

DIEGO LADEIRA DA SILVA

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS NO
VALOR NUTRICIONAL DO FARELO DE SOJA PARA FRANGOS DE
CORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016**

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

S586i
2016

Silva, Diego Ladeira da, 1987-

Influência da suplementação de enzimas exógenas no valor
nutricional do farelo de soja para frangos de corte / Diego
Ladeira da Silva. – Viçosa, MG, 2016.
ix, 47f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Luiz Fernando Teixeira Albino.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Frango de corte - Alimentação e rações. 2. Nutrição
animal. 3. Enzimas na nutrição animal. 4. Soja como farelo.
5. Digestão. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento
de Zootecnia. Programa de Pós-graduação em Zootecnia.
II. Título.

CDD 22. ed. 636.50852

DIEGO LADEIRA DA SILVA

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS NO
VALOR NUTRICIONAL DO FARELO DE SOJA PARA FRANGOS DE
CORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 18 de fevereiro de 2016.

Horacio Santiago Rostagno
(Coorientador)

Melissa Izabel Hannas
(Coorientadora)

Carlos Henrique de Figueiredo Vasconcellos

Luiz Fernando Teixeira Albino
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade de aprendizado.

À Universidade Federal de Viçosa - UFV, especialmente ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade e conhecimentos adquiridos;

Ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico que, com a concessão da bolsa de mestrado, possibilitou a concretização desse meu objetivo;

A empresa DSM Nutricional Products por todo apoio nos experimentos.

Ao meu Orientador desde a iniciação científica, professor Luiz Fernando Teixeira Albino, por todas as oportunidades que me foram dadas.

Ao Professor Horácio Santiago Rostagno por estar sempre disposto a ajudar. E também a professora Melissa Izabel Hannas disposta a ajudar quando preciso.

Aos funcionários do Aviário da UFV, Adriano, Elísio, Tiãozinho, Zé Lino, Carlos e ao Mauro Godoi responsável pela fábrica de rações pelo apoio, amizade e convívio agradável durante o desenvolvimento prático desse trabalho;

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal, Mário e Fernando pelos ensinamentos e colaboração nas análises laboratoriais e pelo convívio agradável;

A minha família minha mãe Sônia, meu pai Nelson, minha irmã Ana Clarisse, minha namorada Ariana, meus avós e avôs, meus tios, minhas tias, primos e primas pelo apoio e confiança prestadas.

Aos colegas e companheiros de trabalho Bruno Carvalho, Bruno Damaceno, Bruna, Dandara, Gabriel, Jorge, Hélivio, Leandro, Luana, Maurilio, Matheus Santana, Miliane, Neto, Rodolfo, Rodrigo, Rosana, Sandra, Valdir, Victor, Vinicius, pela convivência, amizade e contribuições; A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para que eu pudesse concretizar este trabalho.

BIOGRAFIA

DIEGO LADEIRA DA SILVA, filho de Sônia Aparecida Ladeira da Silva e Nelson Juliano da Silva, nasceu em Coimbra – MG, em 19 de maio de 1987.

Em 2009, ingressou no curso de Zootecnia, da Universidade Federal de Viçosa, colando grau em 14 de março de 2014.

Em março de 2014, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia, da Universidade Federal de Viçosa – MG, na área de Nutrição e Alimentação de Monogástricos, submetendo-se a defesa de dissertação em 18 de fevereiro de 201

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	V
RESUMO	VI
ABSTRACT	VIII
REVISÃO DE LITERATURA	1
Enzimas na nutrição de monogástrico	1
Fitase	2
Carboidrase	5
Protease	7
REFERÊNCIAS	9
VALORES ENERGETICOS E AMINOÁCIDOS DIGESTIVEIS DE FARELOS DE SOJA SUPLEMENTADOS COM ENZIMAS EXÓGENAS	12
RESUMO	13
ABSTRACT	14
INTRODUÇÃO	15
MATERIAIS E METODOS	17
RESULTADOS	24
DISCUSSÃO	32
CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35
AVALIAÇÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS EM DIETAS FORMULADAS COM DOIS DIFERENTES FARELOS DE SOJA PARA FRANGOS DE CORTE	38
RESUMO	39
ABSTRACT	39
INTRODUÇÃO	40
MATERIAL E METODOS	41
RESULTADOS	44
DISCUSSÃO	46
CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tratamentos experimentais para determinação de energia metabolizável. 18	
Tabela 2. Composição da ração referência utilizada no ensaio metabólico, em percentagem da matéria natural.19	
Tabela 3. Tratamentos experimentais para determinação dos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos.21	
Tabela 4. Composição das dietas experimentais utilizada no ensaio de digestibilidade, em percentagem da matéria natural.22	
Tabela 5. Composição analisada dos nutrientes do farelo de soja MG e do farelo de soja RS na matéria natural.24	
Tabela 6. Média dos valores de energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida por nitrogênio (EMAn) na matéria seca (MS) e retenção de nitrogênio.25	
Tabela 7. Retenção de nitrogênio. Efeito da interação entre os farelos de soja e as enzimas.26	
Tabela 8. Coeficientes de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos em dois farelos de soja sem enzima e com adição das enzimas Prot1, Prot 2, VP e Proact para frangos de corte.27	
Tabela 9. Coeficientes de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos em dois farelos de soja sem enzima e com adição das enzimas Prot1, Prot 2, VP e Proact para frangos de corte.28	
Tabela 10. Coeficientes de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos em dois farelos de soja sem enzima e com adição das enzimas Prot1, Prot 2, VP e Proact para frangos de corte.29	
Tabela 11. Coeficientes de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos em dois farelos de soja sem enzima e com adição das enzimas Prot1, Prot 2, VP e Proact para frangos de corte. Efeito da interação entre os farelos de soja e as enzimas.30	
Tabela 12. Coeficientes de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos em dois farelos de soja sem enzima e com adição das enzimas Prot1, Prot 2, VP e Proact para frangos de corte. Efeito da interação entre os farelos de soja e as enzimas.31	
Tabela 13. Descrição dos tratamentos experimentais.42	
Tabela 14. Composição centesimal das dietas.43	
Tabela 15. Médias dos tratamentos para as variáveis respostas avaliadas Consumo (Kg), Ganho de peso (g), Conversão alimentar (Kg/Kg) e Índice de eficiência produtiva (IEP).45	

RESUMO

SILVA, Diego Ladeira da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2016. **Influência da suplementação de enzimas exógenas no valor nutricional do farelo de soja para frangos de corte.** Orientador: Luiz Fernando Teixeira Albino. Coorientadores: Horacio Santiago Rostagno e Melissa Izabel Hannas.

O objetivo com este trabalho foi avaliar o efeito da inclusão de enzimas exógenas em dois farelos de soja provenientes de diferentes regiões (Minas Gerais – MG e Rio Grande do Sul – RS) no desempenho de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade e na determinação dos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos e nos valores de energia metabolizável corrigido pelo balanço de nitrogênio em frangos de corte. Foram realizados três experimentos no setor de avicultura da Universidade Federal de Viçosa. Os dois primeiros experimentos foram realizados para determinar os coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos (CDAA) e os valores de energia metabolizável (EM). Para determinação dos valores de EM utilizou-se a coleta total de excretas com frangos de corte. Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com 11 tratamentos, 8 repetições e 6 aves por unidade experimental totalizando 528 aves da linhagem Cobb 500 de 14 a 24 dias de idade. Foram avaliados dois farelos de soja (MG e RS) suplementados ou não com as enzimas Prot1, Prot 2, VP e Proact formando um arranjo fatorial $5 \times 2 + 1$ tratamento referencia). Para determinação dos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos (CDAA) utilizou-se a coleta ileal de digesta com frangos de corte. Utilizou-se o mesmo delineamento experimental e os mesmos tratamentos do ensaio anterior. Um grupo de aves (Tratamento 11) foi alimentado com uma dieta isenta de proteína (DIP), de modo a determinar a excreção de aminoácidos endógenos. O farelo de soja de origem de MG teve valor maior ($p < 0,05$) de energia metabolizável aparente (EMA) e de energia metabolizável aparente corrigida por balanço de nitrogênio (EMAn) com valores de 3188 Kca/Kg e 2700 Kcal/Kg na matéria seca respectivamente. A enzima Proact proporcionou maior retenção de nitrogênio ($p < 0,05$) quando adicionada no farelo de soja proveniente do RS com 62,52% de retenção de nitrogênio. De forma geral o farelo de soja de MG suplementado com a enzima Proact proporcionou os melhores coeficientes de digestibilidade ($p < 0,05$). Além de a enzima Proact melhorar a homogeneidade dos coeficientes de digestibilidade entre os farelos de soja. A carboidrase VP foi a enzima depois da protease Proact que obteve melhores ($p < 0,05$) CDAA. Entretanto as proteases Prot 1

e Prot 2 não promoveram melhoras significativas ($p < 0,05$) nos CDAA. O terceiro ensaio foi realizado para avaliar o desempenho das aves onde foram utilizados 1920 pintos machos da linhagem Cobb 500 de 1 a 21 dias de idade das aves. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 12 tratamentos e 8 repetições de 20 aves por unidade experimental. Os tratamentos se constituirão de dois diferentes farelos de soja suplementados ou não com as enzimas Prot1, Prot 2, VP e Proact mais um controle positivo para cada farelo de soja formando um fatorial $5 \times 2 + 2$. O farelo de soja oriundo do RS promoveu melhores resultados nas variáveis de desempenho estudadas ($p < 0,05$). As aves, submetidas aos tratamentos sem enzima ou com suplementação das enzimas Prot1, Prot2, VP e Proact tiveram desempenhos semelhantes, independentes do tipo de farelo de soja.

ABSTRACT

SILVA, Diego Ladeira da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2016. **Influence of the supplementation of exogenous enzymes in the nutritional value of soybean meal for broilers.** Advisor: Luiz Fernando Teixeira Albino. Co-Advisors: Horacio Santiago Rostagno and Melissa Izabel Hannas.

The objective of this study was to evaluate the effect of inclusion of exogenous enzymes in two soybean meals from different regions (Minas Gerais - MG and Rio Grande do Sul - RS) on performance of broilers from 1 to 21 days old, on amino acid digestibility, and nitrogen-corrected metabolizable energy values in broilers. Three trials were conducted at the poultry farm of the Animal Science Department of the National Federal University of Viçosa. The first two experiments were conducted to determine the amino acid digestibility coefficients (AADC) and metabolizable energy (ME). To determine ME values, the total collection method with broilers was used. The animals were distributed in a completely randomized design into 11 treatments, with 8 replicates and 6 birds each, totaling 528 Cobb 500 broilers from 14 to 24 days old, for evaluating a soybean meal (SBM) from the Rio Grande do Sul (RS), and another one from Minas Gerais (MG) supplemented or not with enzymes: Prot1, Prot 2, VP and Proact, forming a 5x2 factorial arrangement (5 enzymes x 2 SBM + 1 control). To determine the AADC, the ileum-collected digesta method was used; and the same experimental design, and the same treatments of the previous test. One group of birds (treatment 11) was fed with a protein-free diet (PFD) in order to determine the endogenous amino acid excretion. The MG soybean meal had higher values ($p < 0.05$) of apparent metabolizable energy (AME) and apparent nitrogen-corrected metabolizable energy (AMEn), with values of 3188 Kcal/kg and 2700 kcal/kg of DM, respectively. The Proact enzyme had the highest proportion of N retention ($p < 0.05$), when added to the SBM from the RS, with 62.52% of N retention. Generally, the Proact-supplemented SBM from MG gave the higher digestibility coefficients ($p < 0.05$). Additionally, the Proact enzyme improved the homogeneity of the digestibility coefficients between the soybean meals evaluated. The VP (carbohydrase) gave, after Proact (protease), higher ($p < 0.05$) AADC. However, Prot1 and Prot2 did not promote improvements ($p < 0.05$) on AADC. The third trial was carried out to evaluate the performance of the birds, which were used 1920 Cobb 500 male chicks from 1 to 21 days of age. Birds were distributed according to a randomized block design into 12 treatments, with 8 repetitions of 20 birds each. The

treatments consisted of two different SBM with 5 enzymes, plus one positive control (PC) for each SBM, forming a $5 \times 2 + 2$ factorial arrangement. Soybean meal from RS promoted better results in performance variables ($p < 0.05$). Treatments added or not with enzyme did no influence ($p > 0.05$) on performance variables.

REVISÃO DE LITERATURA

Enzimas na nutrição de monogástrico

As enzimas utilizadas na alimentação animal são produzidas industrialmente por laboratório especializados, por meio da seleção de cultura de microrganismos favoráveis, cultivados por meio de fermentações avançadas, de onde é feita a extração e purificação das enzimas. Os microrganismos que, geralmente são envolvidos na produção de enzimas são as bactérias *Bacillus subtilis*, *Bacillus lentus*, *Bacillus amyloliquifaciens* e *Bacillus stearothermophilise* os fungos *Trichoderma longibrachiatum*, *Aspergillus oryzae* e *Aspergillus nigere* a levedura *S.cerevisiae*. (Khattak et al., 2006).

No mercado atual, estão disponíveis diversos tipos de enzimas como as fitases, amilases, proteases, lipases, xilanases, glucanases e outras, com a maior parte delas apresentando atividades diferentes e maior especificidades a um único substrato. Os produtos enzimáticos que contêm mais de uma atividade são chamados de complexos onde são originados a partir de um único microrganismo, ou misturas de enzimas monocomponentes chamadas *blends* que são obtidas a partir de diferentes microrganismos.

O fato de as enzimas serem específicas em suas reações determina que os produtos que tenham só uma enzima sejam insuficientes para que se consiga o máxima de benefício, sugerindo que misturas de enzimas sejam mais eficientes para um aproveitamento dos nutrientes da dieta (Tejedor et al 2001). Recentemente estudos mostram que as adições de misturas de enzimas trazem melhores resultados, pois uma enzima degrada certo nutriente e facilita para outra enzima agir sobre o produto gerado, podendo ser essa enzima exógena vinda do complexo enzimático ou até mesmo uma enzima endógena.

Os suínos apresentam problemas digestíveis, mesmo sendo a maior parte da sua dieta a base de milho e de farelo de soja. Esses alimentos apresentam em média, 10,3% e 19,1% de polissacarídeos não amiláceos em sua estrutura, especialmente na parede celular (Classen, 1996; Knudsen, 1997). Estas substâncias possuem celulose, hemicelulose e pectina em sua composição, as quais só são disponibilizadas através

de fermentação de bactérias no intestino grosso ou pela adição de enzimas específicas na dieta (celulase e pectinase). A presença destes polissacarídeos (especialmente a celulose) no intestino dos animais tem um efeito inibitório sobre a lipase e protease pancreática, prejudicando ainda mais a digestibilidade da dieta (ALMIRALL et al, 1995). Aliados a esses problemas citados acima, na fase de desmama dos suínos mais alguns problemas, pois a dieta lactante de um leitão é composta basicamente de leite, o qual apresenta 96% de digestibilidade e em média 4,51% de lactose (MARTINZ et al., 2007). Isso faz com que a atividade enzimática de outras enzimas, com lipase, maltase, amilase e protease seja menor. Dessa forma o momento do desmame é responsável por um grande estresse para o animal, pois além das alterações ambientais, e a imaturidade intestinal potencializam o efeito das alterações nutricionais (XU et al., 2011). Dessa forma, outras enzimas podem ser consideradas com o intuito de diminuir esse estresse.

Nas aves, o baixo pH do pro ventrículo podem levar a inativações enzimáticas. No entanto, o trânsito nesses compartimentos é relativamente rápido e não chega a causar a desnaturação das enzimas. As aves são as espécies que mais parecem beneficiar do uso de enzimas exógenas, talvez por possuírem um sistema digestivo muito curto que não lhes permite um tempo suficiente de digestão, contrariamente ao que acontece com os suínos (Mavromichalis, 2012). Vários estudos têm demonstrado que as enzimas que hidrolisam os polissacarídeos não amiláceos são capazes de aumentar a utilização dos nutrientes pelas aves, uma vez que eliminam o efeito de encapsulamento provocado pelas paredes celulares vegetais e diminuem a viscosidade dos conteúdos digestivos (Slomninski, 2011).

Fitase

Os alimentos de origem vegetal utilizados nas rações apresentam em sua estrutura, fatores antinutricionais para os animais monogástricos, como o fitato. Ácido fítico, mio-inositol, mio-inositolhexafosfato e fitina, são sinônimos deste mesmo composto antinutricional. O ácido fítico ocorre naturalmente em complexos orgânicos de plantas.

No milho o fitato é encontrado principalmente no gérmen. Já nas leguminosas acumula-se nos cotilédones. E na soja, particularmente, encontram associados a corpos proteicos distribuídos por toda semente (BAKER, 1991).

O fitato encontra-se complexados com alguns minerais essenciais, tais como, fósforo, cálcio, zinco, cobre, ferro e magnésio, além de certos aminoácidos, energia (MAENZ, 2001).

Isso resulta na formação de complexos insolúveis que se unem com enzimas digestivas, como pepsina, tripsina e alfa amilase além de proteínas dietéticas, o que reduz a solubilidade e digestibilidade da dieta, pela complexação do ácido fítico com essas substâncias (SEBASTIAN, et al., 1996).

O ácido fítico pode formar uma ampla variedade de sais insolúveis com cátions di e trivalentes, tais como cálcio, zinco, cobre, cobalto, manganês, ferro e magnésio influenciando negativamente a digestão de nutrientes e diminuindo a energia metabolizável da ração (KESHAVARZ, 1999).

O fitato pode comprometer a absorção intestinal de aminoácidos dietéticos e endógenos por interferir em sistema de transporte dependente de sódio (GLYNN, 1993).

A fitase é obtida através de processos de fermentação de microrganismos e tem melhorado a utilização do fósforo liberado do complexo fósforo-fitato, pelos animais. Sendo os *Aspergillus*, os microrganismos mais utilizados para produzir a fitase em escala comercial (SEBASTIAN et al., 1998).

A fitase comercial ou mio-inositolhexaqui-fosfatofosfohidrolase é uma enzima pertencente, na sua maioria, ao grupo das fosfatases de histidina ácida, que hidrolisa o ácido fítico e seus sais, produzindo inositol, inositolmonofosfato e fósforo inorgânico (CASEY; WALSH, 2004).

A maioria das fitases comerciais atuam em baixo pH, em virtude da sua eficiência de atuação pelo substrato livre (fitato não complexado) e porque a afinidade do fitato com íons ou moléculas aumenta com o aumento do pH de 5 a 8,5 no trato digestório das aves (OH et al., 2006).

A atividade da enzima fitase é expressa em FTU ou simplesmente U (unidade de fitase ativa, definida como a quantidade de enzima necessária para liberar um micromol de fósforo inorgânico em um minuto em substrato de sódio fitato a temperatura de 37°C e pH 5,5) (CONTE, 2000).

O modo de ação da fitase consiste na transferência do grupo fosfato do substrato para a enzima e desta para água. A principal ação da fitase é na degradação do ácido fítico, sendo máxima no estômago e na porção inicial do intestino delgado, o que libera minerais e outros nutrientes contidos nos alimentos de origem vegetal, por meio da hidrólise e da ruptura das paredes celulares das sementes (SALMON, 2011).

Os efeitos das fitases nas rações dos animais são de liberação de nutrientes indisponíveis, principalmente o fósforo, bem como redução dos efeitos antinutritivos do fitato. A fitase foi inicialmente comercializada para melhorar a retenção de fósforo da dieta. Contudo, o seu efeito extra fosfórico está sendo cada vez mais demonstrado na literatura científica. Os resultados com o uso de fitase geram uma série de técnicas práticas na alimentação dos animais, como o uso de equivalências de P e Ca e a utilização de matrizes enzimáticas com valorização da energia metabolizável, da proteína bruta e dos aminoácidos (NAGASHIRO, 2007).

Além de disponibilizar mais energia pela liberação dos nutrientes complexados com o ácido fítico, a fitase diminui os requerimentos energéticos em virtude do fitato da dieta promover alteração no *turnover* das células do intestino, provocando maior produção de mucinas e, conseqüentemente, aumentando a perda de nitrogênio endógeno, indiretamente via redução da solubilidade da proteína dietética, com uma cascata subsequente que altera a dinâmica intestinal através de mecanismos secretórios e absorptivos (MENEGETTI, 2013).

Uma das principais formas de utilização da fitase é alterar as formulações das dietas para reduzir o custo por tonelada de ração por meio da adição de enzimas digestivas. Nesse caso, as dietas com níveis reduzidos de minerais, proteína e/ou aminoácidos e energia suplementadas com fitase possibilitam mesmo desempenho que uma dieta com níveis nutricionais adequados (Zanella et al., 1999).

Carboidrase

As carboidrases podem ser divididas em duas classes, as amilases que funcionam complementando as enzimas endógenas dos animais e as enzimas que degradam os polissacarídeos não amiláceos (PNAs), sendo essas enzimas não produzidas pelos animais monogástricos comerciais.

Estruturalmente, o amido é um homopolissacarídeo composto por cadeias de amilose e amilopectina. A amilose é formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas α -1,4, originando uma cadeia linear. Já a amilopectina é formada por unidades de glicose unidas em α -1,4 e α -1,6, formando uma estrutura ramificada. No grânulo de amilose, as moléculas se encontram em estrutura helicoidal que dificulta à entrada de água, ou até mesmo força a saída de água do interior do grânulo. Com a menor infiltração de água pelo grânulo o acesso de enzimas fica dificultado, sendo uma degradação mais lenta (MENEGETTI, 2013).

A amilopectina está arranjada também em grânulos, mas sua estrutura ramificada permite um maior espaçamento entre as moléculas facilitando a entrada de água que, por sua vez, carrega com grande facilidade as enzimas digestivas, amilases, amiloglicosidases, no processo de digestão.

A amilase exógena é produzida a partir de diferentes microrganismos, como fungos e bactérias, principalmente do gênero *Aspergillus* e *Bacillus* respectivamente, são hidrolases capazes de degradar o amido, e seus produtos de hidrólise, até sacarídeos menores.

A suplementação de amilase em dietas de animais complementa as enzimas endógenas e auxilia na exposição do amido mais rapidamente à digestão no intestino delgado, conduzindo ao aumento na utilização do nutriente, com consequente melhoria nas taxas de crescimento (SHEPPY, 2001).

Os PNA são polímeros de açúcares simples, porém devido à natureza das cadeias de ligações dos açúcares, são resistentes a hidrólise no trato gastrointestinal de monogástricos (BRITO et al., 2008). Além da baixa digestibilidade, esses compostos, que também podem ser chamados de fibras não amiláceas, podem causar outro problema aos animais, pois se não hidrolisados, aumentam a viscosidade do

conteúdo intestinal, diminuindo a velocidade de passagem dos alimentos, dificultando a ação de enzimas endógenas e prejudicando a difusão e o transporte de nutrientes. Além da viscosidade os PNA's podem atuar como barreira física de enzimas digestivas, como amilase e protease, reduzindo o aproveitamento dos nutrientes dos grãos (RIZZOLI, 2009).

O modo de ação é diferente entre os PNAs solúveis e insolúveis e vai depender da quantidade dos mesmos presente no alimento, podendo ser considerado nutriente diluente ou fator anti-nutritivo, de acordo com sua solubilidade (HETLAND, 2004). A capacidade de provocar viscosidade é maior nos polissacarídeos solúveis em água se comparados aos insolúveis. Exemplos de moléculas insolúveis são a xilose e os xilanos, enquanto PNAs solúveis são representados pelos arabinoxilanos, β -glucanos, D-mananos, galactomananos, xiloglucanos, substâncias pécticas, etc.

Dietas a base de milho e farelo de soja geralmente não apresentam grandes problemas causados por esses compostos, porém, ainda assim, apresentam nutrientes envolvidos pela parede celular e, portanto, indisponíveis para a atuação de enzimas endógenas. Uma alternativa para resolver esse problema é adicionar enzimas exógenas à dieta que hidrolisem esses compostos, liberando os nutrientes que possam estar encapsulados.

As carbohidrases endógenas produzidas são específicas para carboidratos com ligações alfa, como o amido, não atuando sobre carboidratos com ligações betas e oligossacarídeos contendo galactose, encontradas em várias sementes de plantas (FERNANDES; MALAGUIDO, 2004). Diante disso a necessidade do uso das enzimas exógenas nas formulações das rações para monogástricos, com o intuito de promover um melhor aproveitamento dos nutrientes presentes nos alimentos.

O conhecimento do substrato de atuação das enzimas é o fator chave na suplementação enzimática. Sendo assim, a utilização de enzimas deve ser direcionada em fases específicas que contenham quantidade de substrato passível de atuação por parte das enzimas (FORTES, 2011).

