VORAGEN, A. G. J. Non-starch polysaccharides from sunflower (*Heliantus annuus*) meal and palm kernel (*Elaeis guinensis*) meal investigation of the structure of major polysaccharides. **Journal Science Food Agriculture**, v. 59, p. 151-160, 1997.

EGLI, I.; DAVIDSSON, L.; JUILLERAT, M. A.; BARCLAY, D.; HURRELL, R. J. The

influence of soaking and germination on the phytase activity and phytic acid content of grains and seeds potentially useful for complementary feeding. **Journal of Food Science**, v. 67, p. 3484-3488, 2002.

EMIOLA, I. A. et al. Growth performance and nutrient digestibility in pigs fed wheat distillers dried grains with solubles-based diets supplemented with a multicarbohydrase enzyme. **Journal of Animal Science**, v.87, p.2315-2322, 2009.

FAFIOLU, A. O. et al. Assessment of enzyme supplementation on growth performance and apparent nutrient digestibility in diets containing undecorticated sunflower seed meal in layer chicks. **Poultry Science**, v. 84, p.1917-1922, 2015.

FREITAS, E. R.; SAKOMURA, N. K.; EZEQUIEL, J. M. B. Energia metanolizável de alimentos na formulação de ração para frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 107-115, 2006.

GALLARDO, C. **Balanço de nutrientes, uso aparente da energia e digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos do farelo do trigo, farelo de arroz, sorgo, farelo de canola, farelo de girassol, milho, farelo de soja e soja integral extrusada, com inclusão isolada e combinada de multi-carboidrase e fitase, em frangos de corte dos 14 aos 21 dias de idade**. 2016. 97f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

GALLARDO, C. et al. Effects of multi-carbohydrase and phytase on standardized ileal digestibility of amino acids and apparent metabolizable energy in canola meal fed to broiler chicks. **Poultry Science**, v. 96, p. 3305-3313, 2017.

GALLARDO, C.; DADALT, J. C.; TRINDADE NETO, M. A. Nitrogen retention, energy, and amino acid digestibility of wheat bran, without or with multicarbohydrase and phytase supplementation, fed to broiler chickens¹. **Journal of Animal Science**, v. 96, p. 2371-2379, 2018.

GALLARDO, C.; DADALT, J. C.; TRINDADE NETO, M. A. Carbohydrases and phytase with rice bran, effects on amino acid digestibility and energy use in broiler chickens. **Animal**, v. 14, p. 482-490, 2019.

KARIMI, A.; MIN, Y.; LU, C. Assessment of potential enhancing effects of a carbohydrase mixture on phytase efficacy in male broiler chicks fed phosphorus deficient diets from 1 to 18 days of age. **Poultry Science**, v.92, p.192-198, 2013.

KIARIE, E.; WALSH M. C.; NYACHOTI, C. M. Performance, digestive function and mucosal responses to selected feed additives for pigs. **Journal of Animal Science**, v. 94, p. 169-180, 2016.

KONG, C.; ADEOLA, O. Protein utilization and amino acid digestibility of canola meal in response to Phytase in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 90, n. 7, p. 1508-1515, 2011.

MEDEL, P.; SALADO, S.; DE BLAS, J. C.; MATEOS, G. G. Processed cereals in diets for early weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 82, n. 3-4, p. 145-156, 1999.

NYACHOTI, C. M.; DE LANGE, C. F.; SCHULZE, H. Estimating endogenous amino acid flows at the terminal ileum and true ileal amino acid digestibilities in feedstuffs for growing pigs using the homoarginine method. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 12, p. 3206-3213, 1997.

OLUKOSI, O. A.; COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Energy utilization and growth performance of broilers receiving diets supplemented with enzymes containing carbohydrase or phytase activity individually or in combination. **British Journal of Nutrition**, v. 99, p. 682-690, 2008.

OMOGBENIGUN, F. O.; NYACHOTI, C. M.; SLOMINSKI, B. A. Dietary supplementation with multi-enzyme preparations improves nutrient and growth performance in weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 1053-1061, 2004.

ROSTAGNO, H. S. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2017. 488 p.

SELLE, P. H. et al. Influence of phytase and xylanase supplementation on growth performance and nutrient utilization of broilers offered wheat-based diets. **Asian-Australian Journal Animal Science**, v. 16, p. 394-402, 2003.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition-review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 135, p. 1-41, 2007.

SLOMINSKI, B. A. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. **Poultry Science**, v. 90, p. 2013-2023, 2011.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS). **User's guide**. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc., 2012.

WOYENGO, T. A.; KIARIE, E.; NYACHOTI, C. M. Energy and amino acid utilization in expeller-extracted canola meal fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.88, p.1433-1441, 2010.

WOYENGO, T. A.; NYACHOTI, C. M. Review: Supplementation of phytase and carbohydrases to diets for poultry. **Canadian Journal of Animal Science**, v.91, p.177-192, 2011.

IMPLICAÇÕES

Os principais ingredientes usados na formulação de ração das aves são organizados em tabelas e suas revisões trazem informações atualizadas sobre as disponibilidades nutricionais dos diferentes ingredientes.

O presente estudo trouxe grande contribuição aos pesquisadores e avicultores da área de nutrição de aves, já que, com base nos resultados obtidos dos diferentes ingredientes testados nas dietas dos frangos de corte, suplementados com multi-caboidrases e fitase, notou-se melhora sobre o aproveitamento dos nutrientes, da energia e aminoácidos. Isso porque a suplementação de enzimas exógenas nas dietas das aves ajuda no aproveitamento dos ingredientes, por apresentar fatores antinutricionais complexados sobre os grãos. Dessa forma, as enzimas atuam na hidrólise da parede celular dos grãos, liberando os nutrientes para melhor aproveitamento pelas aves.

A hipótese da presente pesquisa era sobre melhoria no aproveitamento dos nutrientes, da energia e aminoácidos dos diferentes ingredientes testes, com a suplementação das enzimas exógenas. Portanto, houve melhora para todos os ingredientes testados suplementados com as enzimas, comparado ao tratamento sem enzimas.

Diante dos fatos expostos, sugere-se a condução de outros experimentos para avaliação de novos ingredientes alternativos energéticos e proteicos, suplementados ou não com enzimas exógenas em frangos de corte.

Anexo 1

ATESTADO

Atesto que o Projeto "REAVALIANDO O BALANÇO DE NUTRIENTES E A DIGESTIBILIDADE DE AMINOÁCIDOS EM ALGUNS INGREDIENTES NA PRESENÇA OU NÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS EM FRANGOS DE CORTE " **Protocolo CEUA 0094/2018** , a ser conduzido por Robert Guaracy Aparecido Cardoso Araujo, responsável/orientador José Roberto Sartori, para fins de pesquisa científica/ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

Finalidade	PESQUISA CIENTÍFICA
Vigência do projeto	14/05/2018 a 25/06/2018
Nome Comum / Espécie / Linhagem	AVE / GALLUS GALLUS DOMESTICUS / Cobb
Raça	
Nº de animais machos	720
Nº de animais fêmeas	0
Nº de animais sexo indefinido	0
Peso médio de animais machos	0
Peso médio de animais fêmeas	0
Peso médio de animais sexo indefinido	0
Idade	0 ano(s) e 0 mes(es) e 1 dia(s).
Procedência	FMVZ

Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEUA em 10/05/2018



JOSÉ NICLAU PRÓSPERO PUOLI FILHO
Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu