UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINARIA E ZOOTECNIA

CONNIE GALLARDO VELA

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

Pirassununga - SP

2016

CONNIE GALLARDO VELA

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

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto

Pirassununga - SP

2016

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.3387
FMVZ

Gallardo Vela, Connie

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 / Connie Gallardo Vela. -- 2016.

97 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2016.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto.

1. Coeficientes de digestibilidade. 2. Ingredientes alternativos. 3. Retenção de nitrogênio. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeito de enzimas exógenas, usando frangos de corte e leitões desmamados", protocolado sob o nº 2843/2012, utilizando 1960 (mil novecentos e sessenta) frangos de corte e 175 (cento e setenta e cinco) suínos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no Uso de Animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião do dia seis de fevereiro de 2013.

We certify that the Research "Effect of exogenous enzymes on nutrient digestibility of some ingredients for weaned pigs", protocol number 2843/2012, utilizing 1960 (one thousand nine hundred and sixty) broilers and 175 (one hundred seventy-five) piglets, under the responsibility Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved at the meeting on 6 February of 2013.

São Paulo, 7 de outubro de 2014.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de
Paiva, nº87
Cidade Universitária "Armando de
Salles Oliveira"
São Paulo/SP – Brasil
05508-270

Fone: + 55 11 3091-7671/7676/0904
Fax: +55 11 3032-2224
E-mail: ceuvet@usp.br
<http://www.fmvz.usp.br>

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: GALLARDO VELA, Connie

Título: 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

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP) pela oportunidade e atenção.

Ao professor e orientador Dr. Messias Alves da Trindade Neto, pela confiança, pelos valiosos ensinamentos éticos, morais, pessoais e profissionais, pela amizade, paciência, pelo seu tempo, pelos conselhos e, principalmente, pela oportunidade e orientação no doutorado.

A minha família, pelo apoio incondicional em minhas decisões em todos os momentos e incentivo ao longo de minha trajetória.

A todos os amigos que formaram parte da equipe de trabalho supervisionada pelo professor Messias, pelo seu apoio durante todo o período experimental: Julio Cezar Dadalt, Janaina Cristina da Silva, Thiago William de Almeida, Gisele Dela Ricci, Bruna Alves e Gabriela Galvão.

Aos professores que ministraram aulas no programa de pós-graduação do Departamento de Nutrição e Produção Animal da USP que doaram seus conhecimentos e amizade aos alunos.

Ao professor Marcelo de Cerqueira César, pelos ensinamentos e pela oportunidade de estágio-docência na disciplina de Bioquímica da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

Ao professor Paulo Henrique Mazza Rodrigues, pela amizade, ensinamentos sobre análises de experimentos e pela oportunidade de estágio-docência na disciplina de Nutrição Animal na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus Pirassununga.

Aos amigos do Laboratório de Nutrição Animal por colocar à disposição a área experimental e o laboratório e contribuíram para a execução das análises laboratoriais: Renata, Simi, Ana e Ari.

A toda equipe do Programa de Pós-graduação, em especial ao Sr. João Paulo Barros; à Sra. Alessandra de Cassia Terassi da Silva; e à Sra. Fábiana Silene Iadéroza.

Aos funcionários da fábrica de rações da FMVZ – USP e do aviário pelo auxílio e serviços prestados.

Aos membros da banca avaliadora pelo seu tempo e pela correção do presente trabalho, colaborando para melhoria deste.

Aos amigos brasileiros e estrangeiros pela amizade e pelos instantes compartilhados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Programa de Estudantes Convênio de Pós-Graduação (PEC-PG), pela concessão da bolsa durante todo o curso de doutorado.

À Fundação de Amparo à pesquisa do estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro ao projeto (2012/00517-0).

A todos os nomes não mencionados que ajudaram na realização dos trabalhos.

“Ninguém caminha sem aprender a caminhar, sem aprender a fazer o caminho caminhando, refazendo e retocando o sonho pelo qual se pôs a caminhar.”

Paulo Freire

RESUMO

GALLARDO VELA, 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.** [Nutrient balance, energy apparent use and apparent and standardized ileal amino acid digestibility from wheat bran, rice bran, sorghum, canola meal, sunflower meal, corn, soybean meal and extruded soybean meal with individual or combined multi-carbohydrase and phytase supplementation from broiler chickens from 14 to 21 days old]. 2016. 97 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

O objetivo do presente estudo foi determinar, em presença de multi-carboidrase (MC: galactomananase, xilanase, beta-glucanase, e alfa-galactosidase) e fitase (10.000 FTU/g) o balanço nutricional, uso aparente da energia (EMA), a digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos em diferentes ingredientes usados na alimentação de frangos de corte. Sob o delineamento inteiramente casualizado 1960 frangos machos (Cobb 500) foram distribuídos do 1 aos 21 dias de idade para receberem cinco tratamentos, em sete repetições com sete aves cada. A adaptação das aves às gaiolas, sob níveis nutricionais dietéticos recomendados à fase, se deu do 1º ao 10º dia de idade. A seguir, receberam as dietas experimentais dos 11 aos 18 dias, quando se procedeu a coleta de excretas, período esse, definido como Ensaio 1. A partir do 19º dia as aves receberam nova dieta até os 21 dias de idade, quando se deu o abate para amostragens do conteúdo ileal, período definido como Ensaio 2. As dietas do período experimental foram: dieta de referência e quatro dietas a base de milho (Ensaio 1) e quatro dietas a base de amido de milho (Ensaio 2). As dietas experimentais tinham como única fonte de proteína 30% do ingrediente testado, sendo fornecidas sob arranjo fatorial 2 MC (0 ou 200 mg/kg) x 2 fitase (0 ou 50 mg/kg). Os ingredientes testados foram: farelo de trigo, farelo de arroz, sorgo, farelo de canola, farelo de girassol, milho, farelo de soja e soja integral extrusada. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC GLM do SAS 9.2. As enzimas melhoraram ($P < 0,05$) o balanço de nutrientes, a EMA, digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos nos diferentes ingredientes testados. Separada ou combinada a multi-carboidrase e fitase tiveram eficiência diferenciada para cada ingrediente estudado e utilizado na formulação das rações de frangos de corte na fase inicial, correspondente ao período de 14 aos 21 dias de idade.

Palavras-chave: Coeficientes de digestibilidade. Ingredientes alternativos. Retenção de nitrogênio

ABSTRACT

GALLARDO VELA, C. Nutrient balance, energy apparent use and apparent and standardized ileal amino acid digestibility from wheat bran, rice bran, sorghum, canola meal, sunflower meal, corn, soybean meal and extruded soybean meal with individual or combined multi-carbohydrase and phytase supplementation from broiler chickens from 14 to 21 days old. [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. 97 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

The aim of this study was to determine the effects of multi-carbohydrase (MC, that consist in: galactomannanase, xylanase, beta-glucanase and alpha-galactosidase) and phytase (10000 FTU/g of activity) the nutrients balance, apparent energy use (AME), apparent and standardized ileal amino acids digestibility in some feedstuffs fed to young chickens. Under a completely randomized design 1960 male broilers (Cobb 500) were allotted from 1 to 21 days old to receive five treatments in seven replicates with seven birds each. Birds cages adaptation under dietary nutritional levels recommended to the stage occurred from the 1st to 10th day of age. Then, the birds received the experimental diet from 11 to 18 days when was realized the excreta collection, period defined as Assay 1. From the 19th day the birds received the new diet until 21 days old when birds were slaughter for ileal digesta collection, this period was defined like Assay 2. The experimental diets were: one reference diet and four corn-based diets (Assay 1) and four corn-starch-based diets (Assay 2). The experimental diets containing 30% of ingredient test as a sole protein source in 2 MC (0 or 200 mg/kg) x 2 phytase (0 or 50 mg/kg) factorial arrangement. The ingredients tested were: wheat bran, rice bran, sorghum, canola meal, sunflower meal, corn, soybean meal and extruded soybean meal. Data were subjected to variance analysis using the PROC GLM of SAS 9.2. Enzymes improved ($P < 0.05$) the nutrients balance, AME use, apparent and standardized ileal amino acids digestibility on different tested ingredients. Isolated or combined the multi-carbohydrase and phytase have different efficiency for each studied ingredient and used on feed formulation for broiler chickens in initial phase, that corresponding from 14 to 21 days old.

Keywords: Digestibility coefficients. Alternative ingredients. Nitrogen retention.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição bromatológica dos ingredientes testados em frangos de corte dos 14 aos 21 dias de idade ¹	34
Tabela 2 – Composição da dieta referência e teste, com respectivas inclusões das enzimas exógenas usadas no balanço de nutrientes, uso aparente da energia (Ensaio 1) e digestibilidade ileal aparente e digestibilidade ileal estandardizada dos aminoácidos (Ensaio 2)	37
Tabela 3 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) do farelo de trigo com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade.....	42
Tabela 4 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de trigo com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade	45
Tabela 5 – Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de trigo com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade	46
Tabela 6 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) do farelo de arroz integral com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade.....	49
Tabela 7 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de arroz integral com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade	52
Tabela 8 – Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de arroz integral com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade.....	53

Tabela 9 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) do sorgo com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade.....	56
Tabela 10 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) do sorgo com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade	58
Tabela 11 – Coeficientes de digestibilidade ileal standardizada (%) dos aminoácidos (AA) do sorgo com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade	59
Tabela 12 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) do farelo de canola com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade.....	61
Tabela 13 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de canola com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade.....	63
Tabela 14 – Coeficientes de digestibilidade ileal standardizada (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de canola com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade	64
Tabela 15 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) do farelo de girassol com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade.....	66
Tabela 16 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de girassol com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade.....	68
Tabela 17 – Coeficientes de digestibilidade ileal standardizada (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de girassol com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade	69

Tabela 18 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) do milho com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade.....	71
Tabela 19 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) do milho com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade	73
Tabela 20 – Coeficientes de digestibilidade ileal standardizada (%) dos aminoácidos (AA) do milho com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade	74
Tabela 21 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) do farelo de soja com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade.....	76
Tabela 22 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de soja com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade.....	78
Tabela 23 – Coeficientes de digestibilidade ileal standardizada (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de soja com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade	79
Tabela 24 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) da soja integral extrusada com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade.....	81
Tabela 25 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) da soja integral extrusada com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade	83
Tabela 26 – Coeficientes de digestibilidade ileal standardizada (%) dos aminoácidos (AA) da soja integral extrusada com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade.....	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
°C	Graus célsius
AA	Aminoácidos
Ala	Alanina
Arg	Arginina
Asn	Asparagina
BR	Brasil
Ca	Cálcio
cm	Centímetro
Cys	Cisteína
EB	Energia bruta
EMA	Energia metabolizável aparente
EPM	Erro padrão da media
FDN	Fibra detergente neutro
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
FTU	Unidade de atividade de fitase
g	Grama
Gln	Glutamina
Gly	Glicina
His	Histidina
Ile	Isoleucina
kcal	Quilocaloria
kg	Quilograma
Leu	Leucina
Lys	Lisina
mm	Milímetro
M	Molar
MC	Multi-carboidrase
Met	Metionina
MM	Materia mineral
N	Nitrogênio
P	Fósforo
pH	Potencial de hidrogênio
Phe	Fenilalanina
PNA	Polissacarídeos não amiláceos
Pro	Prolina
R	Dieta de referência
Ser	Serina
Thr	Treonina
Tyr	Tirosina
USP	Universidade de São Paulo
UI	Unidade internacional
Val	Valina
VNP	Departamento de Nutrição e Produção Animal

SUMARIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	Digestibilidade e disponibilidade de nutrientes	19
2.2	Digestibilidade e aproveitamento de nutrientes em frangos de corte	20
2.3	Uso de ingredientes alternativos em dietas para frangos de corte	22
2.4	Presença de fatores antinutricionais em rações para frangos de corte	25
2.4.1	<i>Polissacarídeos não amiláceos</i>	25
2.4.2	<i>Fitatos</i>	26
2.5	Uso de enzimas nas rações de frangos de corte	27
2.5.1	<i>Carboidrases</i>	27
2.5.2	<i>Fitases</i>	29
3	MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1	Local experimental	31
3.2	Ingredientes testados	31
3.3	Enzimas testadas	34
3.4	Animais e instalações	35
3.5	Período experimental	35
3.6	Delineamento e dietas experimentais	36
3.7	Coleta de material experimental e análises químicas	38
3.7.1	<i>Ensaio 1: Balanço de nutrientes e uso aparente da energia</i>	38
3.7.2	<i>Ensaio 2: Digestibilidade ileal aparente e standardizada dos aminoácidos</i>	38
3.8	Cálculos	39
3.8.1	<i>Balanço de nutrientes e uso aparente da energia</i>	39
3.8.2	<i>Digestibilidade ileal aparente e standardizada dos aminoácidos</i>	40
3.9	Análise estatística	41
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1	Experimento I - Farelo de trigo	42
4.2	Experimento II - Farelo de arroz integral	48
4.3	Experimento III - Sorgo	55
4.4	Experimento IV: Farelo de canola	60

4.5	Experimento V: Farelo de Girassol.....	65
4.6	Experimento VI: Milho	70
4.7	Experimento VII: Farelo de soja.....	75
4.8	Experimento VIII: Soja integral extrusada	80
5	CONCLUSÕES.....	86
	REFERÊNCIAS.....	87

1 INTRODUÇÃO

A avicultura no Brasil tem forte impacto econômico, empregando direta e indiretamente mais de 3,6 milhões de pessoas, correspondendo a quase 1,5% do Produto Interno Bruto nacional (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL, 2015).

O crescimento da avicultura e avanços da nutrição tiveram grande importância no aumento e eficácia da produção, uma vez que o adequado ajuste nutricional das dietas, segundo as especificidades de cada fase, permite que a ave alcance seu potencial desempenho, conforme a sua finalidade genética. É sabido que a alimentação é o fator mais oneroso no custo de produção e pesquisas que apresentem soluções para reduzi-lo contribuem para viabilidade econômica da avicultura. Nesse sentido, o conhecimento do valor nutricional dos ingredientes das rações e da disponibilidade dos seus nutrientes, propicia a utilização mais racional dos mesmos na formulação de rações.

A maioria dos ingredientes vegetais usados na alimentação das aves contém compostos antinutricionais, como polissacarídeos não-amiláceos, taninos, fitatos, inibidores de enzimas, entre outros, que prejudicam o aproveitamento do próprio ingrediente e o desempenho do animal. Para aumentar a biodisponibilidade dos nutrientes em ingredientes de origem vegetal, tem-se focado no uso de enzimas exógenas nas pesquisas com aves e suínos (COWIESON; BEDFORD; RAVINDRAN, 2010; BEDFORD; COWIESON, 2012). Como ocorre na maioria das dietas, o melhor aproveitamento da energia e dos aminoácidos pode ser obtido quando se hidrolisam os polissacarídeos não-amiláceos encontrados nos grãos. Os polissacarídeos não-amiláceos (PNA) podem ser solúveis e insolúveis, sendo os insolúveis constituídos pela celulose, lignina e hemicelulose e os solúveis por pectina, gomas e algumas hemiceluloses (arabinoxilanos, arabinogalactanos, beta-glucanos, D-xilanos, D-glucanos, entre outros), (ANNISON; CHOCT, 1991).

Em dietas a base de grãos e cereais os PNA aumentam a viscosidade da digesta na cavidade intestinal, adsorvendo água e formando géis que prejudicam a eficácia das enzimas endógenas (BEDFORD; PARTRIDGE, 2010). Resultados satisfatórios contra a ação antinutritiva dos PNA, utilizando-se a enzima carboidrase, foram descritos por Woyengo e Nyachoti (2011).

O uso de enzimas exógenas permite reduzir fontes inorgânicas de minerais, por melhorar a digestibilidade dos constituintes orgânicos e inorgânicos das rações (BEDFORD;

COWIESON, 2012). O uso da fitase permite a redução da adição de fontes inorgânicas de minerais, especialmente de fósforo (COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2006; SLOMINSKI, 2011). A maior eficiência no aproveitamento dos nutrientes contribui para reduzir a contaminação ambiental em áreas onde a produção animal é intensiva. Além disso, o fósforo é o terceiro nutriente mais caro utilizado na formulação das rações para monogástricos, ficando atrás somente da energia e da proteína, particularmente dos aminoácidos sulfurados e da lisina (BOLLING et al., 2000).

Periodicamente são revisadas as tabelas de composição de ingredientes destinados às aves e suínos, quanto aos valores nutricionais dos principais ingredientes usados na formulação de rações. No entanto, grande parte das informações, referente à digestibilidade dos ingredientes, é proveniente de avaliações com frangos de corte em idades superiores as três primeiras semanas de idade. Tal opção se deve, principalmente, à facilidade nos procedimentos afins a coleta do material amostral. Todavia, dados gerados com animais mais velhos podem superestimar importantes informações a serem aplicadas na formulação das rações destinadas a animais mais jovens, devido às diferenças fisiológicas do trato digestório das aves adultas. A adaptação a alimentação é gradual e se dá em resposta aos substratos presentes na digesta e esses, provenientes das diferenças dietéticas adotadas na formulação de rações com o avançar da idade da ave.

Assim, o objetivo do presente estudo foi determinar o aparente balanço nutricional, o uso aparente da energia (EMA), digestibilidade ileal aparente e digestibilidade ileal estandardizada dos aminoácidos de diferentes ingredientes, na presença de enzimas exógenas, em frangos de corte dos 14 aos 21 dias de idade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Digestibilidade e disponibilidade de nutrientes

Sabe-se que os nutrientes das rações para frangos de corte não são totalmente disponíveis para as aves e os respectivos aproveitamentos dependem da disponibilidade, do nível de absorção e utilização de cada um deles, estabelecendo-se, então, seus valores de digestibilidade (JUANPERE et al., 2005; OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2007). A disponibilidade dos nutrientes depende dos processos de digestão, absorção e metabolismo ou utilização dos mesmos, a partir dos quais se determina a quantidade de nutrientes absorvidos e utilizados pelo animal (SIBBALD; SLINGER, 1963; OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2007). O uso de nutrientes específicos a cada fase da vida do animal deve estar relacionado à velocidade com que eles são absorvidos durante a digestão das rações (TAVERNARI et al., 2010). Assim, segundo Slominski (2011), o nutriente é disponível se puder ser usado para as funções metabólicas do organismo, ao chegar no tecido vivo do animal.

A digestibilidade aparente é determinada pela diferença entre a quantidade de nutriente consumido e a quantidade excretada. Todavia, a digestibilidade verdadeira é considerada pela diferença entre a quantidade de nutriente consumido e a quantidade excretada, sendo consideradas as perdas endógenas, subtraídas da quantidade total do nutriente presente nas excretas ou digesta (SIBBALD; SLINGER, 1963; NYACHOTI; DE LANGE; SCHULZE, 1997).

A digestibilidade está relacionada com a cinética, a viscosidade intestinal e a taxa de passagem da digesta pelo trato gastrointestinal (BEDFORD; COWIESON, 2012). A taxa de passagem dos alimentos tem influência direta sobre os mecanismos físicos de regulação do consumo, assim como, o tempo que os ingredientes das rações estarão expostos às enzimas digestivas e a absorção dos nutrientes pela mucosa. A viscosidade no conteúdo gastrointestinal diminui a taxa de difusão dos substratos e das enzimas digestivas, interferindo na microflora intestinal e nas funções fisiológicas do intestino (CHOCT et al., 2004). Alguns estudos de digestibilidade *in vitro* e *in vivo* determinaram o aproveitamento dos nutrientes e os ensaios *in vivo* foram considerados como os métodos mais confiáveis para estimar a biodisponibilidade dos nutrientes (WAYNE; XIUHUA, 2010). No trato gastrointestinal do animal vivo os nutrientes exógenos e endógenos se misturam e passam por reações, influenciadas por suas

concentrações, interações, competição, inibição, pela microbiota, fatores neurais e humorais que não podem ser observados nos ensaios *in vitro* (STEIN et al., 2007; TAVERNARI et al., 2010).

O trato gastrointestinal se adapta rapidamente às mudanças das dietas e às atividades das enzimas digestivas com o aumento da idade, quando são moduladas em resposta às necessidades fisiológicas, principalmente, pelo aumento dos açúcares e do teor de aminoácidos (OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2007). Logo, a capacidade dos frangos para digerir e absorver proteína dietética é influenciada, principalmente, pela idade e estado fisiológico (WAYNE; XIUHUA, 2010).

Ensaio referente à digestibilidade ileal dos aminoácidos consideram a diferença entre a quantidade ingerida desses nutrientes e a excretada pelo animal. É identificada com base no local em que é realizada a coleta de material, podendo ser pelo método de coleta fecal ou ileal (SIBBALD; SLINGER, 1963). No entanto, existe influência dos microrganismos, presentes no intestino grosso do animal, sobre a síntese ou degradação dos aminoácidos. Portanto, a melhor opção para estimar a digestibilidade dos aminoácidos é na porção terminal do íleo, quando o conteúdo ainda não sofreu interferência da microbiota do intestino grosso (STEIN et al., 2007; TAVERNARI et al., 2010). Assim, como sugere Slominski (2011), a digestibilidade do nutriente depende da formação do complexo de enzimas digestivas e substrato, com posterior liberação do produto da digestão. Finalmente, os produtos da digestão devem ser movidos do lume intestinal até o enterócito, para a absorção. Logo, o livre movimento das enzimas, sobre substratos e produtos, é essencial para a rápida digestão e difusão dos nutrientes no intestino.

2.2 Digestibilidade e aproveitamento de nutrientes em frangos de corte

Após a eclosão, as mudanças morfológicas e fisiológicas ocorridas no trato gastrointestinal são importantes para proporcionarem aumento na superfície de digestão e absorção (MACARI; FURLAN; GONZÁLES, 2002), visto que na primeira semana de vida dos frangos de corte, o crescimento alométrico do intestino delgado e do fígado é quatro e duas vezes maior, respectivamente, em relação ao peso corporal (NIR et al., 1994). Segundo Slominski (2011), a fase inicial nos frangos seria limitante para o aproveitamento dos nutrientes devido às características anátomo-fisiológicas diferenciadas do aparelho digestivo e as

dificuldades em digerir e absorver certos nutrientes. Os autores indicaram que pode existir grandes variações na digestibilidade de nutrientes em função da idade do animal.

Na primeira semana de vida da ave o intestino delgado tem seu peso rapidamente aumentado, proporcionalmente, acima da massa corporal, quando ocorrem rápidas trocas morfológicas e crescimento das vilosidades no duodeno, jejum e íleo. A taxa acelerada de desenvolvimento, após o nascimento, se reflete no desenvolvimento do intestino e na superfície de absorção (MACARI; FURLAN; GONZÁLES, 2002). No intestino delgado a máxima atividade da lipase foi observada no 4º dia, da tripsina e da quimiotripsina no 11º e da amilase no 17º dias de idade (NITSAN et al., 1991). Concomitantemente, ocorre a diminuição na taxa de passagem para que haja suficiente atividade enzimática por hidrólise e absorção de açúcares e lipídeos. Porém, a proteólise é mais limitada nos primeiros dias após a eclosão (NIR et al., 1994). Desse modo, acontece o progressivo aumento da área de absorção, das secreções pancreáticas e da capacidade hidrolítica na mucosa intestinal, sugerindo-se que a ingestão de ração, o crescimento intestinal com a idade da ave e atividade enzimática são eventos coordenados nas aves jovens para manter a eficiência na absorção dos nutrientes (NIR et al., 1994; COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2006).

Diversos estudos mostraram que as aves jovens apresentam limitada capacidade de absorção de nutrientes, devido à imaturidade do sistema digestivo e menor produção de enzimas endógenas, afetando a digestibilidade dos nutrientes (NITSAN et al., 1991; TRINDADE NETO et al., 2002). Animais mais velhos possuem microflora intestinal mais ativa e estável, o que favorece a fermentação cecal, por parte das bactérias da flora intestinal, diminuindo a taxa de passagem e aumentando a digestibilidade da fibra (OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2007).

Segundo Noblet et al. (1994), a eficiência da digestibilidade dos nutrientes melhora nos animais adultos e isso está relacionado com o aumento do peso corporal. Mas, é importante considerar as características químicas da ração, pois, grandes diferenças são observadas, quando o teor de fibra aumenta (TAVERNARI et al., 2010). Resultados obtidos por Cowieson, Acamovic e Bedford (2006) indicaram que a idade tem efeito positivo sobre os valores de energia metabolizável e a digestibilidade dos aminoácidos. Por outro lado, deve-se considerar que as diferenças de digestibilidade dos aminoácidos, em parte, devem-se as diferenças nos fluxos dos aminoácidos endógenos que aumentam com a idade, conforme o tipo de ingrediente e o consumo (OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2007; BEDFORD; COWIESON, 2012). Salienta-se, contudo, que a utilização de valores de digestibilidade dos aminoácidos, obtidos com aves adultas, para formular dietas destinadas a aves jovens ou sob diferente estado

fisiológico deve ser feita com cautela, considerando essas possíveis diferenças. Além disso, os resultados de digestibilidade das aves mudam com a idade, estando relacionadas com o rápido crescimento dos frangos de corte (WAYNE; XIUHUA, 2010).

2.3 Uso de ingredientes alternativos em dietas para frangos de corte

O milho moído e o farelo de soja são os ingredientes mais utilizados na formulação de rações de frangos de corte. No Brasil, existe um interesse contínuo na busca de ingredientes alternativos que possam ser incorporados como parte das rações dos frangos de corte, sem comprometer o desempenho dos mesmos e que sejam capazes de reduzir ou manter os custos das rações. De entre os ingredientes alternativos que podem ser utilizados na formulação de rações para frangos de corte encontram-se o farelo do trigo, farelo de arroz, farelo de canola, sorgo e farelo de girassol e adicionalmente, a soja integral extrusada.

Farelo de trigo

A utilização do trigo (*Triticum aestivum* L.) na forma de grãos constitui-se em mais uma alternativa da redução de custos de produção, uma vez que sua moagem propicia alto consumo de energia elétrica quando do preparo da ração (FARIA FILHO et al., 2001). No entanto, são raros os trabalhos que informam sobre a utilização de trigo na forma de grãos para frangos de corte, sobretudo na literatura nacional. O Farelo de trigo é o subproduto obtido após a moagem do grão de trigo (BEAUGRAND et al., 2004). Apresenta altos teores de arabinoxilanos (4 - 9%) e beta-glucanos (0,5 - 2,3%), (FINCHER; STONE, 2004), e o fósforo de sua constituição representa 55 a 79% complexado ao fitato (BEAUGRAND et al., 2004).

Farelo de arroz integral

O farelo de arroz é um subproduto do polimento realizado no beneficiamento do grão de arroz (*Oryza sativa* L.) sem casca. Constitui uma boa fonte de nutrientes na alimentação de frangos de corte, devido às quantidades consideráveis de proteína bruta (14,6%), extrato etéreo (13,77%) e energia metabolizável (2889 kcal/kg) em sua composição, representando 85% da

energia metabolizável do milho (3395 kcal/kg), (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2012). Mas, sua utilização na alimentação da ave deve ser limitada devido à presença de altas porcentagens de ácido fítico e fibra, que prejudicam a digestibilidade de todos os componentes nutritivos da dieta.

Farelo de canola

A possibilidade de uso da canola (*Brassica napus* L. var. oleifera e/ou *Brassica campestris* L. var. oleifera) na alimentação de frangos de corte pode reduzir a inclusão do farelo de soja como fonte protéica, além de permitir o aproveitamento desse subproduto da indústria (MENG et al., 2005). O farelo de canola é o subproduto resultante da moagem e extração do óleo do grão integral da canola por meio de solventes (CANOLA COUNCIL OF CANADÁ, 2009). Com relação ao teor de aminoácidos, compara-se favoravelmente ao farelo de soja, tendo menos lisina, porém mais metionina e cistina (CANOLA COUNCIL OF CANADÁ, 2009; SLOMINSKI, 2011). Contudo, o farelo de canola apresenta níveis inferiores de proteína, energia metabolizável e níveis superiores de fibra (SORREL; SHURSON, 1992). O farelo de canola apresenta 15,7% de PNA, 7,2 μ moles/g de glucosinolatos, 3,3% de ácido fítico (CANOLA COUNCIL OF CANADÁ, 2009). O seu alto teor de fibra deve-se à alta proporção de casca em relação ao tamanho da semente (14 - 16%), (SORREL; SHURSON, 1992). Dentro dos polissacarídeos presentes na parede celular, além dos arabinoxilanos e beta-glucanos, destacam-se os arabinogalactanos, galactanos, galactomananos, mananos e polisacáridos pécnicos (SLOMINSKI, 2011).

Farelo de girassol

O farelo de girassol é uma das principais oleaginosas produzida no mundo. É um subproduto obtido após a extração do óleo a partir das sementes descascadas do girassol (*Helianthus annuus*), quando se obtém 60 a 65% de proteína no endosperma e de 35 a 40% na casca (ALAGAWANY et al., 2015).

O farelo de girassol contém cerca de 30 a 34% de proteína bruta, 20 a 25% de celulose e 8 a 10% de lignina (SREDANOVIC et al., 2012). Esse alto teor de proteínas sugere o uso do farelo de girassol como ingrediente alternativo ao farelo de soja. No entanto, o alto teor de fibra afeta o valor nutritivo, se utilizado como ingrediente em rações para os frangos de corte. O

farelo de girassol contém em média 27,6% de polissacarídeos não amiláceos, dos quais 4,5% são solúveis e 23,1% insolúveis (DUSTERHOFT; POSTHUMUS; VORAGEN, 1997). Por outro lado, 67% do fósforo está complexado com fitato (ROSTAGNO et al., 2011). Estas características podem afetar a digestibilidade dos diferentes nutrientes e da energia.

Estudos indicaram diferentes composições químicas do farelo de girassol (SREDANOVIC et al., 2012; ALAGAWANY et al., 2015) e a variação pode ser devido aos métodos de processamento, conforme relataram Pinheiro et al. (2002). No entanto, o aumento na produção dos novos cultivares com alto teor de óleo, com vistas na produção de biodiesel e formulação das rações, sugere periódicas avaliações do subproduto.

Sorgo

O sorgo (*Sorghum bicolor*) é uma gramínea de origem africana (CARVALHO et al., 2010). O sorgo possui características nutritivas semelhantes às do milho, apesar do valor energético ligeiramente inferior, é um pouco mais rico em proteína, em torno de 8 a 9% (ROSTAGNO et al., 2011). Por outro lado, contém baixas concentrações de fibra e é considerado como um grão não viscoso, mas, a capacidade antinutricional da sua fibra limitaria o encapsulamento dos nutrientes e não ao aumento da viscosidade da digesta (SLOMINSKI, 2011).

Os altos teores de arabinoxilanos (4,6%) e beta-glucanos (0,5 - 2,3%) descritos por Fincher e Stone (2004), e do fósforo complexado ao fitato (63 - 85%) indicados por Godoy et al. (2005), afetariam a digestibilidade e disponibilidade dos nutrientes e da energia. No entanto, a presença de taninos no sorgo também reduziria a utilização dos seus nutrientes pelo animal (LIU; SELLE; COWIESON, 2013).

Soja integral extrusada

A produção de soja (*Glycine max* L.) destina-se, em sua maior parte, à obtenção de farelo e óleo. Entretanto, o consumo desses ingredientes está restrito às indústrias de ração para animais, sobretudo, suínos e aves que consomem cerca de 2/3 da produção mundial de farelo de soja (BELLAYER; SNIZEK JUNIOR, 1999).

Sendo a principal fonte proteica disponível para as dietas das aves e suínos, a soja em grão vem sendo estudada sob diferentes formas de processamento. Os processamentos desenvolvidos para a soja, além da extração de óleo na obtenção do farelo, têm priorizado o aproveitamento do valor energético do grão integral (TRINDADE NETO et al., 2002). Em condições ótimas, a extrusão da soja inativa os fatores antinutricionais como inibidores de proteases, lecitinas, saponinas e polissacarídeos não amiláceos, aumentando a digestibilidade dos nutrientes e o aproveitamento da energia (CARVALHO et al., 2008).

2.4 Presença de fatores antinutricionais em rações para frangos de corte

O termo “fator antinutricional” tem sido usado para descrever compostos ou classes de compostos presentes em ingredientes de origem vegetal, que quando consumidos, reduzem o valor nutritivo desses ingredientes (SLOMINSKI, 2011).

Os efeitos dos fatores antinutricionais em monogástricos são bastante distintos. Em alguns casos extremos, geralmente, estão associados à viscosidade, aspectos fisiológicos e morfológicos do sistema digestório, culminando nas alterações do tempo de trânsito intestinal, modificação na estrutura da mucosa intestinal, variação na taxa de absorção e utilização dos nutrientes da dieta (OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2007; RAVINDRAN, 2013).

2.4.1 Polissacarídeos não amiláceos

A parede celular dos ingredientes de origem vegetal contém polissacarídeos que estão configurados como polímeros de açúcares simples e devido à natureza de suas ligações químicas são resistentes à hidrólise enzimática no trato gastrintestinal dos monogástricos (SLOMINSKI, 2011; LIU; SELLE; COWIESON et al., 2013). Estes carboidratos são conhecidos como polissacarídeos não-amiláceos (PNA) ou não amídicos, termo mais apropriado para a fração conhecida como fibra bruta dos ingredientes de origem vegetal (OPALINSKI et al., 2010). Os PNA são classificados como solúveis e insolúveis, em função da sua estrutura primária, capacidade de formar solução homogênea ou não com a água e pela forma como se ligam aos outros componentes da parede celular (SLOMINSKI, 2011).

Em grãos de cereais incluindo o milho, os PNA principais são os arabinoxilanos e beta-glucanos, enquanto no farelo de soja e o farelo de canola predominam os arabinogalactanos, galactanos, galactomananos, mananos e polissacarídeos pécicos (SLOMINSKI, 2011). Segundo Opalinski et al. (2010), a presença dos PNA no lúmen intestinal aumenta a viscosidade da digesta na cavidade intestinal, adsorvendo água e formando géis que prejudicam a eficácia das enzimas endógenas. Torna o trânsito da digesta mais lento, reduzindo o tempo de interação das enzimas e substratos, bem como outros nutrientes, resultando na diminuição do aproveitamento da energia (ADEOLA; COWIESON, 2011). Induzem a diminuição do consumo de ração, permitindo a multiplicação exagerada de bactérias intestinais que podem alcançar áreas superiores do intestino delgado. Estas bactérias produzem ácidos que degradam enzimas responsáveis pela digestão dos lipídeos, diminuindo a absorção de outros nutrientes como pigmentos e vitaminas lipossolúveis (COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2006). Além disso, a microbiota utilizará outros nutrientes, como o amido e as proteínas da digesta, competindo assim com o animal.

2.4.2 *Fitatos*

O fitato é a principal forma de armazenamento do fósforo durante o desenvolvimento de grãos, legumes e sementes. Diferentes nomes têm sido utilizados para referir-se à molécula de fitato: ácido fítico, hexafosfato de mioinositol, mioinositol fosfato (COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2006). Segundo Selle e Ravindran (2007), do ponto de vista químico, o termo fitato refere-se ao sal do ácido fítico com único tipo de mineral (ex.: fitato de sódio ou de potássio). Entretanto, na prática, o termo fitato é comumente utilizado, independentemente, da forma na qual a molécula se encontra (forma livre ou complexada).

Dentre os fatores antinutritivos, consideram-se que o fitato possui alto teor de fósforo e facilidade de quelação, formando sais insolúveis com minerais, influenciando, assim, a digestão de nutrientes e diminuindo a energia metabolizável da ração (COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2006). Além dos minerais, o fitato interage com a proteína, lipídeos e o amido (SELLE; RAVINDRAN, 2007; SLOMINSKI, 2011). A formação de complexos proteicos reduz a disponibilidade das proteínas e complexos minerais apresentam-se insolúveis, afetando a absorção desses nutrientes. Isso se agrava quando dois cátions estão presentes, podendo ocorrer ligação sinérgica (CHOCT et al., 2004).

2.5 Uso de enzimas nas rações de frangos de corte

As enzimas digestivas têm sítio ativo que permite atuar na ruptura de determinada ligação química, sob condições favoráveis de temperatura, pH e umidade (JUANPERE et al., 2005). A suplementação de enzimas exógenas tem sido objeto de estudos, devido às limitações dos animais para a produção de algumas enzimas endógenas, capazes de atuar na digestão de certos componentes encontrados nos alimentos de origem vegetal. Segundo Slominski (2011), a suplementação de enzimas exógenas aumenta a digestibilidade e a eficiência de uso dos nutrientes e da energia. Entretanto, as enzimas exógenas não possuem função nutricional direta, auxiliando apenas no processo digestório, conferindo melhor digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta (ADEOLA; COWIESON, 2011).

A forma física da ração (farelada, granulada ou cereais integrais), a estrutura dos ingredientes e os métodos de processamento também podem afetar a eficácia das enzimas exógenas nas rações (NITRAYOVÁ et al., 2009). Contudo, a quantidade do substrato, a disponibilidade da energia e da proteína do próprio ingrediente influencia o efeito das enzimas sobre o aproveitamento da energia e digestibilidade dos aminoácidos contidos nos ingredientes da ração (WILKINSON et al., 2014). Deve-se considerar que a disponibilidade da energia e da proteína proveniente da suplementação de enzimas, dependerá também da fonte e do nível de adição da enzima (WAYNE; XIUHUA, 2010).

Algumas enzimas podem apresentar efeitos de aditividade ou de interação, sendo vantajoso o uso combinado delas, comparado ao uso individual (ADEOLA; COWIESON, 2011). No entanto, Olukosi, Cowieson e Adeola (2007) indicaram que o uso combinado de enzimas não apresenta nenhum benefício adicional na melhoria da utilização dos nutrientes, comparado ao uso individual. A eficácia das enzimas, isoladas ou formando complexos enzimáticos varia dependendo dos ingredientes. Logo, o uso correto do tipo de enzima pode promover redução nos custos das rações (NITRAYOVÁ et al., 2009).

2.5.1 *Carboidrases*

As carboidrases incluem todas as enzimas que hidrolisam polímeros de carboidratos. Uma função importante das carboidrases é hidrolisar os componentes da fibra (ADEOLA;

COWIESON, 2011). Comercialmente, as duas principais enzimas dentro do grupo das carboidrases, usadas na alimentação animal para degradar a fibra, são xilanase e beta-glucanase. A xilanase degrada os arabinoxilanos, especialmente presentes nos grãos e seus subprodutos. A beta-glucanase degrada beta-glucanos que prevalecem nos grãos (BEDFORD; PARTRIDGE, 2010). Outras enzimas que degradam a fibra, usadas na alimentação animal são menos difundidas (beta-mananase, pectinase e alfa-galactosidase), (ADEOLA; COWIESON, 2011).

Muitos ingredientes apresentam baixa digestibilidade, pois os animais não possuem enzimas necessárias para quebrar a complexa estrutura da parede celular e hidrolisar os PNA, limitando a disponibilidade dos nutrientes (SLOMINSKI, 2011). Uma vez hidrolisados, parte dos PNA pode ser aproveitado pelo organismo, quando convertidas a galactosídeos, galactose e glicose. Nesse sentido, o melhor aproveitamento da energia e dos aminoácidos das dietas se deve à hidrólise dos PNA (OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2007). Com isso, a ação enzimática sobre o conteúdo intestinal torna-se mais eficaz, promovendo melhora na digestibilidade dos nutrientes, aumento na velocidade de trânsito intestinal e redução da quantidade de água nas fezes, o que proporciona melhor qualidade de cama.

Trabalhos de Bedford e Partridge (2010) indicaram que a suplementação de carboidrases em dietas para frangos de corte, estaria associada a dois mecanismos: redução da viscosidade da digesta, resultando em aumento da despolimerização de arabinoxilanos e xilanos em componentes de menor peso molecular; e liberação dos nutrientes encapsulados nas estruturas da parede celular, favorecendo seu contato com as enzimas endógenas. Usando glicosidases em dietas à base de milho e farelo de soja, Juanpere et al. (2005) verificaram melhoria na digestibilidade dos nutrientes e aumento nos coeficientes de digestibilidade da matéria seca, lipídeos e amido que aumentaram 1,54; 6,58 e 1,03%, respectivamente.

É possível que as carboidrases melhorem a utilização do N e dos aminoácidos, aumentando o acesso das proteases às proteínas das rações (BEDFORD; PARTRIDGE, 2010). Além disso, a hidrólise realizada pelas carboidrases sobre os PNA aumenta a digestibilidade da energia, evitando-se aumentar a hidrólise dos sais biliares e reduzir a utilização da gordura (SLOMINSKI, 2011). Somado a isto, as carboidrases transferem a absorção de alguns nutrientes fornecedores de energia à porção proximal do intestino, o que diminui a concorrência dos microrganismos pelos nutrientes, melhorando a utilização da energia, devido à maior eficiência na absorção (BEDFORD; PARTRIDGE, 2010).

Tal qual acontece aos outros nutrientes, as carboidrases também estão envolvidas no aumento da disponibilidade dos minerais. Isto pode ser explicado pela relação entre o fitato e os PNA dos cultivares. Nos grãos de cereais e leguminosas, a maior parte do fósforo está ligado ao fitato. Por conseguinte, quando as carboidrases hidrolisam os seus substratos, o fósforo, outros minerais e o fitato podem ser expostos à ação das enzimas digestivas. Portanto, aumenta-se a disponibilidade dos minerais como resultado indireto da suplementação da carboidrases nas rações (WILKINSON et al., 2014).

2.5.2 *Fitases*

As fitases são enzimas que catalizam reações de hidrólise das ligações que complexam o grupo fosfato à molécula de mio-inositol, atuam na ruptura da molécula do fitato ou ácido fítico, aumentando a disponibilidade do fósforo (SELLE; RAVINDRAN, 2007). A maioria do fósforo presente nos ingredientes de origem vegetal encontra-se indisponível, em razão das ligações com moléculas de fitato, sendo relativamente indigerível por não ruminantes (COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2006). As aves apresentam baixa atividade de fitase endógena e as fitases microbianas suplementadas nas rações para frangos têm efeitos positivos na liberação do fósforo fítico (WILKINSON et al., 2014).

A fitase provoca a ruptura do complexo fósforo-fitato e segundo Maenz (2001) promove a retenção do fósforo e aumenta o aproveitamento da energia pelas aves. A molécula de fitato contém aproximadamente 28,2% de fósforo, o que caracteriza sua propriedade antinutricional, ao limitar o aproveitamento do mineral, além de complexar-se a proteína, aminoácidos, cátions, amido e enzimas, como a pepsina, tripsina, alfa-amilase e cofatores de enzimas (CHOCT et al., 2004; BEDFORD; COWIESON, 2012).

Os grupos fosfato do fitato também se associam as moléculas proteicas por meio de ligações terminais de resíduos de aspartato e glutamato, complexando outros minerais (MAENZ, 2001). Portanto, além de interferir na disponibilidade de fósforo, o fitato pode quelatar cátions de cálcio, magnésio, ferro, zinco e cobre, e comprometer a digestibilidade dos aminoácidos (COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2006).

A enzima fitase facilita a ação enzimática e a absorção de minerais. Seu uso permite menor inclusão de fósforo inorgânico, reduzindo os custos das 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). O fósforo fítico, juntamente com o excesso de fósforo inorgânico adicionado às rações, é eliminado nas fezes, provocando problemas ao meio ambiente, devido à ocorrência dos processos de eutrofização que provocam a diminuição do oxigênio nas águas dos rios e lagos, além de contaminarem o solo (MAENZ, 2001).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local experimental

Os ensaios de digestibilidade e coleta de material ileal foram conduzidos no setor de avicultura do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga. As análises bromatológicas do material experimental foram realizadas no Laboratório de Bromatologia e no Laboratório de Nutrição de Monogástricos do VNP-FMVZ-USP. Todos os procedimentos experimentais foram revisados e aprovados pelo comitê de ética da Universidade de São Paulo e protocolados sob o n. 2843/2012.

3.2 Ingredientes testados

Farelo de trigo

O farelo de trigo utilizado no estudo foi o trigo duro vermelho de primavera, processado em moinhos da fábrica de ração da PCAPS-USP, Pirassununga, sendo repassado em moinho de martelos com peneira de 3 mm.

Farelo de arroz integral

O farelo de arroz integral foi obtido e processado na empresa Polisul, (Santa Vitória do Palmar, RS). Os grãos foram moídos em um martelo de moenda media e após a moagem o farelo de arroz integral passou pelo peneiramento a 1,7 mm. O Farelo obtido foi recolhido em sacos, em seguida selados e armazenados em local fresco e seco por 10 dias, antes de ser utilizados no estudo.

Sorgo

O sorgo utilizado no presente estudo foi o híbrido vermelho (BR 305), baixo tanino, obtido de empresa comercial (Dekalb[®], São Paulo, SP). Na fábrica de ração da PCAPS-USP, Pirassununga, os grãos do sorgo foram moídos através de uma tela de malha de 3 mm antes de serem incorporados nas dietas.

Farelo de canola

O Farelo de canola utilizado neste estudo proveio da variedade oleífera amarela (*Yellow Brassica napus*), obtida da empresa Celena Alimentos S.A (Porto Alegre, RS). O farelo foi obtido pelos métodos de extração convencional, passando pela pre-secagem, trituração das sementes e retirada do óleo com uso de hexano.

Farelo de girassol

O farelo de girassol foi obtido da cooperativa Coopercitrus (Pirassununga, SP). O processamento originário do farelo de girassol foi: limpeza, quebra das sementes, separação das cascas via peneira vibratória e sucção de ar. A extração do óleo foi realizada pelo processo contínuo, utilizando o hexano como solvente.

Milho

O milho foi processado em moinhos da fábrica de ração da PCAPS-USP, Pirassununga, sendo repassado em moinho de martelos com peneira de 3 mm antes de serem incorporados nas dietas.

Farelo de soja

O farelo de soja era produto comercial (variedade AS 3570 IPRO) adquirido pela fábrica de ração da PCAPS-USP, Pirassununga. Na obtenção do farelo de soja o grão é esmagado em

moinho de rolo até a ruptura, reduzindo-o a $\frac{1}{4}$ do tamanho original. A casca é retirada (descascamento) e posteriormente, é aquecido a 50°C, aproximadamente. Em seguida, passa pela laminação até obtenção de flocos (0.4 mm de espessura e diâmetro entre 20 e 30 mm). A extração do óleo se dá com ação de solvente hexano. Depois de retirado o óleo, os flocos passam por secagem e recebem parte da casca, quando são torrados e moídos (BELLAYER; SNIZEK JUNIOR, 1999).

Soja integral extrusada

A soja integral extrusada utilizada no estudo foi obtida da fábrica de ração da PCAPS-USP, Pirassununga. No processo de extrusão os grãos de soja foram submetidos ao cozimento sob pressão mecânica (40 atm), umidade (40%) e alta temperatura (135°C) por 40 segundos. O processo de extrusão tem como finalidade: hidratar, misturar, aquecer (tratamento térmico), gelatinizar o amido, desnaturar as proteínas, destruir os micro-organismos e alguns componentes tóxicos (MENDES et al., 2004).

O controle de qualidade do farelo de soja e a soja integral extrusada foi realizado pelo teste da atividade ureática e solubilidade da proteína. A atividade da urease foi determinada segundo metodologia recomendada pela Associação Nacional dos Fabricantes de Rações (ANFAR, 1992) e expressa pela diferença de pH da amostra e do "branco". Enquanto a solubilidade da proteína em hidróxido de potássio (KOH) a 0,2%, foi estimada conforme metodologia proposta por Araba e Dale (1990).

A composição bromatológica dos ingredientes testados apresenta-se na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição bromatológica dos ingredientes testados em frangos de corte dos 14 aos 21 dias de idade¹

Item, %	Ingredientes ²							
	FT	FAI	Sorgo	FC	FG	Milho	FS	SIE
Materia seca	89,49	89,57	90,44	90,13	89,92	89,91	88,19	90,43
Proteína bruta	16,02	13,91	11,08	36,88	28,50	8,19	46,33	37,01
Energia bruta (kcal/kg)	3884	4221	3925	4212	4381	4012	4090	5071
Materia mineral	5,71	11,84	1,58	6,28	5,39	1,69	6,48	5,11
Cálcio	0,16	0,12	0,04	0,65	0,38	0,08	0,24	0,44
Fósforo total	0,99	1,53	0,26	1,04	0,77	0,57	0,50	0,51
Fibra detergente neutro	40,85	20,55	10,17	25,11	37,77	11,27	13,77	46,45
Extrato etéreo	3,15	16,02	-	1,24	1,67	-	-	-
Atividade ureática	-	-	-	-	-	-	0,06	0,03
Solubilidade em KOH	-	-	-	-	-	-	83,12	85,01
AA essenciais								
Arg	1,01	1,13	0,38	2,17	2,21	0,27	3,48	2,73
His	0,40	0,38	0,24	1,2	0,74	0,24	4,63	1,05
Ile	0,49	0,42	0,43	1,59	1,18	0,13	2,13	1,71
Leu	0,90	0,97	1,39	2,57	1,71	0,61	3,72	2,83
Lys	0,69	0,67	0,24	2,1	0,93	0,26	2,93	2,28
Met	0,24	0,22	0,17	0,77	0,59	0,06	0,58	0,56
Phe	0,52	0,62	0,54	1,41	1,44	0,20	2,69	1,79
Thr	0,64	0,64	0,35	1,64	1,02	0,22	2,12	1,51
Val	0,67	0,73	0,54	1,93	1,36	0,21	2,43	1,69
AA não essenciais								
Ala	0,81	0,89	0,97	1,63	1,41	0,40	2,13	1,64
Asn	1,14	1,45	0,74	2,44	2,88	0,37	5,41	4,53
Cys	0,34	0,15	0,18	0,85	0,55	0,04	0,98	0,52
Gln	4,01	1,71	2,31	5,89	4,56	0,83	8,07	6,46
Gly	0,81	0,65	0,35	1,71	0,39	0,15	0,52	1,45
Pro	0,65	0,62	0,83	2,22	1,14	0,54	2,20	1,78
Ser	1,32	0,71	0,48	1,52	1,46	0,38	2,76	1,94
Tyr	0,49	0,48	0,39	1,18	0,89	0,19	1,77	1,46

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores na material natural² Ingredientes testados: FT= farelo de trigo, FAI= farelo de arroz integral, FC= farelo de canola, FG = farelo de girassol, FS = farelo de soja, SIE = soja integral extrusada.