Devido à alta especificidade das enzimas em suas reações catalíticas, os produtos que contenham somente um tipo de enzima provavelmente não produzam o

máximo de benefício em dietas avícolas. Isso sugere que os complexos enzimáticos são mais efetivos, pois atuam sobre uma série de polissacarídeos da parede celular dos grãos (celulose, arabinosilanos, β - glucanos, xilanos, pectinas e etc), levando ao melhor aproveitamento da dieta (RIZZOLI, 2009).

A utilização de enzimas exógenas se torna importante, pois estas hidrolisam os polissacarídeos não amiláceos que podem ser potencialmente utilizados pelo animal, aumentando, por exemplo, a utilização de energia. Outra consequência importante, desta utilização é a redução do impacto negativo destes resíduos não digestivos sobre a viscosidade da digesta (Brito et al 2008). Exemplos de enzimas exógenas com eficácia comprovada são xilanase, arabinosilanase, β -glucanase e celulase.

Vários fatores influenciam as respostas encontradas na literatura com o uso de enzimas específicas para PNAs em rações com milho e farelo de soja, como: qualidade e composição dos ingredientes, forma de processamento ração, presença de ácidos orgânicos e acidificantes como moduladores de pH, nível de energia e de nutrientes na ração basal, idade das aves, atividade única ou multe enzimática, dose utilizada e presença da enzima fitase (AFTA, 2012).

Além do vasto conhecimento que se tem hoje, sobre a redução da viscosidade da digesta de rações a base de cereais de inverno suplementadas com xilanas para frangos de corte, recentemente, um mecanismo chamado “*ilealbrake*”, ativado pelo peptídeo YY (PYY) e responsável pela permanência do alimento no trato gástrico, poderia estar envolvido pelos efeitos da xilanase exógena. A enzima xilanas parcialmente hidrolisaria os arabinosilanos da dieta, aumentando a atividade fermentativa no ceco. Esta fermentação resultaria na produção de ácidos graxos voláteis e a sua absorção estimularia o mecanismo de resposta do PYY e atrasaria o esvaziamento gástrico. No entanto, o mecanismo para perceber a recuperação de nutrientes não é completo, necessitando-se de um aumento na digestão gástrica (BEDFORD; COWIESON, 2012).

Protease

As enzimas proteolíticas ou proteases catalisam a quebra das ligações peptídicas em proteínas. São enzimas da classe 3, as hidrolases, e subclasse 3.4, as

peptídeo-hidrolases ou peptidases (PALLADINO, 2008). Estas enzimas constituem uma grande família, dividida em endopeptidases ou proteinases e exopeptidases, de acordo com a posição da ligação peptídica a ser clivada na cadeia peptídica. Exopeptidases clivam as ligações peptídicas próximas ao grupo amino ou carboxi terminal do substrato (classificadas como amino e carboxypeptidases, respectivamente), enquanto as endopeptidases clivam as ligações peptídicas distantes do grupo terminal do substrato.

Estudos realizados no Brasil destinados especificamente para frangos de corte abordam proteases exógenas de serina, tais como as enzimas endógenas, quimiotripsina, tripsina e elastase, entretanto diferem destas por serem endopeptidases relativamente sem especificidade quanto á hidrolise de ligações pépticas e, portanto, com potencial de ação sobre todas as enzimas (MENEGHETTI, 2013). A adição de proteases exógenas pode representar um potencial desejável em suplementar a atividade proteolítica em animais jovens, liberando peptídeos menores e facilitando a ação das enzimas endógenas.

As proteases têm sido incorporadas aos alimentos dos animais monogástricos com o propósito de melhorar seu desempenho. As dietas das aves, compostas principalmente de milho, soja e ingredientes de origem animal, possuem algumas características ou componentes que podem dificultar a digestão e prejudicar a integridade intestinal dos animais. Por exemplo, a soja, que contribui com cerca de 70% da proteína em dietas avícolas e possui fatores antinutricionais que proporcionam decréscimos da digestibilidade da proteína e da gordura e reduzem a absorção de nutrientes, principalmente de aminoácidos sulfurados (DESSIMONI, 2011). Dessa forma, enzimas com atividades de proteases estão sendo desenvolvidas como alternativa para melhorar a qualidade do farelo de soja e de outros ingredientes proteicos, como a farinha de penas (FRANCO, 2010).

As proteases podem ser produzidas por microrganismos ou plantas, entretanto, as proteases bacterianas parecem ser mais efetivas em neutralizar inibidores de tripsina do que as proteases fúngicas (Tejedor et al 2001).

REFERÊNCIAS

- AFTA, V. Exogenous carbohydrases in cor-soy diets for broilers. **Worlds Poultry Science Journal**, Ithaca, v 68, p.v 447-464, 2012.
- ALMIRALL, M. et al. The differences in intestinal viscosity produced by barley and β -glucanases alter digesta enzymes activities and ileal nutrient digestibilities more in broiler than in cocks. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 125, p. 947-955, Aug. 1995.
- BAKER, D. H. Bioavalilability of minerals and vitamins. In: Miller et al (Eds) Swine Nutrition. Butterworth-heinemann.p. 341-359, 1991.
- BEDFORD, M. R.; COWIESON, A.J. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. **Animal Feed Science and Technolgg**.Amsterdam, v 173, n. ½, p. 76-85, Apr 2012.
- Brito, M. S; Oliveira, C F S; Silva, T. R. G; Lima, R. B; Morais, S. N; Silva, J. H. V. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos. Areia, PB. Acta VeterinariaBrasilica, v.2, n.4, p.111-117, 2008.
- CASEY, A.; WALSH, H. Identification and characterzation of a phytase of potential comercial interest. **Journal of Biothecnology**.Amsterdam, v.3, p.313-322, 2004.
- CLASSEN, H.L. Cereal grain starch and exogenous enzymes in poultry deits.**Animal feed Science technology**, Amsterdam, v. 119, n. ¾, p.293-305, apr. 1996.
- CONTE, A.J. Valor nutritivo do farelo de arroz integral em rações para frangos de corte, suplementadas com fitase com xilanase. Tese de doutorado, 164p., Universidade Federal de Lavras, 2000.
- DESSIMONI, G.V. Planos nutricionais com suplementação de protease em dietas para frangos de corte. 2011. Dissertação. Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha (UFVJM). 48p.
- FERNANDES, P.C.C.; MALAGUIDO, A. Uso de enzimas em dietas de frangos de corte. In CONFERENCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS,2004, Santos, **Anais...**Santos:FACTA, 2004.p. 117-126.
- FIREMAN, F. A. T.; FIREMAN, A. K. A. T. Enzimas na alimentação de suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.28, n.1, p.173-178, 1998.
- FORTES, B.D.A. Utilização de carboidrases em rações de frangos de corte. Seminario. 29f. escola de veterinária e zootecnia, Universidade Federal de Goiás, 2011.
- FRANCO, L. G. **Medidas adotadas na Nutrição Animal visando à saúde intestinal**. Artigo Online. Disponível em: <http://www.nftalliance.com.br/medidas-adotadas-na-nutricao-animal-visando-a-saude-intestinal/> Acesso em: 19/11/2015.
- GLYNN, I.M. All hands to the sodium pump. **Journal Physiology**, v.462, p.1-30.1993.

HETLAND, H.; CHOCT, M.; SVIHUS, B.B. Role of insoluble non-starch polysaccharides in poultry nutrition. **World's poultry Science Journal**. Cambridge, v.60, p.415-422, dec. 2004.

KESHAVARZ, K. Esnecesarioemplearlafitasa em la dieta de lãs ponedoras? **Industriaavícola**, v.46, p.13-14, 1999.

KHATTAK, F.M et al. Enzymes in poultry nutrition. **Journal of animal Science**, champaign, v.16,n.1/2, p. 1-2, 2006.

MAENZ, D. D. Enzymatic characteristics of phytases as they relate to their use in animals feeds. In : BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. (Eds.) Enzymes in farm animal nutrition. Wallingford: cab publishing, 2001. 406p.

MARTINS, T.D. D. et al. Produção e composição do leite de porcas híbridas mantidas em ambiente quente. **Ciência Rural**, Santa maria, v. 37, n. 4, p. 1079-1083, jul./ago. 2007.

Mavromichalis, I. (2012, September). Mixed or single enzymes for non-starch carbohydrates? *AllAboutFeed*, 25 -26.

MENEGHETTI, C. Associação de enzimas em rações para frangos de corte. Tese de Doutorado., P.93, Universidade de Lavras, Lavras-MG, 2013.

NAGASHIRO, C. Enzimas na nutrição de aves. In: CONFERENCIA APINCO 2007 DE CIENCIA E TECNOLOGIA AVICOLA, 2007, Santos. **Anais**. Castelo-Campinas: FACTA, 2007. P.309-327.

Nelson, D.L., Cox, M.M. (2004). *Lehninger, Principles of Biochemistry* (4th ed.). W.H.Freeman.

OH, B.C. et al Ca – inositol phosphate checation mediates the substrate specificity of β -propeller phytase. **Biochemistry**, New York, v.45, n.31, p.9531-9539, Aug. 2006.

PALLADINO, F. **Estudo da síntese de enzimas por *Bacilluslicheniformis* E-44 em meio formulado à base de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana de açúcar**. 2008. 76f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2008.

RIZZOLI, P. W. Desempenho, incremento de energia e digestibilidade denutrientes em rações de frangos de corte contendo enzimas exógenas. 2009. 64 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.

SALMON, D.N.X. Desenvolvimento de um bioprocesso para a produção, caracterização e recuperação da fitase de *Schizophyllum commune* obtida por fermentação em estado sólido. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2011. 107p. Dissertação (Mestrado em processos biotecnológicos)- Universidade federal do Paraná, 2011.

SALOMINSKI, B. A. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. **Poultry Science**, v. 90, n. 9,p. 2013-2033. Sept. 2011.

Scragg, A.H. (1988). *Biotechnology for Engineers, Biological Systems in Technological Processes*. Ellis Horwood Limited.

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

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S .P.; CHAVEZ, E.R. Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: a review. **Word`s Poultry Science**, London, v. 54, p. 27-47, 1998.

SHEPPY, C. The current feed enzyme Market and likely trends. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. *Enzymes in farm nutrition*. Londres: Cab International, 2001. p. 1-10.

TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; LIMA, C.A.R.; VIEITES, THORPES, J.; BEAL, J.D. Vegetable protein meald and the effects of enzymes. In BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes em farm nutrition**. Londres: cab international 2001. P. 125 – 143. 30(3):809-816, 2001.

XU, C. L. et al. Performance, nutriente utilization and sérum biochemical characteristics of weanling pig with dietary supplementation of pancreatic enzymes. **Indian Journal of Animal Sciences**, New Delhi, v.81, n. 5, p.498-502, May 2011.

ZANELLA, I.; SAKOMURA, N.K.; SILVERSIDS, F.G et al. Effects of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. **Poultry Science**, v.78, p.561-568, 1999.