3.3 Enzimas testadas

As enzimas utilizadas no estudo foram: o complexo enzimático de multi-carboidrase (MC), (EndoPower Beta[®], UNIQUIMICA, São Paulo, BR) composta por alfa-galactosidase

(mínimo, 35 U/g), galactomananase (mínimo, 110 U/g), xilanase (mínimo, 1.500 U/g) e beta-glucanase (mínimo, 1.100 U/g), obtidas a partir do produto da fermentação de *Aspergillus niger* (PRL 2351) e *Aspergillus oryzae* (ATCC66222), e fitase, (GenoPhos®, UNIQUMICA, São Paulo, BR) derivada do *Saccharomyces cerevisiae* (CCCM 80051) o qual continha genes de *Escherichia coli* e *Citrobacter braakii* com atividades de fitase (mínimo, 10.000 FTU/g). A unidade de alfa-galactosidase foi definida como a quantidade da enzima que libera 1 µmol p-nitrophenol/minuto. A unidade de galactomannanase correspondeu à quantidade da enzima capaz de diminuir a metade da viscosidade inicial do galactomanano/minuto. A unidade de xilanase foi definida como a quantidade da enzima que produz 1 µmol de xilose/minuto ao pH 5,5 a 50°C, e a unidade de beta-glucanase correspondeu à quantidade da enzima para produzir 1 µmol de beta-glucano/min ao pH 4,8 a 50°C. A unidade de fitase (FTU) foi definida como a quantidade de enzima necessária para libertar 1 mmol fosfato inorgânico por minuto, ao pH 5,5 a 37°C (UNIQUMICA, São Paulo, BR).

3.4 Animais e instalações

Para cada ingrediente avaliado, 245 frangos machos (Cobb 500) de um dia de idade foram alojados até os 21 dias de idade em gaiolas de digestibilidade e metabolismo (1,0 m x 0,4 m) dispostas em três baterias de seis andares, sendo a primeira distante 25 cm do piso. Cada gaiola foi equipada com aquecimento elétrico, comedouro tipo calha, bebedouro tipo nipple e bandeja para coleta de excretas. As aves foram vacinadas no incubatório contra as doenças de Marek, Bronquite infecciosa e Bouda aviária.

3.5 Período experimental

Foram conduzidos oito experimentos e cada experimento correspondeu à avaliação de um ingrediente teste. Cada experimento consistiu de dois ensaios para avaliar os efeitos da MC e fitase, sobre o balanço de nutrientes e o uso da energia (Ensaio 1) e a digestibilidade ileal aparente e digestibilidade ileal estandardizada dos aminoácidos (Ensaio 2) em frangos de corte. As aves foram alimentadas com dieta à base de milho e farelo de soja até os 10 dias de idade,

atendendo-se orientações nutricionais especificadas por Rostagno et al. (2011). Do 11º ao 18º dia de idade, as aves foram alimentadas com as dietas especificadas como Ensaio 1, cujo período se deu por 4 dias de adaptação, seguido de 4 dias de coleta total das excretas. Posteriormente, a partir do 19º dia, as aves receberam a dieta do Ensaio 2, sendo abatidas aos 21 dias de idade para a coleta da digesta

3.6 Delineamento e dietas experimentais

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente ao acaso com 5 tratamentos e 7 repetições, cada unidade experimental composta por 7 aves. Os tratamentos foram constituídos por dieta de referência, dietas à base de milho (Ensaio 1), seguindo-se para as dietas a base de amido de milho (Ensaio-2). Os tratamentos foram dispostos em arranjo fatorial 2 x 2. Os fatores principais considerados foram: MC (0 ou 200 mg/kg) e fitase (0 ou 50 mg/kg). A dieta sem suplementação de enzimas consistiu de 70% da dieta de referência e 30% do ingrediente teste como única fonte de proteína, adotando o método de substituição. No Ensaio 2, a dieta de referência foi formulada com 5% de caseína para determinação de perdas endógenas dos aminoácidos. O óxido de cromo III (Cr_2O_3) foi adicionado em 0,3% a todas as dietas como marcador indigestível. Nos Ensaios 1 e 2 todas as dietas foram suplementadas de vitaminas e minerais, visando suprir as demandas nutricionais mínimas para frangos de corte na fase inicial (ROSTAGNO et al., 2011), excetuaram-se os níveis de EM e proteína (Tabela 2). As dietas do Ensaio 1 foram fornecidas em forma farelada, enquanto as dietas do Ensaio 2 foram fornecidas na forma de pellets. A peletização realizou-se manualmente em moedor de carne (California Pellet Mill), onde a ração farelada foi umedecida (10 %) com água a 50°C. Posteriormente as rações foram secas em estufa de ventilação forçada por 12 horas a 55°C e resfriadas à temperatura ambiente, resultando em produto com cerca de 10% de umidade.

Tabela 2 – Composição da dieta referência e teste, com respectivas inclusões das enzimas exógenas usadas no balanço de nutrientes, uso aparente da energia (Ensaio 1) e digestibilidade ileal aparente e digestibilidade ileal estandardizada dos aminoácidos (Ensaio 2)

Ingredientes (%)	Ensaio 1²		Ensaio 2²	
	R³	R + I⁴	R³	R + I⁴
Ingrediente teste ⁵	-	30,00	-	30,00
Milho	85,01	59,51	-	-
Amido	-	-	50,27	35,19
Óleo de soja	2,00	1,40	1,20	0,84
Cloreto de colina 60 %	0,02	0,01	0,02	0,014
Sal comum	0,25	0,18	0,32	0,22
Bicarbonato de sódio	0,38	0,27	0,35	0,24
Calcário calcítico	0,81	0,57	0,69	0,48
Fosfato bicálcico	2,40	1,68	2,37	1,66
Celulose	5,00	3,50	5,00	3,50
Dextrose anidra	-	-	30,00	21,00
Caseína	-	-	5,00	3,50
Oxido de cromo	-	-	0,30	0,21
Premix vit. + mineral ⁶	0,50	0,36	0,50	0,35
Caulin	3,62	2,52	3,99	2,79
Total	100	100	100	100
Composição calculada %				
Materia 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 linoléico	2,68	-	0,63	-

Fonte: o autor, 2016.

¹Ingrediente teste substituiu 30% da dieta referência, suplementada ou não com multi-carboidrase (200g/ton); fitase (50g/ton); e multi-carboidrase + fitase, ambas substituindo o caulin.

²Ensaio 1: dos 11 aos 18 dias de idade

²Ensaio 2: dos 19 aos 21 dias de idade

³R: Dieta referência;

⁴R + I: dieta referência + ingrediente teste.

⁵Inclusão em base natural

⁶Premix vitamina-mineral por kg de premix: vitamin A, 1.750.000,00 IU; vitamina D3, 550.000,00 IU; vitamina E, 2.750,00 IU; vitamina K, 400,00 mg; vitamina B1, 500,00 mg; vitamina B2, 1.250,00 mg; vitamina B6, 750,00 mg; vitamina B12, 3.000,00 mcg; niacina, 8.750,00 mg; ácido pantoténico, 3.250,00 mg; ácido fólico, 200,00 mg; colina, 82,01 g; Fe, 12,50 g; Mn, 17,50 g; Zn, 12,50 g; Cu, 24,95 g; I, 300 mg; Se, 50 mg; Monensina 25 g; Halquinol 7.500,00 mg.

3.7 Coleta de material experimental e análises químicas

3.7.1 *Ensaio 1: Balanço de nutrientes e uso aparente da energia*

Na determinação do balanço nutricional e uso aparente da energia (EMA) as rações fornecidas as aves foram pesadas ao início e final do Ensaio 1, em seguida, foram distribuídas em baldes identificados pelos tratamentos. Na pesagem dos tratamentos contou-se com uma balança digital com capacidade para 7,5 kg e precisão de 5 gramas.

A coleta total de excretas (SIBBALD; SLINGER, 1963) de todas as parcelas foi realizada 2 vezes ao dia (08:30 e 17:30 horas) por 4 dias consecutivos (15 a 18 dias de idade). Para evitar possíveis contaminações das excretas, as partículas de ração e penas foram cuidadosamente retiradas das bandejas com auxílio de um pincel. As excretas foram coletadas e condicionadas em sacos plásticos, identificadas por repetição e armazenadas no congelador a menos 20°C. Ao final do experimento o material coletado foi descongelado à temperatura ambiente, pesado e homogeneizado, segundo a repetição, quando foi retirada uma alíquota de 40 a 45 g, sendo armazenada em pote plástico e novamente congelada a menos 40°C, para subsequente pré-secagem a frio, pelo processo de liofilização. Secagem essa, com tempo aproximado de 72 horas.

3.7.2 *Ensaio 2: Digestibilidade ileal aparente e standardizada dos aminoácidos*

Entre os 19 e 21 dias de idade as aves receberam a dietas experimentais do Ensaio 2, período necessário para a coleta da digesta ileal aos 21 dias de idade. Ao abate, todas as parcelas e respectivas aves foram pesadas e sacrificadas por deslocamento cervical. O trato digestivo foi removido da carcaça. Um segmento de 10 cm do íleo, aproximadamente 2 cm antes da junção ileocecal foi seccionado e o conteúdo ileal foi coletado em potes de plástico. Para evitar possível contaminação do material coletado, a parte externa dos extremos do segmento seccionado foi lavada com água destilada por meio de uma seringa descartável, sem afetar o lume. Posteriormente, usando-se uma seringa e um cateter intravenoso de plástico flexível, procedeu-

se a retirada do conteúdo ileal, injetando-se 3 ml de água destilada. As amostras obtidas foram identificadas e armazenadas no congelador a menos 40°C para posterior análise.

As amostras das rações, dos ingredientes testes e das excretas foram moídas em moinho de facas e peneira de 1mm. As amostras do conteúdo ileal foram refrigeradas, pesadas, liofilizadas e posteriormente moídas em moinho refrigerado. Todas as amostras foram analisadas em duplicata de acordo com as normas da Associação Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, 2005). Foram realizadas análises de matéria seca (MS, método 930,15), matéria mineral (MM, método 942,05), energia bruta (EB), nitrogênio (N, método 990,03), fósforo total (P, método 946,06), cálcio (Ca, método 978,02) e fibra em detergente neutro (FDN, Goering e Van Soest, 1970). A energia bruta (EB) foi mensurada através de bomba calorimétrica adiabática (IKA® C5000, Karnataka, IN) usando ácido benzoico como padrão de calibração. Os teores de aminoácidos foram analisados em duplicata e determinados de acordo com o método da AOAC (1990, método 982,30). Resumidamente, 100 mg de amostra foi hidrolizada com HCl 6M a 110°C durante 24 horas. Excetuando o triptofano foram determinados os seguintes aminoácidos: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, valina, alanina, asparagina, cistina, glutamina, glicina, prolina, serina e tirosina. O conteúdo de aminoácidos foi determinado com uso de um analisador 1260 Infinity LCs (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA). O nitrogênio foi analisado usando o procedimento de digestão e destilação de Kjeldahl em um destilador de N Tecnal modelo TE/036/1.

3.8 Cálculos

3.8.1 *Balanço de nutrientes e uso aparente da energia*

Na determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MM, PB, Ca, P e FDN dos ingredientes testes adotou-se orientações de Medel et al. (1999):

$$\text{Digestibilidade aparente (\%)} = 100 \times (\text{NI} - \text{NO}_{\text{excreta}}) / \text{NI}$$

Onde: NI (g ou kcal/kg) = quantidade de nutriente ou MS consumida, e NO_{excreta} (g ou kcal/kg) = quantidade de nutriente ou MS excretada nas fezes (excreta).

Os valores de EM foram obtidos através da fórmula desenvolvida por Campbell; Campbell e Blairi (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 (excreta) proveniente do tratamento usando dieta referência; X: inclusão do ingrediente teste à dieta referência.

3.8.2 Digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos

Os cálculos da digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos (AID_{AA}) foram realizados segundo a metodologia descrita por Nyachoti; De Lange e Schulze (1997) e Stein et al. (2007):

$$AID_{AA}(\%) = 100 - [100 \times (AA_{\text{digesta}} \times Cr_2O_{3\text{dieta}}) / (AA_{\text{dieta}} \times Cr_2O_{3\text{digesta}})]$$

Onde: AA_{digesta} é a concentração de aminoácidos na digesta ileal (na MS), AA_{dieta} é a concentração de aminoácidos na dieta (na MS), $Cr_2O_{3\text{dieta}}$ é a concentração de cromo na dieta (na MS) e $Cr_2O_{3\text{digesta}}$ é a concentração de cromo na digesta ileal (na MS).

A digestibilidade ileal aparente foi estandardizada usando as medias das perdas endógenas dos aminoácidos (AAEL), a qual foi calculada com a seguinte fórmula:

$$AAEL \text{ (g/kg)} = AA_{\text{digesta}} \times (Cr_2O_{3\text{dieta}} / Cr_2O_{3\text{digesta}})$$

A digestibilidade ileal estandardizada dos aminoácidos (SID_{AA}) foi calculada com a seguinte fórmula:

$$SID_{AA} (\%) = [AID_{AA} + (AAEL/AA_{dieta})] \times 100$$

3.9 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados utilizando o procedimento GLM do programa SAS (Statistical Analysis System, versão 9.2, 2012), para determinar os efeitos dos fatores e da interação. A homogeneidade das variâncias foi avaliada pelo teste de Hartley e a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk (procedimento UNIVARIATE). O modelo estatístico utilizado foi:

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

Onde: Y_{ij} = variável resposta dos frangos alimentados com MC (i) e fitase (j); μ = efeito geral da média; a_i = efeito fixo da MC; b_j = efeito fixo da fitase; $(a_i \times b_j)$ = efeito da interação entre MC e fitase; e_{ij} = erro (resíduo)

Quando se detectou interação significativa dos fatores principais (MC x fitase) a opção SLICE do LSMEANS foi utilizada para analisar os efeitos simples. Quando não houve interação os resultados foram re-analisados. O critério de significância estabelecido foi de 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento I - Farelo de trigo

Ensaio 1: Balanço de nutrientes e uso aparente da energia

Os resultados do balanço dos nutrientes e utilização da energia estão apresentados na Tabela 3. A suplementação das enzimas, de forma isolada ou combinada, produziu efeitos significativos ($P < 0,05$) na digestibilidade da MS, N, MM, Ca, P, FDN e o uso da EMA. Sob ação das enzimas avaliadas no presente estudo, presume-se que no trigo houve uma provável redução dos teores de arabinosilanos (4 a 9%) e beta-glucanos (0,5 a 2,3%) descritos por Fincher e Stone (2004) e do P complexado em fitato (55 - 79%) sugerido por Godoy et al. (2005). Tal hipótese explicaria os maiores coeficientes de digestibilidade oriundos dos grupos de aves que receberam os tratamentos com enzimas, comparados as aves alimentadas com a dieta sem enzimas.

Tabela 3 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) do farelo de trigo com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
MS	72,07	77,21	74,04	78,12	0,47	0,001	0,014	0,018
N	77,46	79,50	80,06	81,09	0,28	0,041	<0,001	0,032
EMA, kcal/kg	1416	1568	1438	1579	14,57	<0,001	0,395	0,017
MM	40,05	41,80	43,74	44,40	0,34	0,019	<0,001	0,014
Ca	49,16	50,97	54,39	55,22	0,49	0,023	0,003	0,041
P	48,26	49,52	52,79	54,10	0,41	0,001	<0,001	0,033
FDN	44,76	49,29	44,86	48,66	0,42	<0,001	0,245	0,112

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

As enzimas são específicas para as reações que catalisam e aos substratos. Uma enzima geralmente catalisa reação química única ou um conjunto de reações estreitamente relacionadas. Presume-se, então, que a adição isolada da enzima não seja suficiente para produzir o benefício esperado, assim, a interação ($P < 0,05$) da MC e fitase, sobre a digestibilidade da MS, EMA, N,

MM, Ca e P, sugere ação sinérgica entre as enzimas. Os efeitos simples mostraram que a inclusão da MC nas dietas com e sem suplementação da fitase melhorou a digestibilidade da MS ($P < 0,05$) e resultados semelhantes foram observados com adição da fitase. Todavia, o efeito foi mais pronunciado ($P = 0,018$) quando foi suplementada a MC + fitase. Em relação à dieta sem enzimas, a suplementação da MC + fitase aumentou a digestibilidade da MS em 8,39%. Quando comparada à dieta sem enzimas, a suplementação da MC + fitase ($P = 0,017$) aumentou a EMA de 1415,5 kcal/kg para 1579,1 kcal/kg. A combinação MC + fitase também aumentou a digestibilidade do N ($P = 0,032$) em 4,69%, da MM ($P = 0,014$) em 10,86 %, do Ca ($P = 0,041$) em 12,34% e do P em 12,10% ($P = 0,033$). Esses resultados podem estar associados as características do trigo, em relação à composição química e quantidade, como substrato no trato intestinal. O aumento na digestibilidade da MS, outros nutrientes e da EMA pode ser associado a dissociação dos PNA por ação da MC, favorecendo o aproveitamento do amido, das fibras, dos açúcares, da gordura, da proteína, dos minerais e do fitato, normalmente, encapsulados na parede celular do farelo de trigo. A decomposição do PNA expõe os “fragmentos” a ação da fitase e outras enzimas digestivas (WOYENGO; NYACHOTI, 2011).

O farelo de trigo tem um alto teor de arabinoxilanos solúveis, em comparação ao milho (CHOCT et al., 2004). Os arabinoxilanos solúveis aumentam a viscosidade da digesta, afetam a taxa de passagem e o tempo de trânsito dos nutrientes, prejudicando o aproveitamento e a digestibilidade (RAVINDRAN, 2013). Desse modo, provavelmente, a MC desestruturou os arabinoxilanos do farelo de trigo, diminuindo a viscosidade digesta, disponibilizando mais N, minerais e a energia.

Resultados positivos da ação de carboidrases na digestibilidade da proteína e uso da energia em frangos de corte de 21 dias de idade, alimentados dietas a base milho, farelo e soja e farelo de trigo foram constatados por Pourreza e Classen (2001). Os autores observaram redução nas perdas de aminoácidos endógenos, mas, salientaram que a ação da enzima é mais efetiva sobre os componentes da fibra, considerando a melhora na digestibilidade dos aminoácidos que até então, eram inacessíveis. De acordo com os mesmos autores, comparado a animais em fases subsequentes, as limitações do trato digestório das aves jovens frente à digestão de alimentos fibrosos, viabiliza a suplementação das carboidrases e essa intervenção seria essencial nas dietas desses, ao usar alimentos com tal característica. Nian et al. (2011) estudaram os efeitos da suplementação da xilanase na utilização da energia e proteína em frangos de corte de 30 dias de idade alimentados com dietas a base de trigo e observaram que a suplementação da enzima diminuiu a viscosidade da digesta duodenal e ileal, coincidindo,

assim, com o aumento na retenção do N e da energia. Resultados obtidos por Selle et al. (2003) utilizando frangos de corte de 28 dias de idade, mostraram que dietas a base de farelo de trigo suplementadas com xilanase tiveram um aumento de 3,55% no aproveitamento da EM e sob efeito da fitase o aumento da EM foi de 4,28%, ambas comparadas ao controle.

O aumento na digestibilidade das frações mineral e proteica com a inclusão da fitase, presumivelmente, está relacionado à ação da fitase na defosforilação do composto mineral-fitato ou proteína-fitato, conforme sugeriram Wilkinson et al. (2014), liberando os minerais e as proteínas quelatadas ao fitato. Ocorrendo essa liberação, o N e os minerais são aproveitados mais eficientemente, o que se reflete nas respectivas taxas de absorção. O mais efetivo aproveitamento de nutrientes depende das amilases, tripsina, quimotripsina, pepsina e lipase que por sua vez, demandam minerais como cofatores (DESHPANDE; DAMODARAN, 1989). Portanto, ao liberar minerais complexados ao fitato, indiretamente, a fitase também favorece a atividade das enzimas endógenas. Amerah et al. (2016, no prelo)¹ verificaram que a suplementação isolada da fitase melhorou a digestibilidade do fósforo, mas a dieta com a suplementação combinada das carboidrases e fitases propiciou aumentos significativos ($P < 0,05$) sobre a digestibilidade do mineral nos frangos de corte, em comparação à dieta controle. Resultados controversos foram apresentadas por Juanpere et al. (2005), indicando que em frangos de 25 dias de idade, alimentados com dietas a base de farelo de trigo, a adição da fitase aumentou a retenção do fósforo, enquanto que a inclusão da xilanase diminuiu a retenção do cálcio. Avaliando os efeitos da suplementação da fitase na utilização dos minerais em frangos de corte de 21 dias de idade, alimentados com dietas a base de milho e farelo de soja, Cowieson e Ravindran (2007) relataram que a adição da fitase melhorou a retenção do fósforo, cálcio, cobre e zinco e a mineralização óssea dos frangos. Discrepâncias dos resultados experimentais, provavelmente, estejam relacionadas a diferenças na idade das aves, características do ingrediente e porcentagem de inclusão na dieta, bem como o tipo e atividade das enzimas (COWIESON; BEDFORD; RAVINDRAN, 2010; NIAN et al., 2011).

Sobre a digestibilidade do FDN, não houve interação significativa da MC e fitase. Apenas a inclusão isolada da MC teve efeito significativo ($P < 0,001$) sobre a digestibilidade do FDN, com aumento de 10,11% e 10,21%, comparando-se à dieta sem enzimas e a dieta suplementada de fitase, respetivamente. Os efeitos aditivos da MC sobre a digestibilidade do FDN poderiam estar relacionados à especificidade das enzimas que compõem o complexo MC.

¹ AMERAH, M.; ROMERO, L. F.; AWATI, A.; RAVINDRAN, V. 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**, Cary, p. 1-10, 2016. No prelo.

Portanto, a presente avaliação sugere que a suplementação de diferentes carboidratos, via complexo enzimático, reduz os efeitos negativos da fibra, melhorando a digestibilidade do FDN no farelo de trigo. Geralmente, alimentos com maior quantidade de PNA, propiciam melhor resposta a suplementação de carboidratos (ADEOLA; COWIESON, 2011).

Ensaio 2: Digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos

Os resultados da digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos estão apresentados nas Tabelas 4 e 5, respectivamente.