ARTIGO 1

VALORES ENERGETICOS E AMINOÁCIDOS DIGESTIVEIS DE FARELOS DE SOJA SUPLEMENTADOS COM ENZIMAS EXÓGENAS

**VALORES ENERGETICOS E AMINOÁCIDOS DIGESTIVEIS DE
FARELOS DE SOJA SUPLEMENTADOS COM ENZIMAS EXÓGENAS
ENERGY VALUES AND DIGESTIBLE AMINOACIDS SOYBEAN MEAL
OF WITH SUPPLEMENTED ENZYMES EXOGENOUS**

RESUMO

O objetivo com este trabalho foi avaliar o efeito de enzimas exógenas nos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos (CDAA) e nos valores de energia metabolizável (EM) de dois farelos de soja para frangos de corte suplementados ou não com enzimas. Para determinação dos valores de EM utilizou-se a coleta total de excretas com frangos de corte. Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com onze tratamento, oito repetições e seis aves por unidade experimental totalizando 528 aves da linhagem Cobb 500 de 14 a 24 dias de idade para testar o farelo de soja oriundo do Rio Grande do Sul (RS) e outro de Minas Gerais (MG) suplementados ou não com as enzimas, Prot1, Prot2, VP e Proact formando um arranjo fatorial 5x2+1. Os tratamentos foram: T1: Ração referencia + farelo de soja MG (sem enzima), T2: T1 + Prot1 , T3: T1 + Prot2 , T4: T1 + VP , T5: T1 + Proact , T6: Ração referencia + farelo de soja RS (sem enzima), T7: T6 + Prot1 , T8: T6 + Prot2 , T9: T6 + VP , T10: T6 + Proact , T11: Ração referencia. O período experimental foi de 10 dias sendo 5 de adaptação e 5 de coleta total de excretas. Após o término da coleta, as amostras de excretas foram processadas e posteriormente realizadas as devidas análises laboratoriais (matéria seca, nitrogênio e energia bruta). Para determinação dos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos (CDAA) utilizou-se a coleta ileal de digesta com frangos de corte e o mesmo delineamento experimental e os mesmos tratamentos do ensaio anterior. Um grupo de aves (Tratamento 11) foi alimentado com uma dieta isenta de proteína (DIP), de modo a determinar a excreção de aminoácidos endógenos. Os tratamentos foram: T1: DIP + farelo de soja MG (sem enzima), T2: T1 + Prot1 , T3: T1 + Prot2 , T4: T1 + VP , T5: T1 + Proact , T6:DIP + farelo de soja RS (sem enzima), T7: T6 + Prot 1 , T8: T6 + Prot2 , T9: T6 + VP , T10: T6 + Proact, T11: DIP. As amostras das digestas ileal foram liofilizadas a vácuo, e realizadas as análises laboratoriais para a verificação do conteúdo aminoacídico, matéria seca, proteína bruta e cinza insolúvel em ácido. O farelo de soja de origem de MG obteve valor maior ($p < 0,05$) de energia metabolizável aparente (EMA) e de energia metabolizável aparente corrigida por balanço de nitrogênio (EMAn) com valores de

3188 Kca/Kg e 2700 Kcal/Kg na matéria seca de EMA e EMAn respectivamente. A enzima Proact proporcionou maior retenção de nitrogênio ($p < 0,05$) quando adicionada no farelo de soja do RS (62,52%). De forma geral o farelo de soja MG suplementado com a enzima Proact teve os melhores coeficientes de digestibilidade ($p < 0,05$). Além de a enzima Proact melhorar a homogeneidade dos coeficientes de digestibilidade entre os farelos de soja. A carboidrase VP foi a enzima depois da protease Proact que proporcionou os melhores ($p < 0,05$) CDAA. Entretanto as proteases Prot 1 e Prot 2 não promoveram melhoras significativas ($p < 0,05$) nos CDAA.

Palavras chaves: Enzimas, Farelo de soja e Frangos de corte.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of exogenous enzymes on the amino acid digestibility coefficients (AADC) and metabolizable energy (ME) of two soybean meal for broilers supplemented or not with enzymes. To determine ME values, was used the total collection method with broilers. The animals were distributed in a completely randomized design into 11 treatment, with 8 replicates and 6 birds each, totaling 528 Cobb 500 broilers from 14 to 24 days old, for evaluating a soybean meal (SBM) from the Rio Grande do Sul (RS), and another one from Minas Gerais (MG) supplemented or not with enzymes: Prot1, Prot 2, VP and Proact, forming a 5x2 factorial arrangement (5 enzymes x 2 SBM + 1 control). The treatments were: T1: reference diet + MG soybean meal (without enzyme), T2: Prot 1 + T1, T3: Prot 2 + T1, T4: VP + T1, T5: Proact + T1, T6: reference diet + soybean meal RS (without enzyme), T7: Prot 1 + T6, T8: Prot 2 + T6, T9: VP + T6, T10: Proact + T6, T11: reference diet. The experiment lasted 10 days, being 5 of adaptation and 5 of excreta collection. Ending of collection, samples were processed and the appropriate laboratory tests were carried (dry matter-DM, nitrogen-N, and gross energy-GE). To determine the AADC, ileum-collected digesta method to was used; and the same experimental design, and the same treatments of the previous test. One group of birds (treatment 11) fed with a protein-free diet (PFD) in order to determine the endogenous amino acid excretion. The treatments were: T1: PFD + MG soybean meal (without enzyme), T2: Prot 1 + T1, T3: Prot 2 + T1, T4: VP + T1, T5: Proact + T1, T6: PFD + soybean meal RS (without enzyme), T7: Prot 1 + T6, T8: Prot 2 + T6, T9: VP + T6, T10: Proact + T6, T11: DIP. Ileum-collected digesta

samples were freeze-dried vacuum, and conducted to perform laboratory tests to verify amino acid content, dry matter, crude protein, and acid insoluble ash. The MG soybean meal had higher value ($p<0.05$) of apparent metabolizable energy (AME) and apparent nitrogen-corrected metabolizable energy (AMEn), with values of 3188 Kcal/ kg and 2700 kcal /kg of DM, respectively. The Proact enzyme had highest proportion of N retention ($p<0.05$), when added to the SBM from the RS, with 62.52% of N retention. Generally, the Proact-supplemented SBM from MG gave the higher digestibility coefficients ($p<0.05$). Additionally, the Proact enzyme improved the homogeneity of the digestibility coefficients between the soybean meals evaluated. The VP (carbohydrase) gave, after Proact (protease), higher ($p<0.05$) AADC. However, Prot1 and Prot2 did not promote improvements ($p<0.05$) on AADC.

Key words: Enzymes, Soybean meal and Broilers.

INTRODUÇÃO

O farelo de soja é o ingrediente proteico mais importante utilizado nas dietas de frangos de corte do Brasil. No entanto, é comum a divergências das composições nutricionais, devido a vários fatores, como variações genéticas dos cultivares existentes, região em que foi cultivado, adubação utilizada, armazenamento, processamento que tenha sofrido e outros. O valor nutritivo da soja para frangos de corte é limitado pela presença de vários fatores antinutricionais, incluindo inibidores de tripsina, saponinas e oligossacarídeos que interferem com o consumo de ração e utilização de nutrientes (Frikhaet al., 2012). O processamento térmico do farelo de soja reduz a maior parte destes efeitos, mas um excesso de calor aumenta a incidência de reações de Maillard inevitável que ocorre entre o grupo amino dos aminoácidos e os açúcares redutores existentes na dieta (Qin et al., 1998).

A utilização de enzimas exógenas pode ser uma alternativa para diminuir as diversidades dos ingredientes utilizados em dietas de frangos de corte reduzindo a variabilidade do valor nutritivo entre lotes de ingredientes. A suplementação de enzima eleva o valor nutritivo de ingredientes nutricionalmente deficientes e reduz a variação de ingredientes de boa e de má qualidade. Este efeito, por sua vez, melhora o grau de precisão da formulação de dietas (Ravindran., 2013).

Devido a um aumento significativo sobre o preço do farelo de soja, tem aumentado o número de proteases disponível comercialmente e sua utilização tem aumentado significativamente, motivando a avaliar mais proteases por sua capacidade de melhorar a digestibilidade de proteína e amino ácidos de dietas (Olukosiet al., 2015). Vários estudos têm mostrados melhorias na digestibilidade ileal de proteína e aminoácidos de dietas para frangos de corte com suplementação de protease (Romero et al., 2013, 2014).

Proteases exógenas de origem microbiana são cada vez mais utilizadas em dietas de frangos de corte (Adeola e Cowieson, 2011). O benefício econômico do uso de proteases exógenas é através de melhorias na digestibilidade de aminoácidos dietéticos. O mecanismo primário para a melhora na digestibilidade parece ser o aumento da hidrólise de proteínas na dieta e aumento da solubilidade de proteínas (Caine et al., 1998). No entanto, aumentos da energia metabolizável causada por proteases exógenas em conjunto com carboidrases são sugestivos devido a capacidade de proteases exógenas causar interações proteína-amido nos grãos de cereais (McAllister et al, 1993;.. Belles et al, 2000).

Os efeitos benéficos da suplementação enzimática em dietas avícolas com base em cereais ricos em polissacarídeos não amiláceos (PNAs) são bem estabelecidos (Annison, 1992; Bedford e Classen, 1992). Para ingredientes com baixa concentração de PNAs, tais como o milho e o farelo de soja, pensava-se que a suplementação de enzima não seria benéfica. Os nutrientes contidos no milho e no farelo de soja são geralmente considerados como sendo altamente digestíveis (Zanella et al., 1999; Maisonnier-Grenier et al., 2004). Contudo, milho contém cerca de 0,9% a 6% PNA solúvel para 8% PNA insolúvel, enquanto o farelo de soja contém cerca de 6% PNA solúvel e 18 a 21% insolúvel PNA (Bach Knudsen, 1997; Choct, 2006).

Carboidrases exógenos estão cada vez mais sendo usadas em dietas à base de milho e farelo de soja para frangos de corte (Cowieson, 2010), apesar de baixas concentrações de PNA solúvel nestas dietas. Benefícios econômicos decorrentes da utilização destas enzimas são obtidos através de uma redução dos custos da alimentação, que ocorre quando as melhorias em energia metabolizável aparente e, em menor extensão, a digestibilidade de aminoácidos é contabilizada nas formulações de dieta para frangos de corte (Romero et al., 2013).

Deste modo o objetivo com este trabalho foi avaliar o efeito de enzimas exógenas nos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos e da energia metabolizável de dois farelos de soja para frangos de corte.

MATERIAIS E METODOS

O experimento aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animais de Produção (CEUAP) da Universidade Federal de Viçosa cujo processo nº 101/2014, foi realizado no setor de avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. Para determinação dos valores de Energia Metabolizável (EM) utilizou-se a coleta total de excretas com frangos de corte. Foram utilizados 528 pintos machos Cobb 500, com 14 dias de idade. Desde o primeiro dia até os 13 dias de idade as aves foram mantidas em um galpão adequado, com piso de concreto coberto com cama de maravalha. Foram oferecidos ração e água *ad libitum*, sendo a dieta pré-inicial formulada de acordo com Rostagno et al. (2011).

Aos 14 dias de idade as aves foram transferidas para sala de metabolismo e alojadas em baterias metálicas. Foram avaliados o farelo de soja oriundo de Minas Gerais (FS MG) e o farelo de soja oriundo do Rio Grande do Sul (FS RS) suplementados ou não com as enzimas Prot1, Prot2, VP e ProAct utilizando um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 5x2 + 1 ração referência (RR) num total de 11 tratamentos, 8 repetições e 6 aves por unidade experimental. Um grupo de aves foi alimentado com RR. Os tratamentos experimentais estão descritos na tabela 1.

A ração referência, apresentada na Tabela 2, foi formulada à base de milho e de farelo de soja, com 20,8% de PB e 3000 kcal de EM/kg de ração. As rações testes consistiam da substituição de 40% da ração referência pelo farelo de soja de origem do estado de Minas Gerais (FS MG) ou de origem do estado de Rio Grande do Sul (FS RS), de acordo com os tratamentos. As enzimas utilizadas “on top” foram duas próteases (Prot1 e Prot2) estas foram diluídas com inerte para que tivesse a mesma quantidade de inclusão 1000g/T, a Ronozyme VP (Carboidrase) e a Ronozyme ProAct (Protease) foram incluídas em 200 g/T. Além disso, para todas as dietas experimentais foi adicionado 1000 FTU / kg de Ronozyme HiPhos GT (Fitase).

Tabela 1. Tratamentos experimentais para determinação dos valores de energia metabolizável.

Tratamentos	Dietas
T1	RR +FS MG (sem enzima)
T2	T1 + Prot1
T3	T1 + Prot2
T4	T1 + VP
T5	T1 + Proact
T6	RR +FS RS (sem enzima)
T7	T6 + Prot1
T8	T6 + Prot2
T9	T6 + VP
T10	T6 + Proact
T11	RR

Todas as dietas continham 1.000 FTU / kg de fitase Ronozyme Hiphos (GT).

A Ronozyme VP é uma carboidrase produzida partir de *Aspergillus aculeatus* e contém 50 FGB/g de endo-1,3(4)- β -glucanase, além de possuir atividade de pentosanase, de hemicelulase e de pectinase. A Ronozyme Proact® é uma protease produzida pela fermentação de *Bacillus licheniformis* contendo genes transcritos de Nocardioopsis prasina. A atividade enzimática para esta enzima é definida pela quantidade de enzima necessária pra degradar 1 μ mol de p-nitroaniline a partir de 1 μ M do substrato (Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-N-succinyl Ala-Ala-Pro-Phe-p-nitroanilide) por minuto em um pH de 9,0 e 37° C. O Produto utilizado possui 75000 unidades de protease/ g de enzima. Estas fornecidas pela DSM Nutricional Products. A PROT 1 - Cibenza DP100 é uma protease produzida a partir de *Bacillus licheniformis* contém 600 protease units/g. A PROT 2 – Poultry Grow é uma protease produzida a partir de *Streptomyces fradiae* contém 25.000 units/g.

As rações foram fornecidas *ad libitum* por um período de 10 dias, sendo os primeiros cinco dias destinados à adaptação, e os últimos cinco dias destinados à coleta das excretas pela metodologia da coleta total, a coleta foi realizada duas vezes ao dia em um intervalo de doze horas para evitar fermentação e perdas de nutrientes.