Tabela 4 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de trigo com e sem suplementação de multi-carboidrato (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	83,96	85,97	85,99	87,04	0,24	0,001	0,011	0,028
His	72,96	75,01	75,23	77,27	0,30	<0,001	<0,001	0,941
Ile	75,90	78,34	76,90	79,57	0,28	0,002	0,014	0,500
Leu	75,26	76,61	79,88	78,68	0,35	0,693	0,004	0,001
Lys	73,30	73,69	75,67	75,49	0,23	0,627	0,013	0,205
Met	81,00	84,14	83,65	86,49	0,38	<0,001	0,012	0,373
Phe	65,40	66,63	67,78	67,97	0,22	0,072	0,001	0,047
Thr	76,47	79,45	79,50	80,52	0,31	<0,001	<0,001	<0,001
Val	71,36	72,62	72,15	74,73	0,26	0,008	0,025	0,017
AA não essenciais								
Ala	66,83	68,96	68,10	69,81	0,24	0,001	0,012	0,387
Asn	75,27	76,74	78,64	78,81	0,32	0,065	<0,001	0,046
Cys	67,49	68,56	68,96	69,89	0,22	0,023	0,031	0,804
Gln	80,17	82,65	81,86	85,48	0,39	<0,001	0,041	0,009
Gly	84,62	86,98	88,22	89,86	0,39	0,084	0,001	0,173
Pro	79,71	81,64	81,35	83,93	0,31	<0,001	0,003	0,153
Ser	76,03	78,15	77,63	78,50	0,21	0,001	0,212	0,019
Tyr	71,08	73,05	71,83	73,42	0,21	0,016	0,069	0,411

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Tabela 5 – Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de trigo com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	88,06	88,97	92,13	92,26	0,37	0,079	<0,001	0,041
His	79,26	80,95	81,03	83,92	0,33	0,032	0,001	0,004
Ile	82,90	84,34	84,40	86,37	0,25	0,013	0,001	0,129
Leu	79,36	79,72	81,77	84,36	0,39	0,002	<0,001	<0,001
Lys	78,30	80,48	82,19	83,59	0,39	0,054	0,007	0,038
Met	85,90	87,88	87,08	89,45	0,25	0,005	0,011	0,411
Phe	71,68	73,19	74,61	77,45	0,43	0,017	<0,001	0,033
Thr	81,16	84,52	83,46	87,79	0,47	<0,001	<0,001	0,044
Val	76,36	77,62	78,15	80,36	0,30	0,034	0,004	0,045
AA não essenciais								
Ala	70,02	72,24	72,37	75,94	0,42	<0,001	<0,001	0,004
Asn	78,36	80,72	81,77	84,86	0,46	0,022	0,001	0,036
Cys	72,16	73,47	76,63	77,76	0,34	0,244	<0,001	0,607
Gln	84,64	87,47	88,55	89,50	0,36	<0,001	<0,001	<0,001
Gly	84,90	88,05	87,54	90,19	0,37	<0,001	0,032	0,198
Pro	80,72	84,94	85,29	86,20	0,42	0,012	0,007	0,030
Ser	80,30	81,48	83,19	85,29	0,37	0,014	<0,001	0,016
Tyr	76,97	76,98	77,83	77,65	0,21	0,711	0,024	0,689

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

A inclusão das enzimas influenciou ($P < 0,05$) positivamente a digestibilidade dos aminoácidos. Os valores médios de digestibilidade aparente dos dezessete (17) aminoácidos analisados no farelo de trigo, segundo os tratamentos experimentais foram: 75,11% na ausência de enzimas; 77,01% em presença de MC; 77,26% em presença de fitase; e 78,67% sob ação de MC + fitase. Enquanto as médias da digestibilidade estandardizada para os mesmos aminoácidos foram: 79,48% na ausência de enzimas; 81,35% em presença de MC; 82,23% em presença de fitase; e 84,29% para a combinação da MC+ fitase. Para todas as dietas experimentais, os maiores coeficientes de digestibilidade estandardizada foram para Arg, Gly e Met. A partir das metodologias de análises aparente e estandardizada dos aminoácidos, constatou-se diferença de pelo menos 5,82% na digestibilidade dos aminoácidos em favor da combinação das enzimas. Confirma-se, com isso, que existem perdas substanciais de proteínas endógenas, peptídeos e aminoácidos no trato digestivo, perdas essas, não caracterizadas na digestibilidade aparente.

Interação significativa ($P < 0,05$) da MC e fitase foi observada na digestibilidade aparente da Arg, Leu, Phe, Thr, Val, Asn, Gln e Ser, e na digestibilidade estandardizada da Arg, His, Leu, Lys, Phe, Thr, Val, Ala, Asn, Gln, Pro and Ser. Comparando-se à dieta sem enzimas, a combinação da MC + fitase melhorou a digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos, em 4,74% e 6,05%, respectivamente. Os maiores incrementos na digestibilidade estandardizada foram para a Ala (+ 8,45%), Cys (+8,30%) e Phe (+8,04%).

Ainda que não tenha sido caracterizada a interação da MC e fitase na digestibilidade aparente da His, Ile, Lys, Met, Ala, Cys, Gly, Pro e Tyr; nem sobre a digestibilidade estandardizada da Ile, Met, Cys, Gly e Tyr, numericamente, a combinação da MC + fitase propiciou maiores coeficientes de digestibilidade para esses aminoácidos, comparando-se as suas inclusões isoladas.

A provável clivagem dos PNA com a inclusão da MC e possível neutralização do fitato por ação da fitase, permitiu aumentos na digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos nos frangos aos 21 dias de idade. Todavia, apesar do efeito isolado das enzimas sobre a retenção do N e digestibilidade dos aminoácidos, quando foram combinadas houve maior retenção e digestibilidade desses nutrientes. Há, portanto, um benefício decorrente da síntese de enzimas endógenas, que diminui com a presença das enzimas exógenas no trato intestinal e sob tal condição, melhora-se a disponibilidade dos aminoácidos para o processo anabólico das proteínas (COWIESON; BEDFORD; RAVINDRAN, 2010), cujos benefícios serão aferidos como eficiência alimentar, sobretudo, quando o animal se encontra em fase de crescimento ou produção.

Estes resultados comungam aos relatados por Ravindran, Selle e Bryden (1999), observado em estudo com frangos de corte na fase inicial, quando descreveram os efeitos sinérgicos e aditivos sobre a digestibilidade dos aminoácidos em dietas a base de trigo e caseína, suplementadas com fitase e xilanase. Também, Selle et al. (2003) ao avaliarem dietas a base de trigo e sorgo, destinadas a frangos de corte dos 7 aos 28 dias de idade, observaram respostas sinérgicas da combinação das carboidrases e fitase na digestibilidade da Ala, Arg, Gln, Gly, His, Ile, Phe, Thr, Tyr e Val.

Em estudos com suínos, é sabido que o conteúdo de PNA dos cereais está associado à redução da digestibilidade dos aminoácidos (NORTEY et al., 2008). Da mesma forma, a concentração de PNA no endosperma e na aleurona do trigo reduz a digestibilidade dos aminoácidos devido a complexação de proteínas aos hidratos de carbono, localizados principalmente, no endosperma do trigo (HEARD et al., 2001). De acordo com Selle e

Ravindran (2007), benefícios no aumento da retenção do N e dos aminoácidos, promovidos pela adição de carboidrases ou fitases em dietas de frangos de corte, estariam associados com reduções no fluxo e nas perdas dos aminoácidos endógenos (Gln, Asn, Thr, Ser e Gly). Isto se deveria à maior concentração desses aminoácidos na mucosa intestinal, assim, ao diminuir as perdas endógenas mantem-se o equilíbrio intestinal, favorecendo a absorção dos aminoácidos (OMOGBENIGUN; NYACHOTI; SLOMISKI, 2004; COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2006) e demais nutrientes.

Do presente embasamento e resultados, sugere-se que sob ação das enzimas, pode haver maior liberação do N e aminoácidos que se encontram encapsulados na parede celular, complexados pelo fitato no farelo de trigo, refletindo-se, portanto, no aumento da digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos, observada nos frangos aos 21 dias de idade.

4.2 Experimento II - Farelo de arroz integral

Ensaio 1: Balanço de nutrientes e uso aparente da energia

O balanço dos nutrientes e EMA estão apresentados na Tabela 6. A suplementação isolada ou combinada das enzimas teve efeito ($P < 0,05$) no balanço de todos os nutrientes e no uso da energia. Houve interação ($P < 0,05$) da MC e fitase na digestibilidade da MS, retenção do N e EMA. Estudos realizados por Wilkinson et al. (2014) relataram que a adição de enzimas exógenas nas dietas de frangos de corte, mostraram efeitos positivos sobre a digestibilidade dos nutrientes. No entanto, dados sobre os efeitos da combinação de MC e fitase com farelo de arroz integral em dieta inicial de frangos de corte ainda são limitados.

Ao comparar aos dados provenientes da dieta sem enzimas, os resultados obtidos mostraram que a combinação da MC + fitase melhorou ($P = 0,010$) a digestibilidade da MS em 6,77%, ao passo que os fatores isolados MC e fitase corresponderam aos respectivos aumentos de 5,51 e 2,53% na mesma variável.

Tabela 6 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) do farelo de arroz integral com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
MS	75,08	79,22	76,98	80,16	0,39	<0,001	0,011	0,010
N	73,60	75,97	77,70	79,40	0,42	0,016	<0,001	0,044
EMA, kcal/kg	2035	2120	2087	2140	7,75	<0,001	0,022	0,001
MM	29,67	30,08	31,99	32,77	0,26	0,084	0,015	0,205
Ca	48,16	48,68	50,49	50,57	0,23	0,111	0,012	0,203
P	51,94	53,03	56,27	57,68	0,41	0,026	<0,001	0,359
FDN	31,76	33,60	31,72	32,99	0,23	0,014	0,127	0,180

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

De qualquer forma, a inclusão das enzimas, combinadas ou isoladas, melhorou ($P < 0,05$) a retenção do N, comparado aos resultados oriundos do farelo de arroz integral sem adição das enzimas. Como foi observado, a combinação da MC + fitase coincidiu com resultados mais pronunciados ($P = 0,044$) na digestibilidade e retenção do N, sendo 7,88% acima daqueles obtidos com a dieta sem enzimas. Em relação à EMA, as dietas com suplementações enzimáticas mostraram efeitos significativos ($P < 0,05$), em relação à dieta sem enzimas. Todavia, os maiores coeficientes ($P = 0,001$) do aproveitamento da EMA se deram com a suplementação da MC + fitase, assim, em comparação à dieta sem enzimas, houve aumento de 105 kcal/kg no uso da EMA com a combinação da MC + fitase. Logo, ratificam-se as informações sobre a especificidade das enzimas para determinados substratos, segundo a composição bromatológica dos grãos, bem como a viabilidade no emprego de uma ou mais, conforme suas diferentes atividades. Desse modo, o possível efeito sinérgico observado entre a MC e a fitase caracterizou ações conjuntas das enzimas frente aos diferentes substratos presentes no farelo de arroz integral.

Sugere-se que as carboidrases aumentam o acesso aos nutrientes encapsulados dentro dos grãos através da quebra de algumas frações fibrosas dos ingredientes de origem vegetal, ou pelo aumento da hidrólise dos PNA que constituem parte da parede celular (SLOMINSKI, 2011). Presume-se então, que a MC foi capaz de “quebrar” a parede celular do farelo de arroz integral, disponibilizando nutrientes encapsulados e facilitando a ação das enzimas nos substratos liberados. De modo indireto, a ação da fitase na desorganização do fitato possibilitou a liberação da proteína e minerais, anteriormente complexados. Em termos percentuais, a

utilização da MC proporcionou um aumento de 4,91% na EMA. Com a utilização da fitase, houve um aumento de 2,56% e com a combinação das enzimas este aumento foi de 4,42%. Tais resultados foram similares aos encontrados na literatura para o trigo e canola no qual predominam arabinoxilanos na constituição dos PNA, ainda que tais resultados sejam controversos (SELLE et al., 2003; WU et al., 2004; JOZEFIAK et al., 2010).

Aumento da EMA, em presença da xilanase combinada a fitase, foram descritos por Wu et al. (2004) ao utilizarem frangos de corte de 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo trigo como fonte de fibra, proporcionando aumento de 9%. Os autores sugeriram que o maior uso da energia, pela suplementação das enzimas, se deveu ao aumento da digestibilidade do amido, gordura e da proteína bruta; possivelmente, como o acontecido neste estudo. No entanto, há também possibilidade da fitase aumentar a energia disponível pela redução na produção de mucina no intestino, devido à maior renovação celular, induzida pela presença do fitato na dieta (JOZEFIAK et al., 2010). Estudos demonstraram a ligação do fitato com proteína e efeitos positivos da fitase sobre o complexo proteína-fitato, inibindo o fitato e incrementando a digestibilidade dos aminoácidos (GODOY et al., 2005; COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2006). Enquanto, Sultan et al. (2011) mostraram que a adição da fitase aumenta a digestibilidade da MS, energia, N e do amido, devido à redução na perda endógena dos aminoácidos e da energia. Segundo Amerah et al. (2016, no prelo)², a fitase pode prevenir a formação de complexos binários entre a proteína e o fitato através da hidrólise previa do fitato, melhorando a digestibilidade do N.

Não houve interação das enzimas sobre a digestibilidade da MM, Ca, P e FDN do farelo de arroz integral. A inclusão isolada da fitase aumentou ($P = 0,005$) a digestibilidade da MM em 7,82%, comparado à dieta isenta de enzimas, resposta similar ocorreu na digestibilidade do Ca (+4,83%; $P = 0,012$). Comparada com a dieta sem enzimas, a suplementação isolada da MC aumentou a digestibilidade do P em 2.10%, mas com a fitase houve um aumento de 8,34%. A suplementação isolada de MC na dieta melhorou ($P = 0,014$) a digestibilidade do FDN. O aumento na digestibilidade MM, Ca e P, com adição isolada da fitase, possivelmente, deveu-se a propriedade hidrolítica da enzima sobre os complexos minerais-fitato, como foi salientado por Slominski (2011) e Wilkinson et al. (2014). O aumento na digestibilidade da MM sugere que, além do Ca e P, outros nutrientes podem tornar-se disponíveis e também, atuarem como cofatores na ação das enzimas digestivas; indiretamente, contribuindo para o aproveitamento

² AMERAH, M.; ROMERO, L. F.; AWATI, A.; RAVINDRAN, V. 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**, Cary, p. 1-10, 2016. No prelo.

nutricional do ingrediente testado. Logo, o efeito aditivo na digestibilidade do P, indicaria que as enzimas tiveram substrato suficiente para atuar na liberação do mineral, incrementado sua digestibilidade. Como foi observado, a maior digestibilidade do Ca era esperada, devido à melhora na digestibilidade do P, já que ambos minerais participam do mesmo complexo (EMIOLA et al., 2009). Assim, ao reduzir o poder de complexação do fitato pela ação fitase, permite-se maior quantidade de Ca livre, a ser utilizado pela ave.

Considerando a eficácia da fitase na disponibilização de minerais, pela descomplexação do fitato, Olukosi, Cowieson e Adeola (2007) observaram que a retenção do P e Ca foi aumentada em 20,1 e 5,0%, respectivamente, quando frangos de corte receberam dietas a base de milho e farelo de soja. Segundo os autores, houve aumento significativo ($P < 0,05$) na mineralização dos ossos, atribuído à maior biodisponibilidade dos minerais. Farrel e Martin (1998) determinaram aumentos de 8 a 12% na retenção P com a adição da fitase, em dietas com farelo de arroz integral, destinadas a patos, quando compararam à dieta controle. Para todas as dietas houve redução de até 10% na excreção do P, devido à adição da fitase.

A digestibilidade do FDN foi afetada pela suplementação isolada da MC, assim, esse efeito, possivelmente, se deveu a associação de enzimas no complexo da MC. Entende-se, então, que a suplementação da MC reduz os efeitos negativos da fibra, melhorando a digestibilidade de FDN do farelo de arroz integral. Geralmente, alimentos com maior quantidade de PNA, propiciam melhor resposta a suplementação de carboidrases (ADEOLA; COWIESON, 2011). No presente experimento, a quantidade do farelo de arroz integral, e sua composição bromatológica favoreceram a ação mais pronunciada da MC, enquanto, em menor proporção se deu a ação da fitase na digestibilidade do FDN.

Ensaio 2: Digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos

Os resultados digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos do farelo de arroz integral, com ou sem suplementação de enzimas exógenas são apresentados nas Tabelas 7 e 8, respectivamente. No geral, a suplementação isolada ou combinada das enzimas mostrou maiores coeficientes de digestibilidade para todos os aminoácidos avaliados, todavia, ainda que constante, a variação não foi caracterizada por efeito estatístico, quando comparados àqueles da dieta sem enzimas.

Tabela 7 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de arroz integral com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	79,75	81,17	82,83	83,62	0,30	0,001	<0,001	0,041
His	69,99	71,08	72,06	72,41	0,23	0,006	<0,001	0,082
Ile	59,97	59,98	60,83	60,65	0,22	0,711	0,186	0,689
Leu	59,19	60,65	61,46	60,18	0,23	0,033	0,003	0,021
Lys	68,23	70,80	71,39	73,43	0,37	<0,001	<0,001	0,215
Met	68,00	70,93	69,74	73,02	0,36	<0,001	0,012	0,335
Phe	61,30	62,36	65,34	67,41	0,47	0,031	<0,001	0,068
Thr	64,31	68,71	66,63	70,41	0,44	<0,001	0,025	0,009
Val	64,02	66,81	69,02	68,63	0,39	<0,001	<0,001	<0,001
AA não essenciais								
Ala	55,29	57,15	57,57	58,68	0,26	0,017	0,003	0,116
Asn	58,01	59,93	61,66	64,12	0,33	0,012	0,001	0,015
Cys	55,14	57,18	55,38	57,22	0,22	0,034	0,469	0,587
Gln	65,62	65,98	67,22	68,86	0,27	0,137	<0,001	0,021
Gly	62,14	64,15	64,85	66,65	0,33	0,009	0,005	0,612
Pro	54,97	55,86	56,52	56,22	0,20	0,337	0,051	0,101
Ser	50,14	53,15	54,71	56,18	0,43	0,001	<0,001	<0,001
Tyr	69,96	70,31	71,85	71,86	0,21	0,478	0,102	0,499

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

As dietas com enzimas tiveram efeitos positivos ($P < 0,05$) na digestibilidade aparente dos aminoácidos, mas, a exceção se deu para Ile e Tyr, enquanto na digestibilidade estandardizada a exceção se deu com a Pro. As médias da digestibilidade aparente para os dezessete (17) aminoácidos avaliados no farelo de arroz integral, de acordo com dietas experimentais foram: 62,69% na ausência de enzimas; 64,48% em presença de MC; 65,24% em presença de fitase; e 66,46% sob ação de MC + fitase. Enquanto as médias da digestibilidade estandardizada para os mesmos aminoácidos foram: 73,72% na ausência de enzimas; 75,83% em presença de MC; 76,25% em presença de fitase; e 77,92% para a combinação da MC + fitase.

Aumentos absolutos na digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos, decorrentes da combinação das enzimas, superou a soma dos aumentos individuais oriunda da suplementação isolada de MC ou fitase, cujos coeficientes variaram de 56,18 a 83,62% na digestibilidade aparente e de 69,38 a 87,97% na digestibilidade estandardizada. Interação de

MC e fitase ($P < 0,05$) foi observada na digestibilidade aparente da Arg, Leu, Thr, Val, Asn, Gln e Ser; com indicação de efeito ($P = 0,072$) para His e Phe ($P = 0,068$). A interação ($P < 0,05$) das enzimas foi constatada na digestibilidade estandardizada da Arg, His, Met, Thr, Val, Asn, Gln e Ser, com tendência para a Leu ($P = 0,077$). Assim, comparadas à dieta sem enzimas, a combinação MC + fitase melhorou ($P < 0,05$) a digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos em 6,01% e 5,70%, respectivamente.

Tabela 8 – Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de arroz integral com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	84,06	85,12	89,28	87,97	0,41	0,514	<0,001	0,003
His	80,26	81,60	82,33	84,11	0,27	0,002	<0,001	0,031
Ile	74,26	75,75	76,63	78,27	0,29	0,013	<0,001	0,540
Leu	75,16	76,02	77,27	78,79	0,28	0,021	0,004	0,077
Lys	75,76	76,72	78,01	79,28	0,27	0,016	0,001	0,323
Met	74,97	77,41	76,36	79,89	0,36	<0,001	0,012	0,023
Phe	72,30	72,62	74,19	74,29	0,22	0,219	<0,001	0,515
Thr	72,68	78,20	76,18	80,46	0,39	<0,001	0,015	<0,001
Val	73,34	76,20	75,18	77,10	0,29	0,003	0,024	0,043
AA não essenciais								
Ala	68,02	70,31	70,59	72,30	0,31	<0,001	<0,001	0,139
Asn	70,36	72,22	74,27	75,22	0,37	0,002	<0,001	0,004
Cys	67,03	68,85	67,03	69,38	0,23	0,014	0,177	0,170
Gln	74,86	76,80	77,79	78,14	0,27	0,032	0,004	0,023
Gly	74,83	77,22	78,27	81,10	0,40	<0,001	<0,001	0,243
Pro	72,02	74,10	74,09	74,30	0,23	0,124	0,218	0,183
Ser	67,98	72,36	71,75	75,45	0,44	<0,001	<0,001	0,034
Tyr	75,36	77,59	77,01	78,72	0,25	0,001	0,007	0,113

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Não houve interação da MC e fitase na digestibilidade aparente da Ile, Lys, Met, Ala, Cys, Gly, Pro e Tyr; nem sobre a digestibilidade estandardizada da Ile, Lys, Phe, Ala, Cys, Gly, Pro e Tyr. Porém, comparadas com as inclusões isoladas das enzimas, em valores numéricos gerais, a digestibilidade desses aminoácidos foi maior com a inclusão combinada das enzimas. Os efeitos positivos ($P < 0,05$) da MC, foram registrados na digestibilidade aparente de treze (13) aminoácidos, enquanto para a digestibilidade estandardizada os efeitos positivos ($P < 0,05$)

foram observados em 14 aminoácidos. Da suplementação isolada da fitase, constatou-se que os coeficientes digestibilidade aparente dos aminoácidos variaram de 54,71 a 82,83%; e de 67,03 a 89,28% para a digestibilidade estandardizada dos aminoácidos. Assim, a fitase aumentou ($P < 0,05$) a digestibilidade aparente e estandardizada de quinze (15) aminoácidos.

Como informações anteriores, a digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos foram maiores nas aves alimentadas com as dietas suplementadas de enzimas, comparadas com àquelas sem enzimas. O aumento da digestibilidade dos aminoácidos também se caracterizou pela ação sinérgica, semelhante à digestibilidade do N. Portanto, apesar da suplementação isolada da MC ou fitase influenciar a retenção do N e digestibilidade dos aminoácidos, quando conjugadas, o efeito ($P < 0,05$) foi superior nas respectivas variáveis. No entanto, efeitos aditivos também foram encontrados. Os resultados, aqui observados, sugerem a possibilidade das carboidrases hidrolisar a parede celular dos grãos, através da clivagem de ligações internas da matriz de polissacarídeos do farelo de arroz integral, liberando componentes intracelulares, a exemplo da proteína. Como foi reportado, da interação fitato e proteína forma-se um complexo com limitada solubilidade, devido a alteração estrutural da molécula proteica e do ânion fitato (WILKINSON et al., 2014). Presume-se que a inclusão da fitase pode ter aumentado a solubilidade da proteína, pela provável neutralização do fitato, aumentando a disponibilidade do N e a digestibilidade dos aminoácidos. Wu et al. (2004) relataram respostas sinérgicas semelhantes na digestibilidade dos aminoácidos em frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo, suplementadas com xilanase e fitase. Enquanto, Rutherford, Chung e Moughan (2002) verificaram que a suplementação de fitase microbiana em dietas a base de farelo de arroz integral pode melhorar em 3 a 12% a digestibilidade dos aminoácidos.

O aumento das secreções intestinais nos frangos de corte favoreceria o fluxo de aminoácidos no intestino, diminuindo a digestibilidade dos aminoácidos. Mas, Emiola et al. (2009) e Wilkinson et al. (2014) associaram o aumento da produção de mucina com maior irritação da mucosa intestinal, devido a abrasão mecânica e presença de fatores antinutricionais que estimulariam na secreção mucosa e de água como proteção ao intestino; o que implicaria em gasto nutricional para as aves, pelo inevitável incremento das perdas de aminoácidos endógenos. Segundo Ravindran (2013), nas secreções intestinais estariam presente, principalmente, os aminoácidos que prevalecem no intestino e possuem maiores taxas de renovação, a exemplo da Cys, Thr, Pro e Gly. Em frangos de corte alimentados com altas concentrações de fitato, Cowieson, Acamovic e Bedford (2004) observaram aumentos de 4 a

8% na digestibilidade dos aminoácidos provenientes da adição da fitase, sobretudo na Thr, Cys, Gly e Pro. Os autores sugeriram que benefícios pela suplementação da fitase, em grande parte, estão relacionados à redução das perdas endógenas dos aminoácidos, refletindo no aumento da digestibilidade do ingrediente ou dieta.

A capacidade das enzimas exógenas melhorarem a digestibilidade dos nutrientes depende do nível de atividade enzimática e disponibilidade de substrato (EMIOLA et al., 2009). Geralmente, alimentos com maior quantidade de PNA respondem melhor a suplementação de carboidrases (ADEOLA; COWIESON, 2011). No presente experimento, entretanto, esperava-se efeito mais pronunciado da MC na digestibilidade dos aminoácidos, em função do nível de inclusão e da composição bromatológica do farelo de arroz integral, mas foi constatado efeito similar ao da fitase, na digestibilidade dos aminoácidos. Com base na literatura consultada, hipotetizava-se no presente estudo a ação das enzimas na liberação da proteína e aminoácidos, presumivelmente, encapsulados na parede celular ou ligados ao fitato no farelo de arroz integral; o que poderia aumentar sua digestibilidade.

4.3 Experimento III - Sorgo

Ensaio 1: Balanço de nutrientes e uso aparente da energia

Efeitos positivos ($P < 0,05$) da inclusão das enzimas foram identificados sobre a digestibilidade da MS, N, EMA, MM, Ca e P, quando comparadas com a dieta sem inclusão enzimática (Tabela 9). No presente estudo, constatou-se que as aves alimentadas com sorgo, sem suplementação de enzimas, mostraram-se menos eficientes na digestibilidade dos nutrientes, aproveitamento da energia e aminoácidos da dieta, em comparação àquelas, cujas dietas foram suplementadas de enzimas.

De modo isolado, observou-se que a MC e a fitase melhoraram a digestibilidade dos nutrientes do sorgo, comparado à dieta que continha o ingrediente sem enzimas, mas, combinadas as enzimas interagiram (MC e fitase) no aproveitamento do P ($P = 0,002$), com tendência na digestibilidade da MS ($P = 0,053$) e na retenção do N ($P = 0,086$). Assim, a combinação da MC + fitase incrementou a digestibilidade da MS em 5,44%, a retenção do N em 4,23% e a digestibilidade do P em 6,75%, em comparação à dieta sem enzimas.

Tabela 9 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) do sorgo com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
MS	78,28	79,88	81,65	82,54	0,33	0,031	<0,001	0,053
N	76,84	77,24	78,90	80,09	0,27	0,014	0,003	0,086
EMA, kcal/kg	2669	2721	2699	2756	7,65	0,013	0,086	0,785
MM	58,46	58,86	61,81	62,01	0,33	0,597	0,001	0,131
Ca	55,37	56,37	58,76	59,02	0,32	0,486	0,004	0,122
P	50,55	51,52	54,17	53,96	0,31	0,032	<0,001	0,002
FDN	62,39	63,03	62,32	62,40	0,18	0,116	0,127	0,218

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

A suplementação de enzimas exógenas em dietas de frangos de corte, geralmente, é mais aplicável a ingredientes com altos níveis de PNA. O sorgo contém baixas concentrações de PNA e é considerado como ingrediente não viscoso, mas sua ação antinutricional se limitaria ao encapsulamento dos nutrientes e não ao aumento da viscosidade da digesta (SLOMINSKI, 2011). Os altos teores de arabinoxilanos (4,6%) e beta-glucanos (0,5 a 2,3%), descritos por Fincher e Stone (2004) e do fósforo complexado em fitato (63 a 85%) indicados por Godoy et al. (2005) afetariam a disponibilidade e digestibilidade dos nutrientes. Desse modo, é provável que o conjunto de enzimas presentes na MC agiram, principalmente, sobre os arabinoxilanos e beta-glucanos da parede celular do sorgo e sobre os nutrientes contidos na aleurona, endosperma e germe, provocando a sua ruptura. Gidley et al. (2011) relataram que o fitato se localiza, sobretudo, na aleurona e no germe do grão de sorgo, enquanto o amido e a proteína estão localizados no endosperma. A quebra da parede celular do sorgo pela ação da MC facilitou a exposição e o contato das proteínas, amido e outras substâncias às enzimas endógenas, a exemplo das amilases e proteases, favorecendo a absorção dos nutrientes, (WOYENGO; NYACHOTI, 2011). O mesmo parece ter ocorrido com a fitase na hidrólise do fitato, liberando o P e os nutrientes a ele complexados. Sultan et al. (2011) relataram que a inclusão isolada da xilanase e da fitase melhoram a digestibilidade da proteína e do amido nos frangos de corte na fase inicial, mas, foi a combinação das enzimas que propiciou maiores acréscimos na digestibilidade da proteína (12,5%) e aminoácidos (18,7%), estabelecendo como referência uma dieta controle. Logo, o aumento na digestibilidade dos nutrientes refletiu-se no aumento da digestibilidade da MS.

Não houve interação da MC e fitase no aproveitamento da energia (EMA), nem sobre a digestibilidade da MM e Ca pelos frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade. Indica-se com isso a ação independente das enzimas na EMA, MM e Ca. Efeito positivo da MC ($P = 0,013$) e tendência da fitase ($P = 0,086$) se deu na EMA, comparando-se aos resultados provenientes da dieta sem enzimas e tais efeitos corresponderam aos respectivos aumentos de 52 e 30 kcal/kg. No entanto, apesar de não haver efeito de interação dos fatores sobre a energia, numericamente houve incremento de 87 kcal/kg, quando suplementou-se MC + fitase. Como foi indicado por Sultam et al. (2011), o incremento se deve ao aumento na digestibilidade do amido, anteriormente, encapsulado no endosperma do sorgo, na forma de grânulos poligonais e protegidos por proteínas esféricas, impedindo o acesso da amilase ou reduzindo sua atividade hidrolítica, com reflexos negativos na digestibilidade e disponibilidade da energia para frangos de corte. Bhat e Hazlewood (2001) ao compararem a digestibilidade de dietas a base de sorgo ou milho em frangos de corte, adicionadas de complexo enzimático composto de amilase, carboidrases, proteases e fitase, constataram maior digestibilidade do N e EMA no sorgo. A variabilidade nas respostas sobre o uso da energia nas aves parece depender de diversos fatores, dos quais, a estrutura dos PNA e a sua concentração são de maiores importância (ADEOLA; COWIESON, 2011).

A inclusão isolada da fitase melhorou a digestibilidade da MM ($P = 0,001$) e Ca ($P = 0,004$), cujo aumento foi de 5,01 e 4,24%, respectivamente, quando confrontada a inclusão de MC, e de 5,73 e 6,12%, respectivamente, quando confrontada à dieta sem enzimas. Esses resultados confirmam os efeitos positivos do uso das fitases em rações para aves sobre a hidrólise do fitato, liberando os minerais, Ca e P que se encontravam complexados (WOYENGO; NYACHOTI, 2011). Presentes resultados em frangos de corte, ratificam os obtidos por Wilkinson et al. (2014) ao indicarem aumentos significativos na retenção do Ca em dietas suplementadas com fitase, em comparação a dieta controle.

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos com e sem inclusão de enzimas na digestibilidade do FDN. Assim, o aumento na digestibilidade dos nutrientes e EMA, pela presença das enzimas, estaria associado à lise de paredes celulares do sorgo, com a liberação dos nutrientes encapsulados e não pelo aumento na digestibilidade da fibra, contida nas mesmas paredes celulares.

Ensaio 2: Digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos

Os resultados da digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos do sorgo com ou sem enzimas exógenas estão apresentados nas Tabelas 10 e 11. A suplementação das enzimas teve efeito significativo ($P < 0,05$) na digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos. A média da digestibilidade aparente para os dezessete aminoácidos avaliados, de acordo com os tratamentos experimentais foram: 72,64% na ausência de enzimas; 74,01% em presença de MC; 75,62% em presença de fitase; e 76,51% sob ação de MC + fitase. Enquanto as médias da digestibilidade estandardizada para os mesmos aminoácidos foram: 80,82% na ausência de enzimas; 81,75% em presença de MC; 83,58% em presença de fitase; e 84,29% para a combinação da MC+ fitase.

Tabela 10 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) do sorgo com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	76,93	77,29	79,92	80,71	0,33	0,015	<0,001	0,265
His	69,66	70,19	73,42	72,63	0,32	0,526	<0,001	0,031
Ile	75,16	75,47	78,63	78,76	0,34	0,245	0,007	0,607
Leu	81,83	84,99	87,21	86,96	0,42	0,033	<0,001	<0,001
Lys	73,13	74,58	76,76	77,63	0,37	0,014	0,002	0,316
Met	77,97	78,98	80,33	80,94	0,25	0,161	0,016	0,263
Phe	78,51	79,08	82,91	83,01	0,42	0,207	<0,001	0,375
Thr	65,22	66,25	68,17	69,94	0,36	0,019	0,001	0,038
Val	72,01	75,26	73,04	74,98	0,29	<0,001	0,161	0,020
AA não essenciais								
Ala	73,94	74,40	76,44	79,72	0,44	<0,001	0,004	0,118
Asn	74,64	75,28	76,58	78,47	0,31	0,020	<0,001	0,042
Cys	71,90	72,93	71,85	73,80	0,23	<0,001	0,107	0,067
Gln	77,88	80,43	82,35	83,80	0,44	0,014	<0,001	0,012
Gly	61,20	63,81	62,51	65,13	0,30	<0,001	0,010	0,966
Pro	72,01	75,69	73,04	74,98	0,30	<0,001	0,468	0,020
Ser	58,66	59,72	62,73	63,00	0,37	0,016	<0,001	0,044
Tyr	72,40	72,49	74,58	74,14	0,26	0,612	0,004	0,435

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Tabela 11 – Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada (%) dos aminoácidos (AA) do sorgo com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	82,66	83,72	86,88	87,29	0,40	0,024	<0,001	0,147
His	76,36	77,62	78,30	80,29	0,29	<0,001	<0,001	0,124
Ile	84,01	83,98	84,83	84,65	0,21	0,648	0,057	0,757
Leu	87,29	88,44	90,21	90,13	0,25	0,091	0,013	0,134
Lys	79,55	80,22	81,96	82,17	0,23	0,014	0,001	0,181
Met	81,27	82,04	84,03	83,92	0,27	0,351	0,014	0,177
Phe	84,29	85,94	87,21	89,13	0,35	0,941	<0,001	0,478
Thr	83,28	85,44	87,90	88,78	0,40	0,001	<0,001	0,011
Val	87,55	87,72	88,96	90,17	0,24	0,014	<0,001	0,005
AA não essenciais								
Ala	80,69	81,59	83,65	83,47	0,26	0,116	0,027	0,231
Asn	76,04	80,82	78,28	82,20	0,42	<0,001	0,014	0,042
Cys	74,69	74,81	76,83	76,28	0,22	0,316	0,006	0,129
Gln	81,83	84,99	87,06	89,11	0,48	<0,001	<0,001	0,016
Gly	79,71	83,22	80,04	84,49	0,39	<0,001	0,027	0,032
Pro	78,97	78,98	82,83	82,65	0,37	0,711	0,001	0,689
Ser	71,20	73,51	75,23	76,85	0,41	0,017	<0,001	0,083
Tyr	82,07	81,59	83,96	83,24	0,24	0,052	0,008	0,675

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.² EPM: Erro padrão da média

Os coeficientes da digestibilidade aparente dos aminoácidos, para a combinação da MC + fitase variaram de 63% a 82,96%, e os coeficientes da digestibilidade estandardizada para a combinação das enzimas variaram de 76,28 a 90,17%. Houve interação ($P < 0,05$) da MC e fitase na digestibilidade aparente da His, Leu, Thr, Val, Asn, Gln, Pro e Ser, com indicação para a Cys ($P = 0,067$), e na digestibilidade estandardizada da Thr, Val, Asn, Gln, e Gly, com indicação para a Ser ($P = 0,083$). Assim, comparadas à dieta sem enzimas, os maiores incrementos obtidos a favor da combinação MC + fitase na digestibilidade estandardizada foram para a Gln (+8,90%); Asn (+8,11%) e Ser (+7,93%).

As respostas observadas sobre a digestibilidade dos aminoácidos, com a suplementação isolada de MC e fitase ou a combinação da MC + fitase, sugerem que as enzimas são capazes de melhorar a digestibilidade da proteína e dos aminoácidos. Estudos demonstraram que tanto a fibra (OPALINSKI et al., 2010) como o fitato (COWIESON; RAVINDRAN, 2007; WOYENGO; NYACHOTI, 2011; SREDANOVIC et al., 2012) dos grãos aumentam a

produção de mucina do intestino e indiretamente, eleva as perdas dos aminoácidos endógenos. Logo, a interação da MC e fitase na digestibilidade estandardizada da Thr, Val, Asn, Gln, Gly e Ser, poderiam estar associados com a menor produção de mucina, devido à redução dos PNA do sorgo. Como observaram Nitrayová et al. (2009) e Liu, Selle e Cowieson (2013), a baixa digestibilidade da Thr, Ser, Asn, Gln e Gly estaria associada ao aumento do fluxo desses aminoácidos como parte das mucoproteínas no intestino do suíno, afetando suas digestibilidades. Segundo Nian et al. (2011), a mucina também deve ser considerada a principal fonte de carboidratos endógenos na digesta. Monsma, Vollendorf e Marlett (1992) demonstraram que a frutose, galactose e os amino açúcares representam, aproximadamente, 77% dos carboidratos endógenos totais no intestino de ratos colectomizados. Assim, a suplementação isolada da fitase e ou MC poderia fornecer informações importantes sobre a recuperação endógena das proteínas e carboidratos presentes na mucosa intestinal.

4.4 Experimento IV: Farelo de canola

Ensaio 1: Balanço de nutrientes e uso aparente da energia

Os resultados do balanço dos nutrientes e o uso EMA estão apresentados na Tabela 12. Observou-se interação ($P < 0,05$) de MC e fitase na digestibilidade da MS, N, MM, Ca e P. Assim, quando comparada com a dieta sem enzimas, a suplementação da MC + fitase, melhorou a digestibilidade da MS, N, MM, Ca e P em 8,91%; 10,97%; 9,67%; 10,37% e 12,27%, respectivamente.

O farelo de canola apresenta em média 15,7% de PNA, 7,2 μ moles/g de glucosinolatos, 3,3% de ácido fítico (CANOLA COUNCIL OF CANADÁ, 2009). Dentro dos PNA, além dos arabinosilanos e beta-glucanos, se destacam os arabinogalactanos, galactanos, galactomananos, mananos e polissacáridos pécicos (SLOMINSKI, 2011). Segundo Juanpere et al. (2005), os altos níveis de PNA e fitatos poderiam afetar a digestibilidade e disponibilidade dos nutrientes e energia do farelo de canola. No entanto, o uso combinado de enzimas poderia diminuir os efeitos negativos desses fatores antinutricionais (FAFIOLU et al., 2015), isto explicaria porque o grupo de aves que receberam os tratamentos com enzimas mostraram melhores coeficientes de digestibilidade da MS e demais nutrientes avaliados, comparados ao grupo de aves alimentadas com farelo de canola sem enzimas.

Tabela 12 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) do farelo de canola com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
MS	73,14	77,03	75,10	79,66	0,47	<0,001	0,012	0,044
N	72,14	74,79	78,30	80,06	0,55	0,001	<0,001	0,024
EMA, kcal/kg	1422	1547	1462	1568	11,98	0,001	0,034	0,189
MM	40,23	41,60	45,26	44,12	0,39	0,445	<0,001	0,002
Ca	57,76	59,92	62,57	63,75	0,46	0,007	<0,001	0,015
P	44,57	45,26	48,58	50,04	0,44	0,012	<0,001	0,005
FDN	27,09	30,18	28,80	31,51	0,32	0,003	0,114	0,168

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Maior retenção do N e uso da energia em frangos de corte foi observada por Woyengo e Nyachoti (2011), quando combinaram fitase e xilanase e compararam com suas inclusões isoladas. No presente estudo, a combinação MC e fitase permitiu resposta sinérgica e potencializadora sobre os nutrientes do farelo de canola. Concordando aos relatos de Meng (2006), as enzimas do complexo MC propiciaram hidrólise parcial ou completa das estruturas da parede celular do farelo de canola, expondo os nutrientes e fitatos, antes encapsulados, ao contato de outras enzimas, incluindo a fitase combinada, possivelmente, favorecendo o aumento da absorção de nutrientes. Estudos realizados por Jozefiak et al. (2010) indicaram como benéfico a adição combinada de carboidrase e fitase para frangos de corte sob dietas que continham farelo de canola, ao constatarem melhor utilização do P, proteína, aminoácidos e energia.

Meng et al. (2005) e Meng e Slominski (2005) também indicaram efeitos positivos da inclusão de carboidrases na digestibilidade dos nutrientes da canola. Os autores avaliaram os efeitos da adição de um complexo multi-enzimas (xilanase, glucanase, pectinase, celulase, mannanase e galactonase) em dietas a base de farelo de canola para frangos de corte. Constataram ainda, que a combinação das enzimas aumentou a digestibilidade total dos PNA, mas, não observaram melhoras na digestibilidade dos nutrientes, nem sobre o desempenho das aves.

O conteúdo de PNA, além de induzir aumento da viscosidade intestinal, também afeta a taxa de passagem do alimento pelo intestino (RAVINDRAN, 2013), podendo reduzir a digestão dos nutrientes dietéticos. Jozefiak et al. (2010) demonstraram que os altos teores de PNA na canola aumentaram a viscosidade intestinal do frangos de corte, tendo efeito negativo

na digestibilidade dos nutrientes e no desempenho das aves, associando a isso alterações prejudiciais da flora microbiana intestinal. Assim, o conjunto de enzimas do complexo MC pode ter hidrolisado o esqueleto de arabinoxilanos, beta-glucanos e galactomananos da parede celular do farelo de canola reduzindo os polissacarídeos em compostos menores. Indiretamente, a viscosidade da digesta, favoreceu a absorção dos nutrientes no trato intestinal. De acordo com Slominski (2011), as xilanases e beta-glucanases podem desestabilizar a arquitetura dos arabinoxilanos e beta-glucanos em fragmentos cada vez mais curtos e de menor peso molecular, desse modo, reduz a viscosidade intestinal e aumenta a digestibilidade dos nutrientes.

Os efeitos deletérios do fitato se devem ao armazenamento e complexação do fósforo, tornando-o indisponível para as aves, bem como, pela capacidade de formar complexos com minerais (Ca, Fe, Zn, Mn, Mg), proteínas e aminoácidos (WU et al., 2004; COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2006) em sua ocorrência natural nas dietas, ou pela formação do complexo no intestino delgado (KORNEGAY, 2001). O fitato é também pode se ligar às proteases endógenas (tripsina e quimiotripsina) inibindo suas atividades, reduzindo a digestibilidade da proteína e aminoácidos (NAMKUNG; LEESON, 1999). Na presente avaliação, a suplementação da fitase pode ter favorecido a desfosforilação do fitato presente no farelo de canola, reduzindo seu efeito inibitório na digestibilidade dos minerais e retenção do N. Vários estudos mostraram que a suplementação de fitase em dietas de frangos de corte aumenta a eficácia da digestibilidade e disponibilidade de P (JUANPERE et al., 2005; JOZEFIAK et al., 2010), Ca (WU et al., 2004; JUANPERE et al., 2005; WILKINSON et al., 2014), bem como da proteína, aminoácidos e energia (COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2006; KONG; ADEOLA, 2011).

Embora não tenha sido constatada a interação da MC x fitase na EMA e na digestibilidade do FDN, ocorreu efeito isolado da MC ($P = 0,001$) e da fitase ($P = 0,024$) no uso da energia. No caso do FDN, houve efeitos estatísticos da suplementação isolada da MC ($P = 0,003$). A ausência da interação da MC e fitase na EMA e digestibilidade do FDN sugere ações independentes das enzimas no aproveitamento da energia e da fibra do farelo de canola

O emprego de carboidrases em rações com ingredientes ricos em fibra visa, primeiramente, aumentar o uso da energia contida na fibra, e reduzir os efeitos antinutricionais dos polissacarídeos presentes em tais ingredientes (FAFIOLU et al., 2015). Simultaneamente, essas enzimas diminuem a viscosidade intestinal e taxa de passagem do alimento (WOYENGO; NYACHOTI, 2011).

Ensaio 2: Digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos

A possível hidrólise dos PNA pela inclusão da MC e a provável neutralização do fitato por ação da fitase, foi caracterizada ($P < 0,05$) nos coeficientes de digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos do farelo de canola, excetuando-se a digestibilidade aparente da Pro (Tabelas 13 e 14). As médias da digestibilidade aparente para os dezessete (17) aminoácidos avaliados, de acordo com os tratamentos experimentais foram: 72,90% na ausência de enzimas; 75,47% em presença de MC; 75,51% em presença de fitase; e 77,44% sob ação de MC + fitase. Comparada à dieta controle, houve aumento na digestibilidade aparente dos aminoácidos de 3,53; 3,58 e 6,23% a favor da inclusão da MC, fitase, e a combinação da MC + fitase, respetivamente. Os menores coeficientes de digestibilidade aparente foram para a Thr, mas, a Gln teve o maior coeficiente de digestibilidade aparente.

Tabela 13 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de canola com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	79,96	81,97	81,99	83,04	0,27	<0,001	<0,001	0,028
His	77,41	79,73	81,01	83,87	0,45	0,018	<0,001	0,043
Ile	70,40	72,84	71,40	74,10	0,28	0,015	0,123	0,440
Leu	75,26	77,61	80,88	81,68	0,44	0,010	<0,001	0,003
Lys	73,30	75,78	77,67	77,27	0,34	0,078	<0,001	0,016
Met	79,00	80,84	80,35	83,19	0,32	<0,001	<0,001	0,008
Phe	74,40	75,63	76,78	77,97	0,27	0,125	0,023	0,213
Thr	61,90	66,30	65,50	67,74	0,42	<0,001	0,004	<0,001
Val	68,36	70,62	70,15	72,53	0,31	<0,001	<0,001	0,790
AA não essenciais								
Ala	74,96	77,46	76,10	79,08	0,31	<0,001	0,007	0,253
Asn	69,77	75,09	73,21	77,67	0,50	<0,001	0,015	0,047
Cys	71,49	74,34	74,96	77,31	0,41	0,018	<0,001	0,271
Gln	81,17	84,65	83,86	86,19	0,36	<0,001	0,011	0,009
Gly	70,62	72,98	74,22	74,86	0,33	0,035	<0,001	0,027
Pro	71,28	71,36	71,92	72,47	0,24	0,554	0,641	0,140
Ser	69,03	72,65	71,85	74,14	0,36	<0,001	0,028	0,005
Tyr	71,08	73,05	71,83	73,14	0,22	0,012	0,145	0,108

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Tabela 14 – Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de canola com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	84,20	86,62	86,63	88,26	0,29	<0,001	0,001	0,046
His	82,96	85,27	84,23	87,15	0,30	<0,001	0,008	0,014
Ile	76,26	78,84	77,40	80,57	0,32	0,001	0,032	0,082
Leu	80,36	81,72	84,86	83,87	0,35	0,274	<0,001	0,002
Lys	77,30	78,98	80,69	82,99	0,41	0,012	0,003	0,094
Met	88,00	90,74	91,65	93,12	0,37	0,008	<0,001	0,001
Phe	81,75	82,16	84,00	84,24	0,26	0,058	0,034	0,607
Thr	72,11	76,73	75,50	78,31	0,44	<0,001	0,009	<0,001
Val	75,36	78,62	78,15	81,44	0,43	<0,001	<0,001	0,954
AA não essenciais								
Ala	79,12	81,16	82,50	83,72	0,34	0,012	0,008	0,029
Asn	76,45	80,10	81,86	84,08	0,51	0,009	<0,001	0,004
Cys	80,49	83,06	83,46	85,74	0,38	<0,001	<0,001	0,610
Gln	83,11	87,53	86,30	90,11	0,46	<0,001	0,017	0,044
Gly	75,62	77,98	79,22	79,86	0,33	0,011	<0,001	0,003
Pro	79,71	80,93	82,64	83,79	0,31	0,094	0,004	0,842
Ser	77,54	81,65	79,85	83,50	0,43	<0,001	0,031	0,206
Tyr	79,08	80,80	78,93	81,14	0,22	0,033	0,613	0,178

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Enquanto as médias da digestibilidade estandardizada para os mesmos aminoácidos foram: 79,38% na ausência de enzimas; 81,93% em presença de MC; 82,23% em presença de fitase; e 84,23% para a combinação da MC+ fitase. Maiores coeficientes de digestibilidade estandardizada foram observados para a Met. Embora a digestibilidade dos aminoácidos tenha sido influenciada positivamente ($P < 0,05$) pela inclusão isolada das enzimas, ao serem usadas em combinação, os efeitos foram mais pronunciados, observando-se interação. A interação ($P < 0,05$) da MC e fitase se deu na digestibilidade aparente da Arg, His, Leu, Lys, Met, Thr, Asn, Gln, Gly e Ser, e na digestibilidade estandardizada da Arg, His, Leu, Met, Thr, Ala, Asn, Gln e Gly, seguindo-se a indicação de efeito para Ile ($P = 0,082$) e Lys ($P = 0,094$).