Tabela 2 – Composição da ração referência utilizada no ensaio metabólico, em percentagem da matéria natural.

Ingredientes	%
Milho	59,070
Farelo de soja	34,760
Óleo de soja	2,170
Fosfato bicálcico	1,527
Calcário	0,912
Sal comum	0,482
L-lisina HCl (98%)	0,213
DL-metionina (99%)	0,285
Suplemento vitamínica ¹	0,110
Suplemento mineral ²	0,110
Cloreto de colina 60%	0,100
Salinomicina 12% ³	0,050
Avilamicina 10% ⁴	0,010
Antioxidante ⁵	0,010
RonozymeHiPhos (GT)*	0.010
Total	100,00
Composição calculada	
Energia metabolizável (kcal/kg)	3.000
Proteína bruta (%)	20,80
Lisina digestível (%)	1,174
Metionina digestível (%)	0,562
Metionina + cistina digestível (%)	0,846
Treonina digestível (%)	0,763
Triptofano digestível (%)	0,231
Cálcio (%)	0,819
Fósforo disponível (%)	0,394
Sódio (%)	0,210

* Foi adicionado em todas as dietas 1000 FTU / kg de fitase.

¹ Composição por kg de ração: vit. A, 8.250 UI; vit. D3, 2.090 UI; vit. E 31 UI; vit. B1, 2,20mg; vit B2, 5,50 mg; vit. B6, 3,08 mg; ác. pantotênico, 11,0 mg; biotina, 0,077 mg; vit. K3, 1,65 mg; ácido fólico, 0,770 mg; ácido nicotínico 33,0 mg; vit. B12, 0,013 mg; selênio, 0,330 mg.

² Composição por kg de ração: manganês, 77,0 mg; ferro, 55,0 mg; zinco, 71,5 mg; cobre, 11,0 mg; iodo 1,10 mg.

³ Anticoccidiano (Coxistac)

⁴ Promotor de crescimento (Surmax)

⁵ Butil Hidroxi Tolueno (BHT)

As excretas coletadas foram acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificados, pesados e foram mantidos em freezer até o final do período de coleta. Após o término da coleta, as amostras foram homogeneizadas e retiradas alíquotas, as quais foram pré - secas em estufa de ventilação forçada a temperatura de 55°C. Posteriormente foram realizadas as devidas análises laboratoriais (matéria seca,

nitrogênio e energia bruta) no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa das amostras de excretas e rações, segundo metodologia descrita por Silva e Queiroz, (2002).

Ao término do experimento foi determinada a quantidade de ração consumida por unidade experimental, durante os cinco dias de coleta.

Uma vez obtidos os resultados das análises laboratoriais dos alimentos, da ração referência, das rações testes e das excretas, foram calculados os valores de energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigido por nitrogênio (EMA_n), por meio de equações, apresentadas abaixo, propostas por Sakomura & Rostagno (2007).

As equações utilizadas no cálculo da EMA e EMA_n foram:

$$EMA_{RT} = \frac{EBing. - EBexc.}{MSing.}$$

$$EMA_{RR} = \frac{EBing. - EBexc.}{MSing.}$$

$$EMA_{ALIM} = EM_{RR} + \frac{(EM_{RT} - EM_{RR})}{g/g \text{ subst.}}$$

$$EMA_{nRT} = \frac{(EBing. - EBexc.) - 8,22 \times BN}{MSing.}$$

$$EMA_{nRR} = \frac{(EBing. - EBexc.) - 8,22 \times BN}{MSing.}$$

$$EMA_{nALIM} = \frac{EM_{nRR} + (EM_{nRT} - EM_{nRR})}{g/g \text{ subst.}}$$

$$BN = N_{ing.} - N_{exc.}$$

Em que:

EMA_{RT} = energia metabolizável aparente da ração-teste;

EMA_{RR} = energia metabolizável aparente da ração-referência;

EMA_{ALIM} = energia metabolizável aparente do alimento;

EMA_{nRT} = energia metabolizável aparente corrigida da ração teste;

EMA_{nRR} = energia metabolizável aparente corrigida da ração referência;

EMA_{nALIM} = energia metabolizável aparente corrigida do alimento;

EBing. = energia bruta ingerida;

EBexc. = energia bruta excretada;

BN = balanço de nitrogênio;

N_{ing} = nitrogênio ingerido;

N_{exc.} = nitrogênio excretado;

Para determinação dos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos (CDAA) utilizou-se 528 pintos machos Cobb 500, com 25 dias de idade. Utilizou-se a coleta ileal de digesta com frangos de corte, com o mesmo delineamento experimental e os mesmos tratamentos do ensaio anterior. Os tratamentos experimentais estão descritos na tabela 3.

Tabela 3. Tratamentos experimentais para determinação dos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos.

Tratamentos	Dietas
T1	DIP +FS MG(sem enzima)
T2	T1 + Prot1
T3	T1 + Prot2
T4	T1 + VP
T5	T1 + Proact
T6	DIP +FS RS (sem enzima)
T7	T6 + Prot1
T8	T6 + Prot2
T9	T6 + VP
T10	T6 + Proact
T11	DIP

Todas as dietas continham 1.000 FTU / kg de fitase Ronozyme Hiphos (GT).

Uma dieta isenta de proteínas (DIP) foi formulada para determinar as perdas endógenas. Os tratamentos constituíram na substituição de 40% do amido da DIP pelo farelo de soja de origem do estado de Minas Gerais (FS MG) ou de origem do estado de Rio Grande do Sul (FS RS), de acordo com os tratamentos. As enzimas foram adicionadas *on top*. Para todas as dietas 1% de (Celite™) foi adicionado como indicador. Além disso, para todas as dietas experimentais foi adicionado 1000 FTU / kg de Ronozyme HiPhos (GT). As dietas experimentais estão na tabela 4. As enzimas utilizadas foram às mesmas para os tratamentos para determinação de energia metabolizável.

Tabela 4. Composição das dietas experimentais utilizada no ensaio de digestibilidade, em porcentagem da matéria natural.

Ingredientes / Dietas	DIP	DIP + FS MG	DIP + FS RS
Amido	82,705	42,705	42,705
Açúcar	5,000	5,000	5,000
Farelo de soja	-	40,000	40,000
Óleo	5,000	5,000	5,000
Fosfato bicálcio	1,622	1,622	1,622
Calcário	0,803	0,803	0,803
Sal	0,450	0,450	0,450
Sabugo de milho	3,000	3,000	3,000
Suplemento Mineral ¹	0,110	0,110	0,110
Suplemento Vitamínico ²	0,110	0,110	0,110
Cloreto de Colina (60%)	0,200	0,200	0,200
Celite TM	1,000	1,000	1,000
RonozymeHiPhos (GT)*	0,010	0,010	0,010
Total	100,000	100,000	100,000

* Foi adicionado em todas as dietas 1000 FTU / kg de fitase.

1 - Suplemento Mineral - Valor por kg de ração: Mn. 88 mg; Fe. 62,5 mg; Zn. 81,3 mg; Cu. 12,5 mg; I. 1,25 mg; Se. 0,375 mg.

2 - Suplemento Vitamínico - Valor por kg de ração: Vitamina A. 9375 UI; A vitamina D3. 2.375 UI; Vitamina E. 35 UI; A vitamina K3. 1,88 mg; A vitamina B1. 2,5 mg; A vitamina B2. 6,25 mg de vitamina B6. 3,5 mg; A vitamina B12. 15 mcg; Pantotênico Ac..12.5 MG; Biotina. 0,088 mg; Folic Ac .. 0,875 g; nicotínico Ac .. 37,5 g.

O período experimental foi de 5 dias para adaptação a ração e no quinto dia (30 dias de idade) todas as aves foram insensibilizadas por eletronarcole com corrente de 35mA, a frequência de 60 hertz e a voltagem variando de 28 a 60 voltz, através da imersão da cabeça em água por 7 segundos, e posteriormente abatidas por sangria e abertas na cavidade abdominal para que o intestino delgado seja exteriorizado. O conteúdo ileal, para determinação da digestibilidade de aminoácidos, foi coletado a partir de 40 cm do íleo terminal e 5 cm, antes da junção íleo - cecal, as amostras de digesta foram obtidas por *flushing* lavagem do íleo terminal, com água destilada e colocadas em potes de plástico.

As aves foram constantemente estimuladas a consumir ração, a fim de evitar o esvaziamento do trato digestivo, o que pode reduzir a quantidade de amostra coletada.

O conteúdo ileal, de cada unidade experimental foi colocado em um pote de plástico e imediatamente seco por liofilização. As análises realizadas nas dietas e amostras do conteúdo ileal foram: as análises laboratoriais para a verificação do conteúdo aminoacídico por meio da metodologia de HPLC (Cromatografia Líquida sob Alta Pressão). Também foram determinados os teores de matéria seca (MS), de proteína bruta (PB) e do indicador fecal (sílica) e o fator de indigestibilidade (CIA), Joslyn (1970).

A digestibilidade dos aminoácidos aparente e verdadeira foram calculados seguindo a metodologia proposta por Sakomura & Rostagno (2007).

1- Coeficiente de Digestibilidade aparente de aminoácidos (CDapAA):

$$\text{CDapAA (\%)} = \frac{\text{mg AA/ g ração} - \text{mg AA/ g digesta} \times \text{FI}_1}{\text{mg AA/ g ração}} \times 100$$

Em que:

FI₁ = Fator de indigestibilidade

$$\text{FI}_1 = \frac{\text{CIAração}}{\text{CIA digesta}}$$

2- Coeficiente de Digestibilidade verdadeira de aminoácidos (CDvAA)

$$\text{CDvAA (\%)} = \frac{\text{mg AA/ g ração} - (\text{mg AA/ g digesta} \times \text{FI}_1 - \text{mg AA/ g endógeno} \times \text{FI}_2)}{\text{mg AA/ g ração}} \times 100$$

em que:

FI₂ = Fator de indigestibilidade da DIP

$$\text{FI}_2 = \frac{\text{CIADIP}}{\text{CIAdigesta da DIP}}$$

Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias avaliadas pelo teste Student Newman Keuls (SNK) com 5% de probabilidade usando o pacote estatístico do SAS Institute. (2009).

A composição analisada dos nutrientes dos farelos de soja está apresentada na tabela 5.

Tabela 5 – Composição analisada dos nutrientes do farelo de soja MG e do farelo de soja RS na matéria natural.

Nutriente	Farelo de soja MG	Farelo de soja RS
Matéria seca. %	89,03	88,48
Energia bruta. Kcal/Kg	4169	4101
Proteína bruta. %	45,20	43,82
Aminoácidos totais. %	44,56	44,04
Soma aminoácidos essenciais. %	24,10	24,53
Soma aminoácidos não essenciais. %	20,47	19,52
Lisina. %	2,82	2,77
Metionina. %	0,43	0,50
Met+Cis. %	0,93	1,06
Treonina. %	1,81	1,89
Arginina. %	3,59	3,84
Gli+Ser. %	4,58	4,81
Valina. %	2,10	2,05
Isoleucina. %	1,86	1,79
Leucina. %	3,39	3,30
Histidina. %	1,25	1,28
Fenilalanina. %	2,27	2,30
Tirosina. %	1,60	1,75
Alanina. %	2,17	2,11
Ácido aspártico. %	5,09	4,17
Ácido Glutâmico. %	8,57	8,23
Cistina. %	0,50	0,56
Prolina. %	2,54	2,70

RESULTADOS

Os valores de EMA e EMAn apresentados na tabela 6 não tiveram interação entre os fatores farelo de soja e suplementação ou não com enzima, dessa forma foram analisados de forma independente. Não foi verificada diferença significativa ($p>0,05$) para o uso de enzimas nos valores de EMA e EMAn, mas foi encontrado diferença estatística para os farelos de soja. O farelo de soja de origem de Minas Gerais obteve valor maior ($<0,05$) com 3188 Kca/Kg e 2700 Kcal/Kg na matéria seca de EMA e EMAn respectivamente.

Tabela 6. Média dos valores de energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida por nitrogênio (EMAn) na matéria seca (MS) e retenção de nitrogênio dos farelos de soja.