O aumento da digestibilidade dos aminoácidos obtidas com a inclusão das enzimas confirma ação benéfica das enzimas na digestão das proteínas, favorecendo a digestibilidade e absorção dos aminoácidos, conforme salientaram Wu et al. (2004) e Olukosi, Cowieson e

Adeola (2007). A maior retenção do N ratificou as observações de Slominski (2011) ao relatar que em frangos de corte as carboidrases melhoraram a digestibilidade dos nutrientes da canola, mas, a maior eficiência ocorreu sobre os componentes da fibra e demais carboidratos. No entanto, quando o fitato foi clivado pela fitase, seus efeitos antinutricionais foram inibidos, diminuindo o fluxo aminoácidos endógenos (KONG; ADEOLA, 2011).

Na literatura ainda são limitados os trabalhos sobre a digestibilidade de aminoácidos em frangos na fase inicial do crescimento, utilizando enzimas nas rações a base de farelo de canola. Ahmed et al. (2014) observaram aumento na digestibilidade da Arg, Gln, Ser e Thr, quando as aves receberam rações a base de farelo de canola extrusada, não sendo observado o mesmo efeito, quando as aves foram alimentadas com o mesmo ingrediente sem extrusão. Kong e Adeola (2011) relataram que a suplementação da fitase (1500 FTU/kg) em frangos aos 22 dias de idade melhorou em 3% a digestibilidade de 18 aminoácidos em dietas contendo aproximadamente 38% de canola. As variações de resultados entre os autores não são conhecidas, mas, provavelmente, dependem da idade dos frangos, a quantidade do farelo de canola incorporado a dieta, como a única fonte de proteína, a atividade das enzimas e as suas fontes associadas (COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2006).

4.5 Experimento V: Farelo de Girassol

Ensaio 1: Balanço de nutrientes e uso aparente da energia

As amostras obtidas das aves alimentadas com as dietas contendo enzimas apresentaram maiores coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e EMA (Tabela 15), comparadas àquelas das que receberam a dieta sem enzimas. Embora, tenha havido efeito positivo da inclusão isolada de cada enzima sobre a digestibilidade dos nutrientes e EMA, os efeitos da inclusão combinada MC + fitase se mostraram mais pronunciados ($P < 0,05$). Assim, a interação ($P < 0,05$) de MC e fitase foi vantajosa na digestibilidade da MS, N, MM, e P, com indicação favorável ($P = 0,071$) para a EMA. Quando comparada com a dieta sem enzimas, a suplementação da MC + fitase melhorou em 13,15% a digestibilidade da MS, em 13,32% do N e em 7,87% a digestibilidade da P, respectivamente. Não houve interação significativa da MC e fitase na digestibilidade da MM, Ca e FDN, no entanto, numericamente os coeficientes de digestibilidade da MM e do Ca foram superiores com a combinação das enzimas.

Tabela 15 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) do farelo de girassol com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
MS	66,95	73,85	71,98	75,76	0,62	<0,001	0,009	0,012
N	68,93	71,79	76,16	78,11	0,63	0,295	<0,001	<0,001
EMA, kcal/kg	1071	1190	1118	1211	11,29	<0,001	0,012	0,071
MM	61,13	63,04	65,11	67,26	0,45	0,034	<0,001	0,607
Ca	72,12	73,80	75,18	76,25	0,37	0,068	0,002	0,118
P	63,00	64,79	68,09	67,96	0,43	0,027	<0,001	0,007
FDN	38,00	44,16	37,95	43,22	0,55	<0,001	0,101	0,134

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Segundo Adeola e Cowieson (2011), alguns ingredientes apresentam baixa digestibilidade devido à falta de enzimas necessárias para quebrar e hidrolisar a complexa estrutura dos PNA da parede celular dos grãos para liberar nutrientes e o fitato. Na literatura, os trabalhos sobre efeitos do uso de enzimas sobre a digestibilidade do farelo de girassol focaram-se, principalmente, na xilanase e glucanase. No entanto, existem poucos estudos sobre a suplementação combinada de carboidrases e fitases na digestibilidade do farelo de girassol em frangos de corte.

O farelo de girassol apresenta em sua composição média 27,6% de PNA, dos quais 4,5% são solúveis e 23,1% insolúveis (DÜSTERHÖFT et al., 1997), e 0,4 a 6,4% de fitatos (EGLI et al., 2002), sendo que 33% do fósforo total encontra-se disponível (ROSTAGNO et al., 2011). Deste modo, as características do farelo de girassol foram determinantes para a atividade enzimática, conforme os tratamentos estudados, afetando a digestibilidade dos diferentes nutrientes e EMA. Assim, a resposta da MC foi maximizada em combinação com a fitase, devido ao possível sinergismo entre as enzimas.

Reconhece-se que a hidrólise da parede celular do farelo de girassol por ação de enzimas exógenas pode facilitar o acesso das enzimas proteolíticas endógenas na digestão das proteínas complexadas (KOCHER et al., 2000), aumentando a digestibilidade e disponibilidade dos aminoácidos. Por outro lado, sabe-se que as proteínas formam complexos insolúveis com o fitato, afetando a digestibilidade dos aminoácidos (OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2007). No presente estudo, possivelmente, tais complexos foram rompidos por ação da fitase, favorecendo a digestibilidade e aproveitamento do N. Segundo Sorensen (1996) a

suplementação conjunta de xilanase e glucanase, com atividade de pectinase, em dietas a base de farelo de girassol, aumentou a utilização dos nutrientes e da energia pelos frangos de corte. Fafiolu et al. (2015) estudando a digestibilidade do farelo de girassol, com ou sem a inclusão de xilanase e beta-glucanase, observaram que as suplementações enzimáticas favoreceram a digestibilidade da MS (+3,26%), proteína (+5,36%), fibra (+15,56%) e cinzas (+7,49%) em frangas, quando compararam à dieta sem enzimas.

A presença de fibra solúvel no farelo de girassol pode aumentar a viscosidade intestinal, dificultando a digestão e a absorção dos nutrientes, sobretudo, os lipídios, resultando em menor aproveitamento da energia (FREITAS; SAKOMURA; EZEQUIEL, 2006). Então, a “quebra” da parede celular do farelo de girassol pela MC, indiretamente, diminuiu a viscosidade intestinal, estabilizando a produção de muco, ao diminuir a absorção de água, permitindo que as enzimas endógenas interajam com seus respectivos substratos (SLOMINSKI, 2011). Utilizando xilanase e glucanase, combinadas ao farelo de linhaça e de girassol, na alimentação de frangos, galinhas e codornas Mandal et al. (2005) não identificaram efeitos das enzimas sobre o conteúdo de energia metabolizável da linhaça, mas, no farelo de girassol o aumento foi de 1458 para 1553 kcal/kg na MS para as três espécies de aves.

Como foi revisado, a inclusão da fitase não só contribui na liberação do P fítico, como permite o mesmo aos minerais Ca, Cu, Zn, Mg e Fe (BEDFORD; COWIESON, 2012) aumentando a digestibilidade da fração mineral. O estudo de Taverani et al. (2008) focando a digestibilidade e o desempenho de frangos de corte, alimentados com farelo de girassol e complexo enzimático (celulase, beta-glucanase, xilanase e fitase), já mostrara considerável melhora nos coeficientes aparentes da energia metabolizável, digestibilidade de Ca e P, tal qual foi observado no presente estudo.

Na digestibilidade do FDN não foi identificado interação das enzimas. Efeitos significativos ($P < 0,001$) foram encontrados com a inclusão isolada de MC, representando o aumento de 16,21% na digestibilidade do FDN, quando comparou-se a dieta sem enzimas. Segundo, Slominski (2011), a fibra pode ser bom preditor do valor nutritivo dos ingredientes, devido ao efeito exercido pela parede celular e a forte correlação negativa entre o teor de fibra e a digestibilidade da proteína bruta e gordura. Como sugere os presentes resultados, o conjunto de enzimas do complexo MC aumentou o aproveitamento da fibra e possivelmente, da energia e demais nutrientes.

Ensaio 2: Digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos

Os resultados da digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos são apresentados nas Tabelas 16 e 17, respectivamente. A média da digestibilidade aparente para todos os aminoácidos avaliados, de acordo com os tratamentos experimentais foram: 76,35% na ausência de enzimas; 79,06% em presença de MC; 79,56% em presença de fitase; e 82,10% sob ação de MC + fitase. Enquanto as médias da digestibilidade estandardizada para os mesmos aminoácidos foram: 83,34% na ausência de enzimas; 85,71% em presença de MC; 86,42% em presença de fitase; e 88,57% para a combinação da MC+ fitase.

Tabela 16 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de girassol com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	84,72	87,17	87,96	89,65	0,35	0,004	<0,001	0,036
His	73,79	74,28	76,70	80,25	0,49	<0,001	<0,001	<0,001
Ile	80,34	82,00	82,93	83,91	0,31	0,008	0,013	0,243
Leu	80,19	81,47	82,31	83,63	0,30	0,044	0,021	0,930
Lys	76,52	78,76	82,47	83,03	0,51	0,012	<0,001	0,005
Met	85,76	87,56	91,14	90,52	0,43	0,007	<0,001	<0,001
Phe	76,52	78,76	80,92	82,48	0,44	0,065	0,004	0,115
Thr	70,29	75,07	72,56	78,56	0,53	<0,001	0,021	0,010
Val	78,91	79,65	81,26	82,88	0,32	0,012	0,002	0,054
AA não essenciais								
Ala	75,52	77,31	78,12	80,19	0,33	0,036	0,001	0,385
Asn	76,97	82,91	80,92	85,24	0,53	0,006	<0,001	0,004
Cys	73,58	76,41	77,27	78,29	0,35	0,013	0,004	0,007
Gln	77,66	82,60	79,79	85,49	0,54	<0,001	0,017	0,071
Gly	71,88	74,48	73,64	77,66	0,41	<0,001	0,011	<0,001
Pro	70,85	73,93	75,02	76,90	0,44	0,026	<0,001	0,013
Ser	66,60	72,97	69,69	75,61	0,58	<0,001	<0,001	0,162
Tyr	77,94	78,66	79,91	81,46	0,31	0,031	0,001	0,012

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Tabela 17 – Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de girassol com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	89,41	92,54	93,55	95,23	0,42	0,011	<0,001	0,008
His	82,42	85,64	85,47	87,92	0,38	<0,001	0,003	0,011
Ile	86,24	87,19	87,90	89,71	0,28	0,002	<0,001	0,016
Leu	85,53	88,74	86,95	90,28	0,36	<0,001	0,032	0,750
Lys	83,05	85,36	86,85	87,08	0,32	0,044	0,011	0,002
Met	90,44	92,76	95,42	97,10	0,48	0,079	<0,001	0,060
Phe	86,95	87,91	89,37	90,82	0,31	0,053	0,003	0,179
Thr	79,31	82,58	83,09	85,36	0,43	0,027	<0,001	0,024
Val	84,39	87,34	85,89	89,94	0,41	<0,001	0,041	0,015
AA não essenciais								
Ala	80,90	84,34	83,54	86,55	0,39	<0,001	0,012	0,152
Asn	83,15	85,01	86,65	89,60	0,47	0,003	<0,001	0,025
Cys	84,54	86,64	87,55	88,92	0,31	0,039	0,006	0,012
Gln	87,66	92,24	89,79	95,06	0,52	<0,001	0,021	0,061
Gly	77,80	79,17	81,01	83,11	0,39	0,026	0,004	0,023
Pro	76,66	78,79	81,89	82,36	0,45	0,013	<0,001	0,002
Ser	74,68	76,51	78,37	79,49	0,36	0,031	0,001	0,024
Tyr	83,68	84,29	85,87	87,23	0,31	0,032	<0,001	0,018

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

As suplementações isoladas ou combinadas das enzimas influenciaram ($P < 0,05$) na digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos. Quando comparada à mesma fração sem enzimas, as aves que consumiram as dietas contendo enzimas apresentaram melhores coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos. Apesar do aumento na retenção do N e na digestibilidade dos aminoácidos, sob o efeito isolado de cada enzima, os maiores coeficientes de digestibilidade aparente e estandardizada se deram com a combinação de MC + fitase.

Assim, houve interação ($P < 0,05$) da MC e fitase na digestibilidade aparente da Arg, His, Lys, Met, Thr, Asn, Cys, Gly, Pro e Tyr, com indicação para a Val ($P = 0,054$) e Gln ($P = 0,071$), e na digestibilidade estandardizada da Arg, His, Ile, Lys, Thr, Val, Asn, Cys, Gly, Pro, Ser e Tyr, com indicação para a Met ($P = 0,060$) e Gln ($P = 0,061$). Com relação à dieta sem enzimas, a digestibilidade aparente dos aminoácidos melhorou em 7,53%, enquanto, para a digestibilidade estandardizada dos aminoácidos houve uma melhora de 6,27%, em decorrência da suplementação da MC + fitase.

Os efeitos positivos observados no presente estudo estão de acordo com resultados obtidos em outros estudos, em que a inclusão de enzimas também melhorou a digestibilidade dos aminoácidos (COWIESON; RAVINDRAN, 2007; KONG; ADEOLA, 2011), isto sugere que a provável clivagem dos PNA por ação da MC e possível neutralização do fitato por ação da fitase, favoreceu a digestibilidade dos aminoácidos. A resposta da fitase na digestibilidade dos aminoácidos, pode ter sido influenciada pelo teor de fitato e pelas propriedades estruturais ou químicas do fitato e da proteína no farelo de girassol. A Capacidade de complexação entre o fitato e as proteínas durante a passagem do alimento pelo trato intestinal pode prejudicar a atividade das proteases e, conseqüentemente, reduzir a digestibilidade dos aminoácidos (SELLE; RAVINDRAN, 2007). Mas, a capacidade da proteína se ligar ao fitato é determinada por sua estrutura, solubilidade e pelos resíduos de aminoácidos disponíveis. Enquanto, a capacidade do fitato se ligar as proteínas é determinada, em grande parte, pela sua solubilidade, a qual depende do grau de complexação com os minerais (OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2008).

Ao comparar o fornecimento de 25 e 50 g de alguns alimentos fibrosos para aves, Borges et al. (2005) constataram que o teor e o tipo de fibra promove aumentos das secreções endógenas, subestimando-se a digestibilidade dos aminoácidos. No entanto, a inclusão de enzimas exógenas poderia reduzir as perdas endógenas dos aminoácidos, melhorando a digestibilidade do nitrogênio e dos aminoácidos.

4.6 Experimento VI: Milho

Ensaio 1: Balanço de nutrientes e uso aparente da energia

Os resultados do balanço dos nutrientes e do uso da energia são apresentados na Tabela 18. Houve interação ($P < 0,05$) da MC x fitase na digestibilidade do N e do P, com tendência para a MS ($P = 0,071$) e Ca ($P = 0,065$). Assim, quando se comparou à dieta com suplementação combinada de MC + fitase com a dieta sem enzimas, encontrou-se acréscimos de 4,83; 5,91; 7,31e 13,24% na digestibilidade da MS, N, Ca e P, respetivamente, em favor da combinação das enzimas. Comparado aos dados da literatura, a menor digestibilidade da proteína e da energia do milho, sem uso de enzimas, neste estudo, demonstra a menor eficiência do trato

gastrointestinal das aves jovens no aproveitamento dos nutrientes da dieta. Estes resultados são similares aos observados por Batal e Parsons (2002) e Adedokun et al. (2008), quando encontraram menor digestibilidade do N e dos aminoácidos em frangos jovens, comparado a outras aves em fases mais avançadas do crescimento, recebendo dietas a base de milho.

Tabela 18 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) do milho com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
MS	82,39	85,27	82,91	86,37	0,32	<0,001	0,042	0,071
N	80,37	81,27	85,09	85,12	0,43	0,202	<0,001	0,030
EMA, kcal/kg	2907	3073	2961	3092	15,73	0,036	0,087	0,116
MM	69,11	69,04	71,93	70,76	0,28	0,694	0,031	0,106
Ca	72,63	73,81	76,09	77,94	0,35	0,031	0,004	0,065
P	67,07	69,67	74,48	75,95	0,55	0,032	<0,001	0,010
FDN	67,98	69,54	68,33	69,78	0,22	0,095	0,177	0,812

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Os efeitos da interação indicaram ação sinérgica entre a MC e fitase, apesar do milho ter baixa concentração de fitatos e de PNA, provavelmente, propiciando baixa viscosidade, considerada a composição aproximada de 8% PNA (CHOCT, 1997). Segundo Fincher e Stone (2004), na composição do milho pode haver 5,1 a 6,8% arabinoxilanos, 0,8 a 1,7 beta-glucanos, além de conter apenas 34% do P total como P disponível (ROSTAGNO et al., 2011). Desse modo, a fração de PNA pode afetar a disponibilidade dos nutrientes do milho, sendo necessária a inclusão de enzimas do tipo das xilanase e beta-glucanases (SLOMINSKI, 2011).

A estrutura do amido no endosperma dos grãos e nas camadas de aleurona são consideradas como barreiras físicas à ação das enzimas digestivas das aves, devido a limitação do contato dessas com as frações de proteína e amido (COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2004; JOZEFIK et al., 2010). Assim, a suplementação das carboidrases permitiria a hidrólise das camadas da aleurona, refletindo no aumento da digestibilidade dos nutrientes e da energia (SLOMINSKI, 2011). Todavia, a digestão do amido do milho no íleo das aves é incompleta e o uso de enzimas exógenas também pode melhorar a digestibilidade do amido, favorecendo o uso da energia (JOZEFIK et al., 2010).

A melhora na digestibilidade do N estaria de acordo com o observado por Cowieson; Acamovic e Bedford (2006) que indicaram ser possível maximizar a resposta da fitase, quando

combinada a xilanase, aumentando a permeabilidade da capa de aleurona do milho, favorecendo o acesso das enzimas digestivas na hidrólise da proteína, aumentando a digestibilidade do N, quanto observado neste estudo. A liberação do Ca e P pela defosforilação do fitato, possivelmente, melhorou a digestibilidade dos mesmos (SELLE; RAVINDRAN, 2007). No entanto, Cowieson e Adeola (2005) e Olukosi, Cowieson e Adeola (2008) não encontraram aumentos significativos da suplementação da xilanase + fitase sobre a digestibilidade do P e outros minerais para os frangos de corte, alimentados com dietas a base de milho e farelo de soja.

Não houve interação da MC e fitase na digestibilidade da EMA, MM e FDN. A inclusão isolada da fitase teve efeito significativo na digestibilidade da MM ($P = 0,031$). O aumento da digestibilidade na MM por ação da fitase foi de 4,08%. No caso da EMA, tanto a inclusão isolada da MC ($P = 0,036$) e da fitase ($P = 0,087$), influenciaram na digestibilidade do mineral, sendo o efeito mais pronunciado com a inclusão da MC. Amerah et al. (2016, no prelo)³ ao avaliarem um complexo enzimático, composto por xilanase, amilase e protease, em dietas para frangos de corte a base de milho e farelo de soja, demonstraram que as enzimas foram eficientes em aumentar os valores de energia e melhorar a digestibilidade da MS, o qual possivelmente esteve associada à quebra da parede celular do milho pela xilanase, permitindo a ação da amilase e da protease.

Como foi indicada anteriormente, a inclusão isolada da MC mostrou maior coeficiente numérico na digestibilidade da MS, quando comparada a inclusão isolada da fitase. Está melhora numérica poderia estar relacionada ao aumento no uso da energia, pela liberação do amido e da gordura que estariam encapsulados no milho, e menos pelo teor de fibra do milho. Assim, não foi possível detectar efeitos significativos na digestibilidade do FDN pela inclusão das enzimas. No entanto, Zanella et al. (1999) reportaram que a suplementação de carboidrases em dietas a base milho e soja aumentou a digestibilidade da fibra.

Ensaio 2: Digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos

Os resultados de digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos estão apresentados nas Tabelas 19 e 20. A inclusão das enzimas influenciou ($P < 0,05$) positivamente na digestibilidade dos aminoácidos. As médias dos coeficientes de digestibilidade aparente dos

³ AMERAH, M.; ROMERO, L. F.; AWATI, A.; RAVINDRAN, V. 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**, Cary, p. 1-10, 2016. No prelo.

17 aminoácidos do milho, segundo os tratamentos experimentais foram: 81,46% na ausência de enzimas; 83,02% em presença da MC; 83,92% em presença da fitase e 85,51% para a combinação da MC + fitase. Enquanto as médias da digestibilidade estandardizada para os mesmos aminoácidos foram: 88,78% na ausência de enzimas; 90,39% em presença da MC; 91,07% em presença da fitase e 92,69% para a combinação da MC + fitase.

Tabela 19 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) do milho com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	83,05	85,29	86,10	87,46	0,33	0,038	0,012	0,081
His	84,93	85,69	86,66	88,22	0,28	0,010	<0,001	0,213
Ile	83,08	84,14	86,25	88,20	0,39	0,004	<0,001	0,029
Leu	90,44	90,02	92,25	92,02	0,26	0,205	0,033	0,719
Lys	79,91	82,02	83,46	84,89	0,36	0,041	0,008	0,054
Met	84,17	85,35	87,70	89,09	0,39	0,001	<0,001	0,657
Phe	84,06	86,29	87,11	88,57	0,33	0,020	0,002	0,064
Thr	67,66	70,20	67,85	73,00	0,44	<0,001	0,031	0,001
Val	81,81	83,54	83,82	86,20	0,32	0,018	0,004	0,119
AA não essenciais								
Ala	88,50	87,99	90,00	90,78	0,28	0,669	0,001	0,043
Asn	80,51	82,81	82,11	84,00	0,26	0,002	0,019	0,265
Cys	78,70	78,88	81,99	81,45	0,31	0,480	<0,001	0,158
Gln	89,33	91,95	89,73	93,09	0,32	0,004	0,028	0,121
Gly	76,31	78,30	81,21	80,90	0,40	0,036	<0,001	0,002
Pro	82,98	84,84	85,02	87,44	0,32	0,028	0,002	0,180
Ser	78,72	81,73	81,12	83,86	0,37	0,001	0,009	0,606
Tyr	71,00	72,20	74,19	74,52	0,30	0,016	<0,001	0,053

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Interação significativa ($P < 0,05$) da MC e fitase foi observada na digestibilidade aparente da Ile, Thr, Ala e Gly, com tendência significativa, também, para Arg ($P = 0,081$), Lys ($P = 0,054$), Phe ($P = 0,064$) e Tyr ($P = 0,053$). Na digestibilidade estandardizada dos aminoácidos, houve interação ($P < 0,05$) dos fatores para os aminoácidos, Leu, Lys, Cys, Gln e Ser. A mesma indicação de efeito se deu na digestibilidade estandardizada da Ile ($P = 0,082$), Met ($P = 0,081$), Phe ($P = 0,053$), Thr ($P = 0,052$) e Ala ($P = 0,055$). Assim, quando comparada

à dieta sem enzimas, a combinação da MC + fitase melhorou a digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos, em 4,97 e 4,40%, respectivamente.

Tabela 20 – Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada (%) dos aminoácidos (AA) do milho com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	89,85	91,36	92,38	94,43	0,34	0,016	0,008	0,266
His	90,66	91,80	91,87	93,18	0,27	0,031	0,012	0,446
Ile	89,97	91,60	93,03	95,38	0,39	0,004	<0,001	0,082
Leu	93,72	93,61	95,27	97,11	0,29	0,025	0,009	0,001
Lys	83,32	85,37	87,20	88,52	0,39	0,018	<0,001	0,046
Met	89,98	92,24	94,09	95,49	0,41	0,013	0,001	0,081
Phe	88,36	90,75	91,05	94,23	0,41	0,020	<0,001	0,053
Thr	83,27	86,05	84,15	88,06	0,38	<0,001	0,022	0,052
Val	86,31	87,79	88,72	90,30	0,29	0,109	0,001	0,820
AA não essenciais								
Ala	93,74	93,71	95,79	97,01	0,31	0,066	<0,001	0,055
Asn	91,48	94,69	91,92	95,64	0,39	<0,001	0,211	0,134
Cys	83,45	84,73	87,85	87,30	0,37	0,173	<0,001	0,002
Gln	93,70	95,29	97,22	97,71	0,31	0,033	<0,001	0,018
Gly	83,09	85,15	82,85	85,15	0,26	0,022	0,607	0,594
Pro	90,82	92,61	92,22	94,72	0,29	0,001	0,010	0,130
Ser	84,33	85,45	88,35	87,88	0,33	0,111	<0,001	0,004
Tyr	92,79	93,60	94,48	95,29	0,24	0,078	<0,001	0,994

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

A provável clivagem dos PNA, devido a inclusão da MC e a possível neutralização do fitato pela suplementação da fitase melhorou a digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos. Apesar da suplementação isolada de enzimas favorecer a retenção do N e digestibilidade dos aminoácidos, quando essas foram combinadas, os resultados foram mais elevados, como se constatou na digestibilidade dos aminoácidos.

Em dietas à base de farelo de soja, ofertadas a frangos de corte de 26 dias de idade, Cowieson e Ravindran (2007) observaram que a suplementação de fitase (500 FTU/kg de ração) melhorou a digestibilidade da Asn, Phe, His, Arg, Cys, e Met e Val. Mas, Sebastian et al. (1996) não observaram efeitos da suplementação de fitase sobre a digestibilidade da Met e Phe.

Contudo, Sebastian et al. (1996) não observaram efeitos da suplementação de fitase sobre a digestibilidade da Met e Phe.

Estudos de Cowieson e Ravindran (2007) e Kong e Adeola (2011) também, demonstraram que houve aumento da digestibilidade de todos os aminoácidos. Os autores atribuíram as respostas ao teor de proteína dos ingredientes, assim como, o conteúdo de aminoácidos dos mesmos. Desse modo, as diferentes respostas observadas na digestibilidade dos aminoácidos, indicariam que as enzimas utilizadas no estudo atuaram de forma individual sobre os aminoácidos, observando-se as respostas sinérgicas ou aditivas. Segundo Slominski (2011), existem diferentes respostas enzimáticas sobre a digestibilidade dos aminoácidos, devido principalmente ao tipo e as características do aminoácido, podendo haver respostas sinérgicas, sub-aditivas, aditivas ou antagônicas. No entanto, o mesmo autor, utilizando carboidratos em dietas à base de milho e farelo de soja, sugeriu que melhoras da digestibilidade da proteína e dos aminoácidos foram produzidas pela modificação das estruturas das proteínas (glicoproteínas) e não pela desestabilização da parede celular do milho e do farelo de soja, como ocorreria com o trigo ou farelo de arroz.

A diminuição das perdas endógenas de aminoácidos no intestino pela suplementação de enzimas exógenas em dietas à base de milho e soja, também tem sido citada como possível mecanismo que contribui no aumento da digestibilidade dos aminoácidos (COWIESON; RAVINDRAN, 2007). Portanto, as enzimas utilizadas no presente estudo podem ter aliviado os efeitos antinutricionais dos PNA e do fitato, resultando na diminuição das secreções endógenas, que, por sua vez, aumentou a digestibilidade do N e dos aminoácidos (WILKINSON et al., 2014).

4.7 Experimento VII: Farelo de soja

Ensaio 1: Balanço de nutrientes e uso aparente da energia

Os resultados do balanço dos nutrientes e EMA do farelo de soja estão apresentados na Tabela 21. As amostras provenientes do grupo de aves alimentadas com a ração sem enzimas apresentaram menores coeficientes de digestibilidade para o farelo de soja, em comparação às aquelas que receberam os tratamentos com enzimas. Foram observados efeitos significativos

da inclusão isolada das enzimas na digestibilidade dos nutrientes e da EMA, no entanto, os resultados foram mais pronunciados sob a combinação MC + fitase. Assim, houve interação das enzimas MC x fitase sobre a digestibilidade da MS, N, EMA, MM e P. Quando comparada à dieta sem enzimas, a combinação das enzimas melhorou a digestibilidade da MS, N, EMA, MM e P em 7,12%; 7,79%; 7,63%, 4,48% e 13,16%, respectivamente.

Tabela 21 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) do farelo de soja com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
MS	86,93	92,21	89,19	93,12	0,48	<0,001	0,023	0,006
N	84,07	86,04	89,51	90,62	0,51	0,010	<0,001	0,026
EMA, kcal/kg	1887	2046	1917	2031	13,67	<0,001	0,252	0,002
MM	72,46	73,86	76,00	75,95	0,30	0,104	<0,001	0,009
Ca	59,51	59,97	62,76	63,01	0,32	0,131	0,002	0,633
P	57,05	59,81	62,47	64,56	0,52	0,008	<0,001	0,041
FDN	64,01	65,83	64,26	65,98	0,25	0,134	0,421	0,856

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Os efeitos obtidos podem ser explicados pela presença heterogênea dos PNA nas paredes celulares do farelo de soja. De acordo com Choct et al. (1997), o farelo de soja contém aproximadamente de 20 a 30% de PNA, 3 a 8% de sucrose; 0,1 a 1,5% de rafinose; 1 a 6% de estaquiose; 0,1% de beta-glucanos; 4,5% de arabinosilanos; 1,3% de mananos (BACH KNUDSEN, 1997) e 1,7% de fitatos (DE BOLAND; GARNER; O'DELL, 1975). Sendo que 38% do P total encontram-se como P disponível (ROSTAGNO et al., 2011). Logo, as enzimas do complexo das MC, possivelmente, hidrolisaram os PNA presentes na parede celular do farelo de soja expondo o amido e outros nutrientes para sua digestão, além de favorecer a interação dos substratos com as enzimas endógenas (EMIOLA et al., 2009). A possível hidrólise estaria associada à liberação de proteínas, aminoácidos, minerais, amido e enzimas endógenas que estariam ligadas ao fitato (SELLE; RAVINDRAN, 2007). Acredita-se que a adição de fitase também melhore a disponibilidade de energia e proteína dos alimentos, pela redução na produção de mucina, decorrente do maior renovação celular provocada pela presença do fitato na dieta (SLOMINSKI, 2011), o que promoveria melhor utilização da proteína e da energia.

Segundo Salanova (1996), as carboidrases exógenas provocam a degradação das proteínas estruturais de reserva como: a conglícina e beta-conglícina, presentes nas paredes celulares da soja, também, reduzem os efeitos dos inibidores das proteases, lecitinas e saponinas presentes na soja, o que melhoraria a utilização dos nutrientes. Selle; Cowieson e Ravindran (2009) observaram que a combinação de carboidrases a fitase melhorou a digestibilidade do N em 9,1% em frangos de corte, quando compararam à dieta controle, identificando efeito sinérgico entre as enzimas. Oliveira et al. (2007), também constataram melhor digestibilidade da MS, MM e PB, ao adicionarem complexo enzimático (celulase, protease, amilase e fitase) em rações de frangos, formuladas com milho e farelo de soja. Meng et al. (2006) ao avaliarem os efeitos da fibra e carboidrases em frangos de corte, alimentando-os com dietas a base de milho e farelo de soja, contendo 9% de PNA, constataram que a inclusão das enzimas aumentou EMA em 2,3%.

Não houve interação da MC e fitase sobre a digestibilidade do Ca e FDN. Porém, a fitase isolada teve efeito ($P = 0,002$) sobre a digestibilidade do Ca. Comparando-se à dieta controle, a digestibilidade do mineral melhorou em 5,46%. O FDN, sob ação isolada da MC também teve aumentada ($P = 0,001$) sua digestibilidade.

A capacidade de o fitato ligar-se aos minerais e proteínas prejudica a digestão e absorção intestinal, mas, sua hidrólise liberaria os compostos nutricionais, aumentando a utilização dos nutrientes pelo animal (WILKINSON et al., 2014). Resultados deste estudo sugerem, a possível hidrólise do fitato pela fitase e liberação de proteínas e minerais complexados, melhorando a digestibilidade do N, MM, Ca e P. Confirmar-se-ia, então, o efeito benéfico da fitase microbiana sobre o fitato, incrementando a digestibilidade ileal de nutrientes nas dietas de frangos.

Efeitos da combinação das carboidrases + fitase na digestibilidade do Ca não foram identificados por Cowieson e Adeola (2005), e Olukosi, Cowieson e Adeola (2008), mas, a inclusão isolada da fitase incrementou a digestibilidade do mineral, tal como observado no presente estudo. Selle, Cowieson e Ravindran (2009) também concluíram que a suplementação isolada da fitase em dietas a base de milho e farelo de soja proporcionou efeitos significativos sobre a digestibilidade do Ca e do P, porém, a combinação da xilanase + fitase proporcionou maior digestibilidade dos minerais.

Na literatura, são limitados os estudos sobre a digestibilidade do FDN do farelo de soja, possivelmente, porque ser um ingrediente com alta digestibilidade. No entanto, a composição o farelo conta com altos teores de rafinose e estaquiose (CHOCT et al., 1997). Na presente

situação, é possível que tais polissacarídeos tenham sido liberados pelo complexo MC, aumentando a digestibilidade do FDN.

Ensaio 2: Digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos

Os resultados de digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos estão apresentados nas Tabelas 22 e 23. A inclusão das enzimas influenciou ($P < 0,05$) positivamente na digestibilidade dos aminoácidos. As médias dos coeficientes de digestibilidade aparente dos 17 aminoácidos do farelo de soja, segundo os tratamentos experimentais foram: 81,73% na ausência de enzimas; 83,18% em presença da MC; 84,33% em presença da fitase e 85,97% para a combinação da MC + fitase. Enquanto as médias da digestibilidade estandardizada para os mesmos aminoácidos foram: 86,86% na ausência de enzimas; 88,83% em presença da MC; 89,77% em presença da fitase e 91,39% para a combinação da MC + fitase.

Tabela 22 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de soja com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	87,75	89,17	90,83	93,62	0,40	<0,001	<0,001	0,003
His	83,99	85,08	86,76	88,41	0,33	0,014	0,001	0,035
Ile	82,97	83,98	84,83	86,65	0,28	0,018	<0,001	0,102
Leu	80,47	81,36	81,96	83,18	0,23	0,014	0,013	0,441
Lys	82,23	84,80	87,79	89,33	0,48	0,002	<0,001	0,020
Met	84,00	84,93	85,74	87,02	0,24	0,117	0,002	0,335
Phe	83,73	85,21	86,40	88,45	0,36	0,024	<0,001	0,420
Thr	79,31	81,81	82,02	83,15	0,29	0,004	0,001	0,007
Val	79,41	81,20	83,97	83,03	0,36	0,109	0,003	0,006
AA não essenciais								
Ala	77,29	79,15	79,57	81,68	0,32	0,004	0,001	0,592
Asn	82,01	83,94	83,65	86,14	0,30	<0,001	<0,001	0,243
Cys	75,14	75,38	77,68	78,72	0,30	0,022	<0,001	0,042
Gln	83,62	83,98	85,22	86,86	0,27	0,107	0,004	0,021
Gly	82,29	84,15	84,57	86,65	0,32	<0,001	<0,001	0,655
Pro	82,97	83,58	84,38	85,22	0,26	0,071	0,002	0,012
Ser	80,29	82,15	82,57	85,18	0,35	<0,001	<0,001	0,116
Tyr	80,46	84,11	85,70	87,14	0,28	0,028	<0,001	0,593

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Tabela 23 – Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada (%) dos aminoácidos (AA) do farelo de soja com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	92,10	93,31	95,67	95,85	0,32	0,021	0,001	0,017
His	90,56	93,79	93,47	95,92	0,37	<0,001	<0,001	0,011
Ile	88,36	89,72	92,86	91,87	0,35	0,274	<,0001	0,009
Leu	87,26	89,84	88,40	91,57	0,32	0,001	0,022	0,082
Lys	89,19	90,86	94,58	93,85	0,43	0,054	<0,001	0,001
Met	90,30	90,76	94,80	96,06	0,38	0,005	<0,001	0,013
Phe	88,25	90,47	92,20	93,90	0,41	0,046	0,009	0,111
Thr	81,94	83,03	86,27	87,68	0,45	0,014	<0,001	0,359
Val	86,30	86,62	88,19	90,14	0,30	0,062	<0,001	0,009
AA não essenciais								
Ala	80,98	82,96	82,10	84,16	0,25	0,007	0,023	0,866
Asn	87,00	89,93	88,74	92,02	0,36	0,073	0,005	0,335
Cys	80,49	82,33	83,96	84,84	0,35	0,012	<0,001	0,069
Gln	89,17	92,04	90,72	92,69	0,28	<0,001	0,022	0,024
Gly	86,19	88,92	90,22	90,86	0,37	0,010	<0,001	0,001
Pro	85,71	86,99	86,49	89,79	0,32	<0,001	<0,001	<0,001
Ser	85,54	89,72	87,85	91,21	0,43	<0,001	0,011	0,006
Tyr	87,26	88,75	89,63	91,27	0,28	<0,001	<0,001	0,540

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Aumentos absolutos na digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos com a combinação das enzimas ultrapassou a soma dos resultados oriundos das amostras da suplementação isolada de MC ou fitase. Foi identificado, portanto, a interação ($P < 0,05$) de MC e fitase na digestibilidade aparente da Arg, His, Lys, Thr, Val, Cys, Gln e Pro. A mesma interação foi observada na digestibilidade estandardizada da Arg, His, Ile, Lys, Met, Val, Gln, Gly e Ser, com indicação de efeito na digestibilidade estandardizada da Leu ($P = 0,082$) e Cys ($P = 0,069$). Assim, quando comparada à dieta sem enzimas, a combinação da MC + fitase melhorou a digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos, em 5,19% e 5,22%, respectivamente.

Mesmo na ausência de enzimas exógenas, a digestibilidade estandardizada dos aminoácidos do farelo de soja foi superior a 80%, devido à alta qualidade da proteína. Strada et al. (2005) verificaram que a adição de complexo enzimático em rações, à base de milho e farelo de soja, para frangos de corte de 22 a 42 dias de idade, aumentou a eficiência de uso da Met,

Cys e Lys. Selle, Cowieson e Ravindran (2009), testando dietas a base de milho e soja em frangos de corte, sob inclusão combinada de carboidrase e fitase, encontraram melhora de 8,6% na digestibilidade aparente de 17 aminoácidos, porém a suplementação isolada da carboidrase ou fitase mostrou aumentos menores (4,4% e 5,5%, respectivamente).

As propriedades estruturais e químicas dos grãos determinam o grau de ligação do fitato às proteínas e isso diferenciaria a digestibilidade dos aminoácidos, quando a fitase é adicionada nas dietas dos frangos de corte (WOYENGO; NYACHOTI, 2011). Segundo Jozefiak et al. (2010), a fitase também tem a capacidade de alterar a estrutura molecular das proteínas, prevenindo a formação de complexos com o fitato, tendo assim, efeito positivo na digestão e absorção dos aminoácidos no intestino delgado dos frangos. Baseando-se na literatura revisada, os efeitos observados entre a MC e a fitase demonstram que tais enzimas podem melhorar a digestibilidade dos aminoácidos do farelo de soja.

4.8 Experimento VIII: Soja integral extrusada

Ensaio 1: Balanço de nutrientes e uso aparente da energia

A soja integral extrusada tem sido utilizada como ingrediente proteico nas formulações de rações para aves e outras espécies monogástricas, porém, há limitações para o seu uso em frangos de corte. Limitações essas, devido a presença de fatores antinutricionais como os PNA que dificultam a atuação de enzimas digestivas, podendo alterar a morfologia intestinal e interferir na digestibilidade e absorção dos nutrientes (WAYNE; XIUHUA, 2010).

As aves alimentadas com as dietas suplementadas de enzimas, apresentaram maiores coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e melhor aproveitamento da energia, comparadas àquelas alimentadas com dieta sem enzimas (Tabela 24). Encontraram-se efeitos positivos da inclusão isolada das enzimas sobre a digestibilidade dos nutrientes e energia, todavia, os efeitos dessa inclusão se pronunciaram ($P < 0,05$) com a combinação MC + fitase, caracterizando efeito de interação. Os resultados presentes confirmam o efeito das enzimas sobre aproveitamento dos nutrientes dietéticos e sugerem que os polissacarídeos presentes nas rações foram hidrolisados, em função da ação enzimática (SLOMINSKY, 2011).

Tabela 24 – Coeficientes de digestibilidade aparente e valor da energia metabolizável aparente (EMA) da soja integral extrusada com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte dos 14 aos 18 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
MS	87,01	89,78	91,97	92,24	0,41	0,002	<0,001	0,018
N	86,83	87,09	91,72	92,97	0,50	0,065	<0,001	0,008
EMA, kcal/kg	2748	2811	2779	2886	11,08	0,009	0,094	0,071
MM	72,33	73,67	77,29	76,74	0,41	0,028	0,002	0,014
Ca	71,83	72,09	75,65	75,47	0,36	0,836	<0,001	0,274
P	68,83	69,09	73,52	74,56	0,50	0,071	<0,001	0,029
FDN	62,59	66,24	63,01	65,75	0,32	<0,001	0,855	0,143

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Os valores inferiores na digestibilidade dos nutrientes e energia metabolizável da soja integral extrusada (sem enzimas), comparado aos dados da literatura, comprovam a hipótese do presente estudo de que a digestibilidade de nutrientes seria inferior em frangos de corte na fase inicial. Como salientaram Juanpere et al. (2005); Cowieson, Acamovic e Bedford (2006), que aves em fases subsequentes encontram-se em estágio fisiológico para a digestão mais desenvolvido, obtendo-se, portanto, maiores coeficientes de digestibilidade. Dessa forma, resultados da literatura podem superestimar alguns coeficientes de digestibilidade, ao extrapolarem dados obtidos com frangos na fase de crescimento ou terminação.

Houve, contudo, efeito da suplementação isolada das enzimas sobre a digestibilidade dos nutrientes. No entanto, o efeito foi superior quando as enzimas foram suplementadas conjuntamente. Assim, interação ($P < 0,05$) da MC e fitase foi identificada na digestibilidade da MS, N, MM e P, com indicação de melhora na EMA ($P = 0,071$). Quando comparou a dieta sem enzimas com aquela suplementada de MC + fitase, observou-se que a suplementação combinada das enzimas melhorou a digestibilidade da MS, N, EMA, MM, P e FDN em 6,0; 7,07; 5,09; 6,10 e 8,32%, respectivamente.

Unicamente a inclusão isolada da fitase teve efeitos positivos ($P < 0,001$) na digestibilidade do Ca. O FDN, sob ação isolada da MC também teve aumentada ($P < 0,001$) sua digestibilidade.

Relatos da literatura indicam a hidrólise da matriz da parede celular dos grãos pela ação das enzimas exógenas, facilitando o acesso das enzimas endógenas na digestão dos nutrientes, anteriormente, retidos na parede celular (SLOMINSKI, 2011), aumentando digestibilidade e disponibilidade dos mesmos. Por outro lado, sabe-se que os minerais e proteínas encontram-se

sob a forma de complexos insolúveis com o fitato, despavorindo a digestibilidade (COWIESON; ACAMOVIC; BEDFORD, 2004). Presume-se no presente estudo que o uso da MC e fitase favoreceram a absorção e a digestibilidade dos nutrientes, reduzindo, de modo direto ou indireto, o efeito negativo dos PNA e do fitato. Aumentou-se, por conseguinte, a digestibilidade da proteína, minerais e da energia, promovendo a eficiência na utilização desses nutrientes e possivelmente, reduzindo a excreção dos mesmos (ADEOLA; COWIESON, 2011; WILKINSON et al., 2014).

Ressalta-se, entretanto, que o tipo de processamento e granulometria do ingrediente, forma física da ração, também podem contribuir para mudanças nos coeficientes de digestibilidade (NIR et al., 1994). Assim, os resultados obtidos sugerem que a inclusão da soja integral extrusada, em função do processamento, pode ter facilitado a atuação das enzimas, visto que a extrusão promove aumento na disponibilidade dos nutrientes, facilitando a hidrólise enzimática, conforme relatado por Marsman et al. (1997). Friesen et al. (1993) trabalharam com extrusão úmida e a seco em diferentes derivados de soja e concluíram que o processo de extrusão na forma úmida (aproximadamente 30% de água no produto final) do farelo de soja, produziu um produto com qualidade superior, comparado a extrusão a seco. De acordo com os mesmos autores, a extrusão úmida permite reduzir as concentrações de inibidores de tripsina e as propriedades antigênicas dos produtos de soja, resultando na melhora da digestibilidade e diminuição do potencial de resposta imune à proteína de soja (glicinina e conglicinina).

A extrusão, em condições ótimas, propicia aumento da digestibilidade dos nutrientes e reduz a atividade biológica das proteínas antigênicas da soja, de acordo com Partridge e Gill (1993), portanto, presume-se que a proteína extrusada de soja seja mais digestível, cuja composição pode apresentar menor atividade biológica, com menor nível de agressão à mucosa intestinal. A redução do tamanho da partícula aumenta a eficiência da digestão e aproveitamento do alimento, pois facilita a ação das enzimas digestivas, aumentando a disponibilidade dos nutrientes, todavia, também pode aumentar a fluidez do conteúdo estomacal e a incidência de distúrbios digestivos (BRUNSGAARD, 1998). Fastinger e Mahan (2003) verificaram aumento na digestibilidade dos aminoácidos, quando reduziram o tamanho das partículas do farelo de soja, enquanto Lawrence et al. (2003) não observaram diferenças.

Ensaio 2: Digestibilidade ileal aparente e estandardizada dos aminoácidos

Os resultados de digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos estão apresentados nas Tabelas 25 e 26. A inclusão das enzimas influenciou ($P < 0,05$) positivamente na digestibilidade dos aminoácidos. As médias dos coeficientes de digestibilidade aparente dos dezessete (17) aminoácidos do farelo de soja, segundo os tratamentos experimentais foram: 84,46% na ausência de enzimas; 85,95% em presença da MC; 87,85% em presença da fitase e 89,01% para a combinação da MC + fitase. Enquanto as médias da digestibilidade estandardizada para os mesmos aminoácidos foram: 89,12% na ausência de enzimas; 91,19% em presença da MC; 92,02% em presença da fitase e 93,53% para a combinação da MC + fitase.

Tabela 25 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (%) dos aminoácidos (AA) da soja integral extrusada com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	87,41	89,40	90,55	91,93	0,33	0,002	<0,001	0,114
His	83,91	84,40	86,82	89,17	0,41	<0,001	<0,001	<0,001
Ile	85,91	87,71	89,14	90,85	0,36	0,010	0,002	0,805
Leu	87,83	89,90	88,96	91,08	0,24	<0,001	0,007	0,890
Lys	86,66	88,76	93,49	92,34	0,49	0,006	<0,001	<0,001
Met	86,94	87,26	90,42	91,80	0,40	<0,001	<0,001	0,003
Phe	84,27	84,60	86,78	86,75	0,27	0,447	0,012	0,355
Thr	79,02	82,58	84,09	86,36	0,50	0,009	<0,001	0,005
Val	83,91	85,12	86,79	88,88	0,37	<0,001	<0,001	0,028
AA não essenciais								
Ala	77,90	80,34	82,54	84,27	0,47	0,014	0,001	0,031
Asn	87,27	88,74	90,64	90,81	0,32	0,015	0,009	0,046
Cys	76,97	78,19	79,89	82,30	0,40	0,001	<0,001	0,015
Gln	87,06	88,97	93,13	92,40	0,45	0,010	<0,001	<0,001
Gly	83,90	87,05	86,54	89,19	0,37	<0,001	<0,001	0,198
Pro	86,71	86,64	88,35	89,93	0,28	0,082	0,001	0,001
Ser	82,26	82,95	84,03	84,98	0,22	0,134	0,056	0,346
Tyr	87,97	88,48	91,33	90,15	0,28	0,166	<0,001	0,016

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Tabela 26 – Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada (%) dos aminoácidos (AA) da soja integral extrusada com e sem suplementação de multi-carboidrase (MC) e fitase em frangos de corte aos 21 dias de idade

Item - % ¹	Fitase 0		Fitase 50		EPM ²	P-valor		
	MC 0	MC 200	MC 0	MC 200		MC	Fitase	MCxFitase
AA essenciais								
Arg	94,20	96,62	96,63	98,26	0,29	0,001	0,001	0,046
His	91,96	94,27	95,73	96,15	0,32	<0,001	<0,001	<0,001
Ile	89,24	90,19	92,62	91,81	0,27	0,697	0,022	0,003
Leu	91,81	93,60	92,66	94,78	0,22	0,002	0,027	0,248
Lys	90,30	91,98	93,99	96,69	0,47	0,123	0,003	0,009
Met	91,00	93,74	94,65	96,12	0,37	<0,001	<0,001	0,001
Phe	90,61	92,16	92,50	94,78	0,30	0,013	0,008	0,074
Thr	86,11	90,73	89,50	91,31	0,39	<0,001	0,012	0,004
Val	87,36	91,12	90,15	92,44	0,37	<0,001	0,009	0,029
AA não essenciais								
Ala	81,32	84,95	84,16	86,78	0,39	<0,001	<0,001	0,014
Asn	90,02	93,80	95,27	97,16	0,50	<0,001	<0,001	<0,001
Cys	82,36	83,85	85,89	86,70	0,34	0,024	0,002	0,057
Gln	92,66	93,13	96,53	95,78	0,33	0,346	<0,001	0,004
Gly	88,39	89,46	91,33	93,41	0,39	0,669	0,014	0,049
Pro	91,47	93,38	95,31	96,58	0,38	<0,001	<0,001	0,116
Ser	85,09	85,18	86,56	88,18	0,26	0,006	<0,001	0,002
Tyr	91,08	92,09	90,93	94,14	0,27	<0,001	0,033	<0,001

Fonte: o autor, 2016.