Farelo de soja	Enzima	EMA, Kcal/Kg de MS	EMAn, Kcal/Kg de MS	Retenção de nitrogênio (%)
Minas Gerais (MG)	S/enzima	3163	2679	56,78
	PROT 1	3171	2682	57,39
	PROT 2	3181	2693	57,37
	VP	3233	2748	56,95
	PROACT	3191	2700	57,69
Rio Grande do Sul (RS)	S/enzima	3076	2522	55,93
	PROT 1	3107	2533	58,34
	PROT 2	3117	2546	57,98
	VP	3158	2603	55,97
	PROACT	3149	2543	62,52
Médias Principais				
Enzima	S/enzima	3119	2600	56,35
	PROT 1	3139	2608	57,86
	PROT 2	3149	2620	57,67
	VP	3195	2675	56,46
	PROACT	3170	2621	60,10
Farelo de soja	MG	3188 A	2700 A	57,23
	RS	3121 B	2549 B	58,15
ANOVA P-Valor	Farelo de soja	0,0039	0,0001	0,1164
	Enzima	0,2473	0,1451	0,0006
	Enz * FS	0,9799	0,9994	0,0142
	CV	3,14	3,36	4,44

Letras diferentes na mesma coluna significa diferença estatística. ANOVA (<0,05)

Para o parâmetro de retenção de nitrogênio foi observado interação entre os fatores farelo de soja e enzima, deste modo sendo estudados de forma dependente. Como mostrado na tabela 7.

Tabela 7. Retenção de nitrogênio em porcentagem. Efeito da interação entre os farelos de soja e as enzimas.

Farelo de Soja	Enzimas				
	Sem	Prot1	Prot2	VP	Proact
Minas Gerais	56,78 aA	57,39 aA	57,37 aA	56,95 aA	57,69 aB
Rio Grande do Sul	55,93 bA	58,34abA	57,98 bA	55,97 bA	62,52 aA

A.B letras diferentes na mesma coluna significa diferença estatística. SNK ($P < 0,05$); a.b letras diferentes na mesma linha significa diferença estatística. SNK ($P < 0,05$)

A suplementação ou não das enzimas, Prot1, Prot 2, VP e Proact no farelo de soja oriundo de MG não proporcionaram diferença significativa ($p > 0,05$) na retenção de nitrogênio pelas aves. No entanto no farelo de soja oriundo do RS a enzima Proact proporcionou maior retenção de nitrogênio ($p < 0,05$) quando comparando com o tratamento sem enzima, Prot2 e VP, e tendo a mesma proporção de retenção de nitrogênio que a enzima Prot1. As aves dos tratamentos sem enzima, Prot1, Prot2 e VP obtiveram a mesma porcentagem de retenção de nitrogênio ($p < 0,05$) nos os dois farelos de soja. Já a enzima Proact proporcionou melhor resultado ($p < 0,05$) quando adicionada no farelo de soja do Rio Grande do Sul.

Os resultados mostrados nas tabelas 8, 9 e 10 são referentes ao estudo dos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos (CDAAs) dos farelos soja adicionados ou não com enzimas.

Foi observado que o coeficiente de digestibilidade (CD) da proteína, da fenilalanina e da tirosina não teve interação entre os fatores farelo de soja e a suplementação ou não com enzima ($p > 0,05$). Estudando separadamente o fator enzima foi observado que a VP e a Proact proporcionaram maiores valores de coeficientes de digestibilidade ($p < 0,05$) quando comparados com a suplementação com as outras enzimas. O coeficiente de digestibilidade da proteína do farelo de soja de origem de MG foi maior ($p < 0,05$) quando comparado com o farelo de soja oriundo do RS.

Tabela 8 – Coeficientes de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos (CDVAA) em dois farelos de soja sem enzima e com adição das enzimas Prot1, Prot 2, VP e Proact para frangos de corte.

Farelo de soja (FS)	Enzima	CDVAA - (%)						
		Proteína	AAT	AAE	AAAnE	Lis	Met	Met+Cis
Minas Gerais (MG)	Sem	89,09	92,78	91,64	94,04	91,74	95,51	93,77
	Prot1	89,80	93,14	92,33	94,37	92,51	97,00	94,32
	Prot2	89,77	92,28	91,74	93,41	92,04	93,26	90,92
	VP	91,50	93,78	93,46	94,96	93,73	97,73	95,81
	Proact	90,99	94,54	93,67	95,95	94,06	97,58	97,92
Rio Grande do Sul (RS)	Sem	88,73	94,05	93,00	94,42	92,16	96,70	96,76
	Prot1	88,41	94,03	92,80	94,99	92,70	96,55	97,70
	Prot2	89,85	94,53	93,25	95,40	92,96	97,30	98,03
	VP	90,50	94,26	93,52	94,93	92,60	98,37	98,66
	Proact	90,38	94,90	94,12	95,49	93,00	98,39	98,01
Médias principais								
Enzima	Sem	88,91 C	93,41	92,32	94,23	91,95	96,11	95,26
	Prot1	89,10 BC	93,58	92,57	94,68	92,61	96,77	96,01
	Prot2	89,81 B	93,41	92,50	94,41	92,50	95,28	94,48
	VP	91,00 A	94,02	93,49	94,95	93,16	98,05	97,23
	Proact	90,68 A	94,72	93,90	95,72	93,53	97,99	97,96
Farelo de soja	MG	90,23 A	93,30	92,57	94,55	92,81	96,22	94,55
	RS	89,57 B	94,35	93,34	95,05	92,68	97,46	97,83
ANOVA	FS	0,005	0,001	0,001	0,001	> 1,000	0,001	0,001
	Enzima	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
P-valor	Enz X FS	0,295	0,004	0,023	0,001	0,006	0,001	0,001
	CV (%)	1,121	0,796	0,778	0,559	0,998	1,532	1,073

AAT Aminoácido Total

AAE Aminoácidos Essencias

AAAnE Aminoácidos não Essencias.

Letras diferentes na mesma coluna significa diferença estatística. SNK (P<0.05)

Tabela 9 – Continuação...

Farelo de soja (FS)	Enzima	CDVAA -						
		Tre	Arg	Gli+Ser	Val	Ileu	Leu	His
Minas Gerais (MG)	Sem	90,19	98,60	90,38	90,54	88,60	88,52	90,82
	Prot1	89,91	98,83	90,54	91,94	90,18	90,08	92,10
	Prot2	89,52	98,91	90,44	90,58	89,40	89,10	91,19
	VP	93,47	99,46	90,63	92,77	91,43	91,29	95,24
	Proact	93,95	99,82	93,01	89,57	90,81	91,46	95,66
Rio Grande do Sul (RS)	Sem	95,18	99,52	92,81	87,70	90,02	90,45	93,20
	Prot1	95,64	99,53	92,24	87,46	89,62	89,99	93,02
	Prot2	95,36	99,57	92,48	88,89	90,61	90,71	93,57
	VP	96,12	99,58	92,50	89,32	91,13	90,76	94,11
	Proact	97,44	99,58	93,74	90,04	92,35	91,12	94,16
Médias principais								
Enzima	Sem	92,69	99,06	91,59	89,12	89,31	89,49	92,01
	Prot1	92,78	99,18	91,39	89,70	89,90	90,03	92,56
	Prot2	92,44	99,24	91,46	89,74	90,00	89,90	92,38
	VP	94,80	99,52	91,57	91,05	91,28	91,02	94,68
	Proact	95,69	99,70	93,38	89,81	91,58	91,29	94,91
Farelo de soja	MG	91,41	99,12	91,00	91,08	90,08	90,09	93,00
	RS	95,95	99,56	92,75	88,68	90,75	90,61	93,61
ANOVA	FS	0,001	0,001	0,001	0,001	0,018	0,032	0,003
	Enzima	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
P-valor	Enz X FS	0,002	0,001	0,036	0,001	0,037	0,002	0,001
	CV (%)	1,378	0,192	0,829	1,360	1,354	1,164	0,962

Letras diferentes na mesma coluna significa diferença estatística. SNK (P<0.05)

Tabela 10– Continuação...

Farelo de soja (FS)	Enzim a	CDVAA - (%)						
		Phe	Tir	Ala	Asp	Glu	Cis	Pro
Minas Gerais (MG)	Sem	91,52	95,47	89,14	95,23	96,07	92,27	88,43
	Prot1	92,66	95,76	89,32	95,47	96,84	92,01	87,74
	Prot2	91,74	96,10	88,76	94,61	95,54	88,92	87,01
	VP	93,03	96,38	91,46	95,68	96,19	94,16	91,64
	Proact	92,22	95,61	92,22	96,13	97,21	98,21	94,27
Rio Grande do Sul (RS)	Sem	91,60	95,33	89,70	94,29	95,61	96,80	93,62
	Prot1	91,37	95,27	91,26	95,10	96,27	98,73	92,91
	Prot2	91,89	95,21	91,35	95,63	96,86	98,68	93,18
	VP	92,63	95,57	91,65	94,05	96,26	98,91	93,57
	Proact	92,53	95,48	90,45	96,69	96,72	97,67	93,42
Médias principais								
Enzima	Sem	91,56 B	95,40 A	89,42	94,76	95,84	94,53	91,03
	Prot1	92,01 B	95,51 A	90,29	95,28	96,55	95,37	90,33
	Prot2	91,81 B	95,65 A	90,06	95,12	96,20	93,80	90,10
	VP	92,83 A	95,98 A	91,56	94,87	96,22	96,54	92,61
	Proact	92,37 AB	95,54 A	91,33	96,41	96,97	97,94	93,84
Farelo de soja	MG	92,23 A	95,86 A	90,18	95,42	96,37	93,11	89,82
	RS	92,00 A	95,37 B	90,88	95,15	96,34	98,16	93,34
ANOVA	FS	0,262	0,003	0,005	0,090	> 1,000	0,001	0,001
	Enzima	0,002	0,213	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
P-valor	Enz X FS	0,099	> 1,000	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
	CV (%)	0,985	0,755	1,194	0,743	0,450	1,214	1,370

CDVAA = Coeficientes de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos.

Letras diferentes na mesma coluna significa diferença estatística. SNK (P<0.05)

Os teores de AAT , de AAE, de AAnE , de lisina, de metionina, de Met+Cis, de treonina, de arginina, de Gli+Ser, de valina, de isoleucina, de leucina, de histidina, de alanina, de ácido aspártico, de ácido glutâmico, de cistina e de prolina tiveram interação entre os fatores farelo de soja e a suplementação ou não das enzima, sendo estudados de forma dependente como mostrado nas tabelas 11 e 12.

Tabela 11 – Coeficientes de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos em dois farelos de soja sem enzima e com adição das enzimas Prot1, Prot 2, VP e Proact para frangos de corte. Efeito da interação entre os farelos de soja e as enzimas.

Aminoácidos (AA)	Farelo de soja	Enzima				
		Sem	Prot1	Prot2	VP	Proact
AAT	MG	92,78 Bc	93,14 Bbc	92,28 Bc	93,78 Abc	94,54 Aa
	RS	94,05 Aa	94,03 Aa	94,53 Aa	94,26 Aa	94,90 Aa
AAE	MG	91,64 Bb	92,33 Ab	91,74 Bb	93,46 Aa	93,67 Aa
	RS	93,00 Ab	92,80 Ab	93,25 Ab	93,52 Aab	94,12 Aab
AAeE	MG	94,04 Ac	94,37 Bc	93,41 Bd	94,96 Ab	95,95 Aa
	RS	94,42 Ab	94,99 Aab	95,40 Aab	94,93 Aab	95,49 Aab
Lisina	MG	91,74 Ab	92,51 Ab	92,04 Ab	93,73 Aa	94,06 Aa
	RS	92,16 Aa	92,70 Aa	92,96 Aa	92,60 Ba	93,00 Ba
Metionina	MG	95,51 Ab	97,00 Aa	93,26 Bc	97,73 Aa	97,58 Aa
	RS	96,70 Aa	96,55 Aa	97,30 Aa	98,37 Aa	98,39 Aa
Met+Cis	MG	93,77 Bc	94,32 Bc	90,92 Bd	95,81 Bb	97,92 Aa
	RS	96,76 Ab	97,70 Aab	98,03 Aab	98,66 Aab	98,01 Aab
Treonina	MG	90,19 Bb	89,91 Bb	89,52 Bb	93,47 Ba	93,95 Ba
	RS	95,18 Ab	95,64 Ab	95,36 Ab	96,12 Ab	97,44 Aa
Arginina	MG	98,60 Bd	98,83 Bc	98,91 Bc	99,46 Ab	99,82 Aa
	RS	99,52 Aa	99,53 Aa	99,57 Aa	99,58 Aa	99,58 Ba
Gli+Ser	MG	90,38 Bb	90,54 Bb	90,44 Bb	90,63 Bb	93,01 Aa
	RS	92,81 Ab	92,24 Ab	92,48 Ab	92,50 Ab	93,74 Aa

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna A, B e letras minúsculas na mesma linha, b significa diferença estatística SNK ($P < 0.05$).