¹ Valores calculados com base em MS 100%.

² EPM: Erro padrão da média

Apesar dos efeitos significativos ($P < 0,05$) da inclusão isolada das enzimas na digestibilidade dos aminoácidos, o efeito foi mais pronunciado com a combinação das enzimas. Caracterizou-se o efeito da interação ($P < 0,05$) da MC e fitase na digestibilidade aparente dos aminoácidos: His, Lys, Met, Thr, Val, Ala, Asn, Cys, Gln, Pro e Tyr; e na DIE digestibilidade estandardizada de: Arg, His, Ile, Lys, Met, Thr, Val, Ala, Asn, Gln, Gly, Ser e Tyr, com indicação positiva para a Phe ($P = 0,074$) e Cys ($P = 0,057$). Com relação à dieta sem enzimas, houve melhora de 5,39% e 4,95% na digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos, respectivamente, a favor da inclusão da MC + fitase.

A provável clivagem dos PNA, devido a inclusão da MC, e a possível neutralização do fitato pela suplementação da fitase melhorou a digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos. Os acréscimos nos valores de digestibilidade ileal dos aminoácidos, proporcionados pela adição de enzimas foram atribuídos aos aumentos dos coeficientes de digestibilidade da proteína. Segundo Zanella et al. (1999), a diminuição nas necessidades de

síntese de enzimas endógenas em frangos de corte, devido à suplementação de enzimas exógenas, disponibiliza maior quantidade de aminoácidos para síntese proteica.

Sob condições ótimas, a extrusão aumenta a digestibilidade dos ingredientes e reduz a atividade biológica das proteínas antigênicas da soja (PARTRIDGE; GILL, 1993). Portanto, a proteína da soja, após processo de extrusão, torna-se mais digestível e isso se deve, em parte, pelo menor nível de agressão à mucosa intestinal das aves. Segundo Marsman et al. (1997), o adequado processo de extrusão aumenta a hidrólise das proteínas, com maior ação de enzimas digestivas.

Desse modo, a alta digestibilidade dos aminoácidos da soja integral extrusada encontrada no presente experimento sugere que o processo de extrusão foi eficaz contra os fatores antigênicos presentes no ingrediente, visto que os frangos foram eficientes no aproveitamento dos nutrientes, ainda que sob limitações do trato digestório nessa fase de desenvolvimento.

5 CONCLUSÕES

As enzimas exógenas, avaliadas neste estudo, como aditivos das rações para frangos de corte na fase inicial, aumentaram a digestibilidade da MS, PB, MM, Ca, P e FDN, bem como, a eficiência de utilização da energia e dos aminoácidos dietéticos.

Os coeficientes de digestibilidade variaram, conforme as características bromatológicas de cada ingrediente.

A suplementação da enzima na ração depende das características do ingrediente a ser utilizado, podendo-se, portanto, obter efeitos aditivos da combinação MC+ fitase, especialmente, em ingredientes com altos níveis de fibra.

Novos estudos poderão avaliar os efeitos de outras combinações enzimáticas em dietas iniciais de frangos de corte, identificando-se prováveis benefícios no aproveitamento dos nutrientes e da energia.

REFERÊNCIAS

- ADEDOKUN, S. A. Standardized ileal amino acid digestibility of plant feedstuffs in broiler chickens and turkey poults using a nitrogen-free or casein diet. **Poultry Science**, Cary, v. 87, n. 12, p. 2535-2548, 2008.
- ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non-ruminant animal production. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 89, n. 10, p. 3189-3218, 2011.
- AHMED, A. et al. Extrusion enhances metabolizable energy and ileal amino acids digestibility of canola meal for broiler chickens. **Italian Journal of Animal Science**, Italy, v. 13, n. 1, p. 43-47, 2014.
- ALAGAWANY, M. et al. The Practical Application of Sunflower Meal in Poultry Nutrition. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, Pakistan, v. 3, n. 12, p. 634-648, 2015.
- ANNISON, G.; CHOCT, M. Anti-nutritive activities of cereal non-starch polysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects. **World's Poultry Science Journal**, London, v. 47, n. 3, p. 232-242, 1991.
- ARABA, M.; DALE, N. M. Evaluation of protein solubility as an indicator of over processing soybean meal. **Poultry Science**, Cary, v. 69, n. 1, p. 76-83, 1990.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **A avicultura brasileira, 2015**. Disponível em: http://www.ubabef.com.br/a_avicultura_brasileira/historia_da_avicultura_no_brasil. Acesso em: 10 Mar. 2016.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS FABRICANTES DE RAÇÕES (ANFAR). **Métodos analíticos de controle de alimentos para uso animal**. São Paulo: ANFAR, 1992. p. 1-2.
- ASSOCIAÇÃO OFICIAL DE QUÍMICOS ANALÍTICOS (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC international**. 18th ed Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists, 2005.
- BACH-KNUDSEN, K. E. Carbohydrates and lignin contents of plant materials used in animal dieting. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 67, n. 4, p. 319-338, 1997.

BATAL, A. B.; PARSONS, C. M. Effects of age on nutrient digestibility in chicks fed different diets. **Poultry Science**, Cary, v. 81, n. 3, p. 400-407, 2002.

BEAUGRAND, J. GUILLON, F.; DEBEIRE, P.; REIS, D.; CHABBERT, B. Xylanase-mediated hydrolysis of wheat bran: evidence for subcellular heterogeneity of cell walls. **International Journal Plant Science**, Chicago, v. 165, n. 4, p. 553-563, 2004.

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

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.

BELLAVER, C.; SNIZEK JUNIOR, P. N. Processamento da soja e suas implicações na alimentação de suínos e aves. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999, Londrina, PR. **Anais...** Londrina, PR: EMBRAPA, 1999. p. 183-199.

BHAT, M. K.; HAZLEWOOD, G. P. Enzymology and other characteristics of cellulases and xylanases, In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G (Ed.). **Enzymes in farm animal nutrition**, Wallingford: CABI Publishing, 2011. p. 11-60.

BOLLING, S. D.; DOUGLAS, M. W.; JOHNSON, M. L.; WANG, X.; PARSONS, C. M.; KOELKEBECK, K. M.; ZIMMERMAN, R. A.. The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens. **Poultry Science**, Cary, v.79, n. 2, p. 224-230, 2000.

BORGES, F. M. O.; ROSTAGNO, H. S.; SAAD, C. E. P.; LARA, L. B.; TEIXEIRA, E A. Efeito do nível de ingestão sobre a digestibilidade dos aminoácidos em frangos de corte. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 29, n. 2, p. 444-452, 2005.

BRUNSGAARD, G. Effects of cereal type and dieta particle size on morphological characteristics, epithelial cell proliferation, and lectin binding patterns in the large intestine of pigs. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 76, n. 11, p. 2787-2798, 1998.

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

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

CARVALHO, A. A.; ZANELLA, I.; LEHNEN, C. R.; ANDRETTA, I.; LANFERDINI, E.; HAUSCHILD, L.; LOVATTO, P. A. Digestibilidade aparente de dietas e metabolismo de frangos de corte alimentados com dietas contendo soja integral processada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 477-483, 2008.

CARVALHO, P. C. F.; ANGHINONI, I.; MORAES, A. de; SOUZA, E. D. de; SULC, R. M.; LANG, C. R.; FLORES, J. P. C.; LOPES, M. L. T.; SILVA, J. L. S. da; CONTE, O.; WESP, C. L.; LEVIEN, R.; FONTANELI, R. S.; BAYER, C. Managing grazing animals to achieve nutrient cycling and soil improvement in no-till integrated systems. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Netherlands, v. 88, n. 1, p. 259-273, 2010.

CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides: chemical structures and nutritional significance. **Feed Milling International**, Rickmansworth v. 191, n. 1, p. 13-26, 1997.

CHOCT, M.; KOCHER, A.; WATERS, D. L.; PETTERSSON, D.; ROSS, G. A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. **British Poultry Science**, London, v. 92, n. 1, p. 53-61, 2004.

COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Carbohydrases, protease, and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. **Poultry Science**, Cary, v. 84, n. 12, p. 1860-1867, 2005.

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.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. **British Poultry Science**, London, v. 45, n. 1, p. 101-108, 2004.

COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science**, Cary, v. 85, n. 5, p. 878-885, 2006.

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

DE BOLAND, A. R.; GARNER, G. B.; O'DELL, B. L. Identification and properties of 'phytate' in cereal grains and oilseed products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 23, n. 6, p. 1186-1189, 1975.

DESHPANDE, S. S.; DAMODARAN, S. Effect of phytate on solubility, activity and conformation of trypsin and chymotrypsin. **Journal Food Science**, China, v. 54, n. 3, p. 695-699, 1989.

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**, Los Angeles, v. 59, n. 2, 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**, Chicago, v. 67, n. 9, p. 3484-3488, 2002.

EMIOLA, I. A.; OPAPEJU, F. O.; SLOMINSKI, B. A.; NYACHOTI, C. M. 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**, Albany, v. 87, n. 1, p. 2315-2322, 2009.

FAFIOLU, A. O.; ODUGUWA, O. O.; ADEBAYO, J.; ALABI, J. Assessment of enzyme supplementation on growth performance and apparent nutrient digestibility in diets containing undecorticated sunflower seed meal in layer chicks. **Poultry Science**, Cary, v. 84, n. 8, p. 1917-1922, 2015.

FARIA FILHO, D. E.; SAKOMURA, N. K.; JUNQUEIRA, O. M.; JACOB, D. V.; ANGELO, J. C. Utilização de trigo em ou moído em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 3, n. 2, p. 173-180, 2001.

FASTINGER, N. D.; MAHAN, D. C. Effect of soybean meal particle size on amino acid and energy digestibility in grower-finisher swine. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 81, n. 1, p. 697-704, 2003.

FARRELL, D. J.; MARTIN, E. A. Strategies to improve the nutritive value of rice bran in poultry diets. III. The addition of inorganic phosphorus and a phytase to duck diets. **British Poultry Science**, London, v. 39, n. 5, p. 601-661, 1998.

FINCHER, G. B.; STONE, B. A. Chemistry of non-starch polysaccharides, In: WRIGLEY, C.; CORKE, H.; WALKER, C. E (Ed.). **Encyclopedia of grain science**. 2 ed. Oxford: Elsevier, 2004. p. 206-223.

FREITAS, E. R.; SAKOMURA, N. K.; EZEQUIEL, J. M. B. Energia metabolizável de alimentos na formulação de ração para frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 1, p. 107-115, 2006.

FRIESEN, K. G.; NELSEN, J. L.; GOODBAND, R. D.; BEHNKE, K. C.; KATS, L. J. The effect of moist extrusion of soy products on growth performance and nutrient utilization in the early-weaned pig. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 71, n. 8, p. 2099-2109, 1993.

GIDLEY, M. J.; PLUSCHKE, A. M.; SOPADE, P. A.; AL-RABADI, G. J. S.; SULTAN, A.; GAN, C. Y.; LI, X.; ZHANG, D.; BRYDEN, W. L. Sorghum grain starch digestibility: effects of particle size and enzyme treatment. In: ANNUAL AUSTRALIAN POULTRY SCIENCE SYMPOSIUM, 22., 2011, Sydney. **Proceedings....** Sydney: APPS, 2011. p. 139-146

GODOY, S.; CHICCO, C.; MESCHY, F.; REQUENA, F. Phytic phosphorus and phytase activity of animal feed ingredients. **Interciencia**, Caracas, v. 30, n. 1, p. 24-28, 2005.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. **Forage fiber analysis** (Apparatus, reagents, procedures and some applications). Washington, DC: USDA, 1970. (Agricultural Handbook, 379).

HEARD, P. J.; FEENEY, K. A.; ALLEN, G. C.; SHEWRY, R. P. Determination of the elemental composition of mature wheat grain using a modified secondary ion mass spectrometer (SIMS). **Plant. Journal**, United Kingdom, v. 30, n. 2, p. 237-245, 2001.

JOZEFIAK, D.; PTAK, A.; KACZMAREK, S.; MACKOWIAK, P.; SASSEK, M.; SLOMINSKI, B. A. Multi-carbohydrase and phytase supplementation improves growth performance and liver insulin receptor sensitivity in broiler chickens fed diets containing full-fat rapeseed. **Poultry Science**, Cary, v. 89, n. 9, p. 1939-1946, 2010.

JUANPERE, J.; PÉREZ-VENDRELL, A. M.; ANGULO, E.; BRUFAU, J. Assessment of potential interaction between phytase and glycosidase enzyme supplementation on nutrient digestibility in broilers. **Poultry Science**, Cary, v. 84, n. 4, p. 571-580, 2005.

KOCHER, A.; CHOCT, M.; PORTER, M. D.; BROZ, J. The effects of enzyme addition to broiler diets containing high concentrations of canola or sunflower meal. **Poultry Science**, Cary, v. 79, n. 12, p. 1767-1774, 2000.

KORNEGAY, E. T. Digestion of phosphorus and other nutrients: The role of phytase and factors influencing their activity. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G (Ed.). **Enzymes in farm animal nutrition**. Wallingford: CABI Publishing, 2001. p. 237-272.

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

LAWRENCE, K. R.; HASTAD, C. W.; GOODBAND, R. D.; TOKACH, M. D.; NELSEN, J. L.; DeROUCHEY, J. M.; WEBSTER, M. J. Effects of soybean meal particle size on growth performance of nursery pigs. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 81, n. 9, p. 2118-2122. 2003.

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**, Amsterdam, v. 181, n. 1-4, p. 1- 14, 2013.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZÁLES, E. Produção frangos de corte. In:____. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP/FAPESP, 2002. p. 375.

MAENZ, D. D. Enzymatic characteristics of phytases as they relate to their use in animal feeds In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. (Ed.). **Enzymes in farm animal nutrition**. Wallingford: CABI Publishing, 2001. p. 406-436.

MANDAL, A. B.; ELANGO VAN, A. V.; TYAGI, P. K.; JOHRI, A. K.; KAUR, S. Effect of enzyme supplementation on the metabolisable energy content of solvent-extracted rapeseed and sunflower seed meals for chicken, guinea fowl and quail. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 46, n. 1, p. 75-79, 2005.

MARSMAN, G. J. P.; GRUPPEN, H.; VAN DER POEL, A. F.; KWAKKEL, R. P.; VERSTEGEN, M. W.; VORAGEN, A. G. The effect of thermal processing and enzyme treatments of soybean meal on growth performance, ileal nutrient digestibilities, and chyme characteristics in broiler chicks. **Poultry Science**, Cary, v.76, n. 6, p. 864-872, 1997.

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

MENDES, W. S.; SILVA, I. J.; FONTES, D. O.; RODRIGUEZ, N. M.; MARINHO, P. C.; SILVA, F. O.; AROUCA, C. L. C.; SILVA, F. C. O. Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 2, p. 207-213, 2004.

MENG, X.; SLOMINSKI, B. A.; NYACHOTI, C. M.; CAMPBELL, L. D.; GUENTER, W. Degradation of cell wall polysaccharides by combinations of carbohydrase enzymes and their

on nutrient utilization and broiler chicken performance. **Poultry Science**, Cary, v. 84, n. 1, p. 37-47, 2005.

MENG, X.; SLOMINSKI, B. A.; CAMPBELL, L. D.; GUENTER, W.; JONES, O. The use of enzyme technology for improved energy utilization from full-fat oilseeds. Part I: canola seed. **Poultry Science**, v. 85, n. 6, p.1025-1030, 2006.

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**, Cary, v. 84, n. 8, p. 1242-1251, 2005.

MONSMA, D. J.; VOLLENDORF, N. W.; MARLETT, J. A. Determination of fermentable carbohydrates from the upper gastrointestinal tract by using colectomized rats. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 58, n. 10, p. 3330-3336, 1992.

NAMKUNG, H.; LEESON, S. Effect of phytase enzyme on dietary nitrogen-corrected apparent metabolizable energy and the ileal digestibility of nitrogen and amino acids in broiler chicks. **Poultry Science**, Cary, v. 78, n. 9, p. 1317-1319, 1999.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient Requirements of Swine**. Washington: D.C: Eleventh Revised Edition, The National Academies Press, 2012. 400 p.

NIAN, F.; GUO, Y. M.; RU, Y. J.; LI, F. D.; PÉRON, A. Effect of exogenous xylanase supplementation on the performance, net energy and gut microflora of broiler chickens fed wheat-based diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Korea, v. 24, n. 3, p. 400-406, 2011.

NIR, I.; HILLEL, R.; SHEFET, G.; NITSAN, Z. Effect of grain particle size performance. 2. Grain texture interactions. **Poultry Science**, Cary, v. 73, n. 6, p. 781-791, 1994.

NITRAYOVÁ, S.; HEGER, J.; PATRÁS, P.; KLUGE, H.; BROZ, J. Effect of xylanase on apparent ileal and total tract digestibility of nutrients and energy of rye in young pigs. **Archives of animal nutrition**, Bethesda, v. 63, n. 4, p. 281-291, 2009.

NITSAN, Z.; BEN-AVRAHAM, G.; ZOREF, Z.; NIR, I. Growth and development of digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **British Poultry Science**, London, v. 32, n. 3, p. 515-523, 1991.

NOBLET, J.; FORTUNE, H.; SHI, X. S.; DUBOIS, S. Prediction of net energy value of feeds for growing pigs. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 72, n. 2, p. 344-354, 1994.

NORTEY, T. N.; PATIENCE, J. F.; SANDS, J. S.; TROTTIER, N. L.; ZIJLSTRA, R. T. Effects of xylanase supplementation on the apparent digestibility and digestible content of energy, amino acids, phosphorus, and calcium in wheat and wheat by-products from dry milling fed to grower swine. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 86, n. 12, p. 3450-3464, 2008.

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**, Albany, v. 75, n. 12, p. 3206-3213, 1997.

OLIVEIRA, M. C.; CANCHERINI, L. C.; GRAVENA, R. A.; RIZZO, P. V.; MORAES, V. M. B. de. Utilização de nutrientes de dietas contendo mananoligossacarídeo e/ou complexo enzimático para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 4, p. 825-831, 2007.

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**, Cary, v. 86, n. 1, p. 77-86, 2007.

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**, London, v. 99, n. 3, 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**, Albany, v. 82, n. 4, p. 1053-1061, 2004.

OPALINSKI, M.; MAIORKA, A.; CUNHA, F. da; ROCHA, C. de; BORGES, A. M. Adição de complexo enzimático e da granulometria da soja integral desativada sobre o desempenho de frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 3, p. 628-632, 2010.

PARTRIDGE, G. G.; GILL, B. P. New approaches with pig weaned diets. In: GARNSWORTHY, P. C.; COLE, D. J. A. (Ed.) **Recent advances in animal nutrition**. Nottingham: University Press, 1993. p. 221-248.

PINHEIRO, J. W.; FONSECA, N. A. N.; SILVA, C. A. DA; CABRERA, L.; BRUNELI, F. A. T.; SABRINA ENDO TAKAHASHI, S. E. Farelo de girassol na alimentação de frangos de corte em diferentes fases de desenvolvimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 1418-1425, 2002.

POURREZA, J.; CLASSEN, L. H. Effects of supplemental phytase and xylanase on phytate phosphorus degradation, ileal protein and energy digestibility of a corn-soybean-wheat bran diets in broiler chicks. **Journal of Agricultural Science and Technology**, Tehran, v. 3, n. 1, p. 19-25, 2001.

RAVINDRAN, V. Feed enzymes: the science, practice, and metabolic realities. **Journal Applicate Poultry Research**, United Kingdom, v. 22, n. 3, p. 628-636, 2013.

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**, Cary, v. 78, n. 11, p. 1588-1595, 1999.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F. de; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2011. 252 p.

RUTHERFURD, S. M.; CHUNG, T. K.; MOUGHAN, P. J. The effect of microbial phytase on ileal phosphorus and amino acid digestibility in the broiler chicken. **British Poultry Science**, London, v. 43, n. 4, p. 598-606, 2002.

SALANOVA, M. S. The use of enzymes to improve the nutritional value of corn-soy diets for poultry and swine, In: SIMPOSIO LATINO-AMERICANO DE NUTRIÇÃO DE SUINOS E AVES, 1996, Campinas. **Proceedings...** Campinas: CBNA, 1996. p. 13-14.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R.; LAGUE, P. C. The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper and zinc in broiler chickens fed corn-soybean diets. **Poultry Science**, Cary, v. 75, n. 6, p. 729-736, 1996.

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

SELLE, P. H.; COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**, Canada, v. 124, n. 1-3, p. 126-141, 2009.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V.; RAVINDRAN, G.; PITTOLO, P. H.; BRYDEN, W. L. Influence of phytase and xylanase supplementation on growth performance and nutrient utilization of broilers offered wheat-based diets. **Asian-Australian Journal Animal Science**, Australia, v. 16, n. 3, p. 394-402, 2003.

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**, Cary, v. 42, n. 1, p. 313-325, 1963.

SLOMINSKI, B. A. Recent Advances in research on enzymes for poultry diets. **Poultry Science**, Cary, v. 90, n. 9, p. 2013-2023, 2011.

SORENSEN, P. "Sunflower + enzymes = soybeans? New roles for arabinases, pectinases, and xylanases". **Feed International**, Rockford, v. 17, n. 12, p. 24-28, 1996.

SORREL, E. R.; SHURSON, G. C. Use of canola and canola meal in swine diets reviewed. **Feedstuffs**, Minneapolis, v. 62, n. 14, p. 513-516, 1992.

SREDANOVIC SLAVICA, A.; LEVIC JOVANKA, D.; JOVANOVIC RADE, D.; DJURAGIC OLIVEIRA, M. The nutritive value of poultry diets containing sunflower meal supplemented by enzymes. **Acta Periodica Technologica**, Serbia, v. 2012, n. 43, p. 79-91, 2012.

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

STEIN, H. H.; SÈVE, B.; FULLER, M. F.; MOUGHAN, P. J.; DE LANGE, C. F. M. Amino acid bioavailability and digestibility in pig fed ingredients: terminology and application. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 85, n. 1, p. 172-180, 2007.

STRADA, E. S. O.; ABREU, R. D.; OLIVEIRA, G. J. C. de; COSTA, M C. M. da; CARVALHO, G. J. L. de; FRANCA, A. S.; CLARTON, L.; AZEVEDO, J. L. M. de. Uso de enzimas na alimentação de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa v. 34, n. 6, p. 2369-2375, 2005.

SULTAN, A.; GAN, C.; LI, X.; ZHANG, D.; BRYDEN, W. L. Dietary enzyme combinations improve sorghum ileal protein and starch digestibility during the broiler starter phase. In: ANNUAL AUSTRALIAN POULTRY SCIENCE SYMPOSIUM, 22., 2011, Sydney, AUS. **Anais...** Sydney, AUS, 2011. p. 82.

TAVERNARI, F. C.; MORATA, R. L.; RIBEIRO JÚNIOR, V.; ALBINO, L. F. T.; DUTRA JÚNIOR, W. M.; ROSTAGNO, H. S. Avaliação nutricional e energética do farelo de girassol para aves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 1, p. 172-177, 2010.

TRINDADE NETO, M. A. da; BARBOSA, H. P.; PETELINCAR, I. M.; SCHAMMASS, E. A. Dietas para leitões nas fases de creche e diferentes idades ao desmame. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 672-680, 2002.

WAYNE, L. B.; XIUHUA, L. I. Amino acid digestibility and poultry feed formulation: expression, limitations and application. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 1, p. 279-287, 2010.

WILKINSON, S. J.; BRADBURY, E. J.; BEDFORD, M. R.; COWIESON, A. J. Effect of dietary nonphytate phosphorus and calcium concentration on calcium appetite of broiler chicks. **Poultry Science**, Cary, v. 93, n. 7, p. 1695-1703, 2014.

WOYENGO, T. A.; NYACHOTI, C. M. Review: Supplementation of phytase and carbohydrases to diets for poultry. **Canadian Journal of Animal Science**, Canada, v. 91, n. 1, p. 177-192, 2011.

WU, Y. B.; RAVINDRAN, V.; THOMAS, D. G.; BIRTLES, M. J.; HENDRIKS, W. H. Influence of phytase and xylanase, individually or in combination, on performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology in broilers fed wheat-based diets containing adequate level of phosphorus. **British Poultry Science**, London, v. 45, n. 1, p. 76-84, 2004.

ZANELLA, I.; SAKOMURA, N. K.; SILVERSIDES, F. G.; FIGUEIRDO, A.; PACK, M. supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. **Poultry Science**, Cary, v.78, n. 4, p. 561-568, 1999.