Tabela 12 – Continuação....

Aminoácidos (AA)	Farelo de soja	Enzima				
		Sem	Prot1	Prot2	VP	Proact
Valina	MG	90,54 Ab	91,94 Aa	90,58 Ab	92,77 Aa	89,57 Ab
	RS	87,70 Bb	87,46 Bb	88,89 Bab	89,32 Bab	90,04 Aab
Isoleucina	MG	88,60 Bc	90,18 Aabc	89,40 Abc	91,43 Aab	90,81 Babc
	RS	90,02 Ab	89,62 Ab	90,61 Ab	91,13 Aab	92,35 Aab
Leucina	MG	88,52 Bc	90,08 Abc	89,10 Bbc	91,29 Aa	91,46 Aa
	RS	90,45 Aa	89,99 Aa	90,71 Aa	90,76 Aa	91,12 Aa
Histidina	MG	90,82 Bc	92,10 Bb	91,19 Bc	95,24 Aa	95,66 Aa
	RS	93,20 Aa	93,02 Aa	93,57 Aa	94,11 Ba	94,16 Ba
Alanina	MG	89,14 Ab	89,32 Bb	88,76 Bb	91,46 Aa	92,22 Aa
	RS	89,70 Ab	91,26 Aab	91,35 Aab	91,65 Aab	90,45 Bab
Acido aspártico	MG	95,23 Aab	95,47 Aab	94,61 Bb	95,68 Aab	96,13 Aab
	RS	94,29 Bc	95,10 Ab	95,63 Ab	94,05 Bc	96,69 Aa
Ácido glutâmico	MG	96,07 Ab	96,84 Aa	95,54 Bc	96,19 Ab	97,21 Aa
	RS	95,61 Bc	96,27 Bb	96,86 Aa	96,26 Ab	96,72 Ba
Cistina	MG	92,27 Bc	92,01 Bc	88,92 Bd	94,16 Bb	98,21 Aa
	RS	96,80 Ab	98,73 Aab	98,68 Aab	98,91 Aab	97,67 Aab
Prolina	MG	88,43 Bc	87,74 Bc	87,01 Bc	91,64 Bb	94,27 Aa
	RS	93,62 Aa	92,91 Aa	93,18 Aa	93,57 Aa	93,42 Aa

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna A, B e letras minúsculas na mesma linha significa diferença estatística SNK ($P < 0.05$).

O farelo de soja de origem MG quando suplementado com a enzima Proact obteve melhor coeficiente de digestibilidade para a soma de AAT, soma de AAnE, Met+Cist, arginina, Gli+Ser, cistina e prolina quando comparado aos tratamentos sem enzima e com a suplementação de Prot1, Prot 2 e VP. O farelo de soja MG suplementado com a enzima VP proporcionou melhora nos coeficientes de digestibilidade. Entretanto inferior a suplementação com a enzima Proact obtendo resultados iguais para a soma de AAE e para os teores de lisina, de metionina, de treonina, de leucina, de histidina e alanina ($p < 0,05$).

A suplementação do farelo de soja MG com as enzimas Prot1 e Prot 2 não proporcionou melhora nos CD ($p>0,05$) dos aminoácidos exceto para metionina e ácido glutâmico. Para esses aminoácidos a suplementação da enzima Prot1 proporcionou o mesmo valor de CD que a enzima Proact ($p<0,05$).

Para o aminoácido arginina a suplementação com as enzimas Prot1 e Prot2 proporcionou melhores CD que a não suplementação ($p<0,05$), mas piores que as enzimas VP e Proact ($p<0,05$). Já para o aminoácido valina a suplementação com a enzima Prot1 proporcionou valor de CD igual a enzima VP a qual proporcionou melhor resultado de coeficientes de digestibilidade a este aminoácido ($p<0,05$).

O farelo de soja RS suplementado com a enzima Proact obteve valores de CD melhores ($p<0,05$) para os aminoácidos treonina, Gli+Ser, ácido aspártico e ácido glutâmico quando comparado aos tratamentos sem enzima, Prot1, Prot 2 e VP, com exceção para o ácido glutâmico no qual foi melhor ($p<0,05$) quando usado a enzima Prot 2.

Os valores dos CD do farelo de soja RS foram melhores ou iguais ($p<0,05$) aos CD do farelo de soja MG, exceto para o aminoácido valina e para lisina onde o farelo de soja MG adicionado das enzimas Proact e VP foram melhores ($p<0,05$).

Analisando o uso de enzimas nos farelos de soja observou-se melhora na homogeneidade dos CD em especial quando suplementou com a enzima Proact e com a enzima VP. Quando não suplementou com enzima apenas 4 CD dos aminoácidos foram iguais ($p<0,05$) entre os farelos de soja, mas quando adicionado as enzimas os valores dos coeficientes de digestibilidade ficaram mais homogêneos com 11 e 9 CD dos aminoácidos iguais entre os farelos de soja para as enzimas Proact e VP respectivamente.

DISCUSSÃO

Ao avaliar a EMA constata-se que os valores para o farelo de soja MG foram maiores ($p<0,05$) que para o farelo de soja RS com valores de 3188 Kcal/Kg e de 3121 Kcal/Kg respectivamente; diferença de 67 Kcal/cal de MS. Essa diferença pode se explicada devido à energia bruta (EB) dos farelos de soja ser diferentes. Com

valores de 4683 Kcal/Kg (MS) para o farelo de soja MG e 4635 Kcal/Kg (MS) para o farelo de soja RS com uma diferença de 48 Kcal/Kg.

Os valores de EMAn dos farelos de soja foram de 2700 Kcal/Kg (MS) para o farelo de soja MG e de 2549 Kcal/Kg (MS) para o farelo de soja RS com uma diferença de 151 Kcal/Kg. Essa maior diferença pode ser explicada por dois motivos aditivos. Um é pelo fato da EB do farelo de soja MG ser maior do que a EB do farelo de soja RS e o outro pode ser devido a retenção de nitrogênio do farelo de soja RS suplementado com a enzima Proact ser maior ($p < 0,05$) que a do farelo de soja suplementado com a enzima Proact com proporções de 62,52 % e de 57,69 %. Essa diferença pode ter influenciado no aumento da diferença quando feita a correção pelo balanço de nitrogênio. Segundo Sakomura & Rostagno (2007), aves com diferentes graus de retenção nitrogenada proporcionam diferentes valores de energia excretada para a mesma digestibilidade do alimento pelo fato de que, em aves em crescimento, a proteína retida no corpo da ave e, conseqüentemente, não catabolizada até os produtos de excreção nitrogenada, não contribui para a energia das fezes e urina.

O valor médio de EMAn dos farelos de soja foi de 84 kcal/kg (MS), maior do que a energia publicada por Rostagno et al., (2011). Esta diferença pode ser devido à utilização de fitase na ração basal.

As enzimas proteases são capazes de promover melhora na digestibilidade de aminoácidos por aumentar a hidrólise de proteínas e aumentar a solubilidade de proteínas (Caine et al., 1998). Isso explica a melhora no coeficiente de digestibilidade da maioria dos aminoácidos quando utilizada a protease Proact, com aumentos de 1,9% para a soma dos AAT, 2,2% para a soma dos AAE, 2,5% para lisina, 2,2% para metionina, 4,4% para Met+Cis e 4,2% para treonina. Valores inferiores aos citados por Messias, (2014) e Bertechini, (+2010). Isso pode ser pelo fato de todas as dietas formuladas para a realização deste trabalho ter sido suplementada com a enzima fitase. O fitato se liga a outros minerais além do Fósforo, e pode conjugar com proteínas e carboidratos, sendo assim, a digestão dessa molécula pode potencialmente liberar minerais, aminoácidos e energia (Leeson; Summers, 2005). Além de interferir na absorção de aminoácidos inibe a atividade da pepsina, tripsina e α -amilase (Sebastian; Touchburn; Chaves, 1998).

Dentre as enzimas testadas a enzima Proact foi a que proporcionou melhores resultados nos CD dos aminoácidos e em seguida foi a enzima VP. (<0,05). Possíveis mecanismos de ação da enzima carboidrase em dietas de aves incluem: melhoria do acesso das enzimas endógenas ao conteúdo celular devido à hidrólise dos arabinoxilanos da parede celular (Cowieson, 2005), aumento de enzimas digestivas em animais jovens, em particular de amilase (Ritz et al, 1995; Gracia et al, 2003), modulação da microflora intestinal (Fernandez et al., 2000) e a redução das perdas de AA endógenos, particularmente através de mudanças na amilase pancreática (Jiang et al., 2008) e secreção de mucina (Cowieson e Bedford, 2009). Esses fatores podem explicar o motivo de uma carboidrase proporcionar melhora nos coeficientes de digestibilidade de alguns aminoácidos, obtendo resultados até melhores do que as enzimas Prot 1 e Prot 2 que são proteases.

De forma geral o farelo de soja RS suplementado com as enzimas Prot1, Prot2, VP e Proact obteve melhores coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos, mostrando ser um farelo de melhor qualidade nutricional. O fato de dois farelos de soja de origem diferente não possuírem a composição nutricional ou um ser mais digestível que o outro é uma coisa normal. Devido a variedade do alimento cultivado, o sistema de cultivo adotado, a adubação realizada, o clima da região de produção, o processamento dos ingredientes, a forma de armazenamento, a amostra analisada e os protocolos experimental e laboratorial de avaliação (Morata, 2008).

Foi observado melhor homogeneidade entre os coeficientes de digestibilidade do farelo de soja MG e o farelo de soja RS quando adicionado a enzima Proact. Essa observação está de acordo com Ravindran, (2013) que diz que a suplementação da protease diminui a variabilidade do valor nutritivo entre lotes de ingredientes elevando o valor nutricional dos alimentos de má qualidade reduzindo a variação entre os alimentos de boa e de má qualidade.

CONCLUSÃO

As enzimas Prot1, Prot2, VP e Proact não promoveram aumentos nos valores de EMA e de EMAN dos farelos de soja MG e RS. O farelo de soja MG tem maior valor de EMA e EMAN do que o farelo de soja RS.

A enzima Proact adicionada ao farelo de soja RS proporcionou maior retenção de nitrogênio aos frangos de corte.

Entre as enzimas testadas a enzima Proact é a que proporciona melhores valores de coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos do farelo de soja MG com aumentos de 1,9% para a soma dos AAT, 2,2% para a soma dos AAE, 2,5% para lisina, 2,2% para metionina, 4,4% para Met+Cis e 4,2% para treonina. E em seguida a enzima VP. As enzimas Prot 1 e Prot 2 não promovem melhora significativa nos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos.

No geral os aminoácidos do farelo de soja RS são mais digestíveis do que os aminoácidos do farelo de soja MG. Entretanto quando adicionado a enzima Proact ocorre maior homogeneização entre os coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos dos farelos de soja MG e RS.

REFERÊNCIAS

Adeola, O., Cowieson, A.J., 2011. Opportunities and challenges in using enzymes to improve nonruminant animal production. **J. Anim. Sci.** 89, 3189–3218.

Annison, G. 1992. Commercial enzyme supplementation of wheat based diets raises ileal glycanase activities and improves apparent metabolizable energy, starch and pentosan digestibilities in broiler chickens. **Anim. Feed Sci. Technol.** 38:105–121.

Bach Knudsen, K. E. 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. **Anim. Feed Sci. Technol.** 67:319–338.

Bedford, M. R., and H. L. Classen. 1992. Reduction of intestinal viscosity through manipulation of dietary rye and pentosanase concentration is affected through changes in the carbohydrate composition of the intestinal aqueous phase and results in improved rates and food conversion efficiency of broiler chicks. **J. Nutr.** 122:560–569.

Belles, A.M., Montville, T.J., Wasserman, B.P., 2000. Enzymatic removal of zeins from the surface of maize starch granules. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.** 24, 71–74.

BERTECHINI, A.G; CARVALHO, J.C.C.; MEQUITA, F.R; CASTRO, S.F; MENEGHETTI, C; SORBARA, J.O.B. Use of protease to enhance the utilization of Soybean meal amino acids by broilers. Poultry Science meeting 2010, Denver, CO, USA.

Caine, W.R., Verstegen, M.W.A., Sauer, W.C., Tamminga, S., Schulze, H., 1998. Effect of protease treatment of soybean meal on content of total soluble matter and crude protein and level of soybean trypsin inhibitors. **Anim. Feed Sci. Technol.** 71, 177–183.

Choct, M. 2006. Enzymes for the feed industry: Past, present and future. *World's Poult. Sci. J.* 62:5–16.

Cowieson, A.J., 2005. Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 119, 293–305.

Cowieson, A.J., 2010. Strategic selection of exogenous enzymes for maize/soy-based poultry diets. *J. Poult. Sci.* 47, 1–7.

Cowieson, A.J., Bedford, M.R., 2009. The effect of phytase and carbohydrase on ileal amino acid digestibility in monogastric diets: complementary mode of action? *Worlds Poult. Sci. J.* 65, 609–624.

Fernandez, F., Sharma, R., Hilton, M., Bedford, M.R., 2000. Diet influences the colonization of *Campylobacter jejuni* and distribution of mucin carbohydrates in the chick intestinal tract. *Cell. Mol. Life Sci.* 57, 1793–1801.

Gracia, M.I., Aranibar, M.J., Lazaro, R., Medel, P., Mateos, G.G., 2003. α -Amylase supplementation of broiler diets based on corn. *Poult. Sci.* 82, 436–442.

Jiang, Z., Zhou, Y., Lu, F., Han, Z., Wang, T., 2008. Effects of different levels of supplementary alpha-amylase on digestive enzyme activities and pancreatic amylase mRNA expression of young broilers. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 21, 97–102.

JOSLYN, M. A. methods in food analysis. physical, chemical and instrumental methods of analysis. *Coll. Of agric. Sci., Dept. of nutritional sci., univ., Berkeley, California, USA.* 1970 pp. xix + 845 pp.

L.F. Romeroa, C.M. Parsons, P.L. Utterback, P.W. Plumstead, V. Ravindran. Comparative effects of dietary carbohydrases without or with protease on the ileal digestibility of energy and amino acids and AMEn in young broilers, *Animal Feed Science and Technology* 181 (2013) 35– 44.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. Commercial Poultry nutrition. 3rd Ed. Nottingham: University Press, 2005

M. Frikhana, M.P. Serrano, D.G. Valencia^{a,1}, P.G. Rebollara, J. Fickler^b, G.G. Mateos Correlation between ileal digestibility of amino acids and chemical composition of soybean meals in broilers at 21 days of age. *Animal Feed Science and Technology* 178 (2012) 103– 114.

Maisonnier-Grenier, S., F. Rouffineau, and P. A. Geraert. 2004. Enzyme versatility: Key for efficacy in various feedstuffs and species. World Poultry Congress, Istanbul, Turkey. **World's Poultry Science Association**, Ankara, Turkey.

McAllister, T.A., Phillippe, R.C., Rode, L.M., Cheng, K.J., 1993. Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms. *J. Anim. Sci.* 71, 202–212.

MESSIAS, R. K. G. **Avaliação nutricional de enzimas exógenas em dietas para frangos de corte.** Viçosa – MG, 2014. 86p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2014.

MORATA, R. L. **Valor nutritivo de alimentos, deposição de nutrientes e desempenho de frangos de corte**. Viçosa – MG, 2008. 182p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2008.

O. A. Olukosi, L. A. Beeson, K. Englyst and L. F. Romero. Effects of exogenous proteases without or with carbohydrases on nutrient digestibility and disappearance of non-starch polysaccharides in broiler chickens. 2015 **Poultry Science** 94:2662–2669.

Qin, G.X., Verstegen, M.W.A., Van der Poel, A.F.B., 1998. Effect of temperature and time during steam treatment on the protein quality of full-fat soybean from different origins. **J. Sci. Food Agric.** 77, 393–398.

Ritz, C.W., Hulet, R.M., Self, B.B., Denbow, D.M., 1995. Endogenous amylase levels and response to supplemental feed enzymes in male turkeys from hatch to eight weeks of age. **Poult. Sci.** 74, 1317–1322.

Romero, L. F., C. M. Parsons, P. L. Utterback, P. W. Plumstead, and V. Ravindran. 2013. Comparative effects of dietary carbohydrases without or with protease on the ileal digestibility of energy and amino acids and AMEn in young broilers. **Anim. Feed Sci. Technol.** 181:35–44.

Romero, L. F., J. S. Sands, S. E. Indrakumar, P. W. Plumstead, S. Dalsgaard, and V. Ravindran. 2014. Contribution of protein, starch, and fat to the apparent ileal digestible energy of corn- and wheat-based broiler diets in response to exogenous xylanase and amylase without or with protease. **Poult. Sci.** 93: 1–13.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais de Aves e Suínos (Tabelas Brasileiras)**. Universidade Federal de Viçosa. p.186, Viçosa – MG, 2011.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: Funep, 283p, 2007.

SAS Institute, Inc., 2009. SAS OnlineDocR Version 9.1.3, Cary, NC, USA.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R. Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: a review. *World's Poultry Science Journal*, Wallingford, v. 54, n. 1, p. 27-47, Mar. 1998.

SILVA, D. J. & QUEIROZ, A. C. 2002. **Análise de Alimentos (Métodos químicos e biológicos)**, 3ª ed, Viçosa: UFV. 235p.

V. Ravindran. Feed enzymes: The science, practice, and metabolic realities. 2013. **J. Appl. Poult. Res.** 22 :628–636.

Zanella, I., N. K. Sakomura, F. G. Silversides, A. Figueirido, and M. Pack. 1999. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. **Poult. Sci.** 78:561–568.

ARTIGO 2

AVALIAÇÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS EM DIETAS FORMULADAS COM DOIS DIFERENTES FARELOS DE SOJA PARA FRANGOS DE CORTE

**AVALIAÇÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS EM DIETAS FORMULADAS
COM DOIS DIFRENTES FARELOS DE SOJA PARA FRANGOS DE CORTE**

**EVALUATION OF EXOGENOUS ENZYMES IN DIETS FORMULATED
WITH TWO DIFFERENT SOYBEAN MEAL FOR BROILER**

RESUMO

Objetivou-se com esse experimento avaliar o desempenho de frangos de corte submetidos a dietas com dois farelos de soja de regiões diferentes, suplementados ou não com enzimas. Para a realização deste experimento foram utilizados 1920 pintos machos da linhagem Cobb 500 de 1 a 21 dias de idade. O delineamento experimental foi em blocos casualizado, com 12 tratamentos e 8 repetições de 20 aves por unidade experimental. Os tratamentos se constituirão de dois diferentes farelos de soja com adição ou não de enzimas (sem enzima, Prot1, Prot2, VP e ProAct) em dietas com redução de 2,6% de proteína bruta e 3,5% de redução dos aminoácidos lisina, metionina + cistina, treonina e valina das exigências mais um controle positivo com os níveis de proteína bruta e aminoácidos corrigidos para cada farelo de soja formando um fatorial 5x2 + 2. Os tratamentos foram: T1: sem enzima com redução + farelo de soja MG, T2: T1 + Prot 1, T3: T1 + Prot 2, T4: T1 + VP, T5: T1 + Proact, T6: Sem enzima corrigido + farelo de Soja MG, T7: sem enzima com redução + farelo de soja RS, T8: T7 + Prot 1, T9: T7 + Prot 2, T10: T7 + VP, T11: T7 + Proact e T12: sem enzima corrigido + farelo de soja RS. As aves foram pesadas com 1 e aos 21 dias de idade para determinação do ganho de peso. Foram registrados os fornecimentos e sobra de rações e a mortalidade para cálculo do consumo de ração, conversão alimentar e Índice de Eficiência Produtiva (IEP). O farelo de soja oriundo do Rio grande do Sul promoveu melhores resultados de desempenho s ($p < 0,05$). Os resultados encontrados para o fator enzima foi igual ($p < 0,05$) para as variáveis de desempenho.

Palavra chave: Enzima, Farelo de Soja e Frangos de corte.

ABSTRACT

The objective of this experiment was to evaluate the performance of broiler chickens fed diets with exogenous enzymes and two soybeans meal from different

regions. For this experiment we used 1920 chicks males of Cobb 500 1-21 days old. The experimental design was randomized blocks with 12 treatments and 8 repetitions of 20 birds each. The treatments constitute two different soybean meal with supplemented or not with enzymes: Prot1, Prot 2, VP and Proact in diets with a reduction of 2.6% crude protein and 3.5% reduction of the amino acids lysine, methionine +cystine, threonine and valine requirements plus a positive control with the crude protein and amino acid levels corrected for each soybean meal forming a 5x2 + 2 factorial arrangement. The treatments were: T1: without enzyme with reduced + soybean meal MG, T2: Prot 1 + MG soybean meal, T3: Prot 2 + MG soybean meal, T4: VP + MG soybean meal, T5: Proact + MG soybean meal, T6: without enzyme corrected + MG Soybean meal , T7: no enzyme with reduced + RS soybean meal, T8: Prot 1 + RS soybean meal, T9: PROT 2 + RS soybean meal, T10: VP + RS soybean meal, T11: Proact + soybean meal RS and T12: without enzymecorrected + RS soybean meal. The birds were weighed at 1 and at 21 days of age for determination of weight gain. Supplies, feed left and mortality to calculate the feed intake, feed conversion and Productive Efficiency Index (PEI) were monitored. Soybean meal from RS promoted better results in performance variables ($p < 0.05$). Treatments added or not with enzyme did no influence ($p > 0.05$) on performance variables.

Key words: Enzymes, Soybean meal and Broilers.

INTRODUÇÃO

A produção de frangos de corte no Brasil esta em destaque a algum tempo no mercado mundial, devido a demanda por produtos de origem animal e a nutrição de precisão. Mas para que continue no mesmo patamar é importante que continue a busca pela melhor eficiência produtiva. Haja vista que os custos de produção são altos e a nutrição é responsável por 75% dos custos totais.

Então a importância de uma ração de menor custo e índices produtivos elevados, são desafios para os nutricionistas. Outra problemática e a não uniformidade da matéria prima utilizada para produzir as rações para os frangos. Porque de acordo com Nagata et al., (2004) os alimentos utilizados nas rações

possuem algumas diferenças em suas composições, pois regiões geográficas, condições de plantio, fertilidade de solo, variabilidade genética dos cultivares, formas de armazenamento e processamento dos grãos vegetais, são fatores que influenciam nos valores nutricionais dos alimentos.

Os avanços na área de biotecnologia têm contribuído na área de nutrição animal, por meio da elaboração de aditivos que possibilitam melhorar a produção, auxiliando a atingir melhores resultados econômicos e produzir alimentos de qualidade, com maior segurança aos consumidores. Nesse conceito, as enzimas são os aditivos alimentares comumente utilizados nas rações de monogástrico e que são incorporadas nas dietas com o objetivo de melhorar o desempenho zootécnico, atuando como catalisadores biológicos agindo no metabolismo dos animais (Salominsk, 2011).

Como podem existir diferenças nos alimentos devido a fatores já relatados, a utilização de farelos de soja de diferentes regiões pode ocasionar diferença no desempenho dos frangos de corte. A utilização de enzimas exógenas em rações de frangos de corte pode melhorar o aproveitamento dos nutrientes do farelo de soja que por algum motivo possa estar em piores condições.

Dessa forma objetiva-se avaliar o efeito de diferentes enzimas exógenas e farelos de soja de diferentes origens sobre o desempenho de frangos de corte.

MATERIAL E METODOS

O experimento foi realizado no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa (UFV), no período de janeiro a abril de 2015 de acordo com as exigências do comitê de ética (processo nº 101/2014).

Os animais foram alojados em um galpão de alvenaria subdividido internamente por boxes também de alvenaria com dimensões de 2 metros de comprimento e 1 metro de largura, equipado com bebedouro tipo nipple, comedouro tubular e lâmpada de aquecimento, o piso é de concreto, sendo utilizado como cama a maravalha.

Foram utilizados 1920 frangos de corte machos da linhagem Cobb 500[®] de 1 a 21 dias de idade, pesados e distribuídos em delineamento experimental em blocos

casualizado em arranjo fatorial 5 x 2 + 2 controles; um para cada farelo de soja, formando 12 tratamentos com 8 repetições cada de 20 aves por unidade experimental. Na formulação das rações experimentais foram utilizados dois farelos de soja provenientes de diferentes regiões (FS MG e FS RS) suplementados ou não com enzimas. Os respectivos tratamentos se encontram na tabela 13.

Tabela 13. Descrição dos tratamentos experimentais.

Tratamentos	Dieta
T1	Sem enzima (FS - MG)
T2	T1 + Prot1
T3	T1 + Prot2
T4	T1 + VP
T5	T1 + Proact
T6	Sem enzima corrigido (FS – MG)
T7	Sem enzima (FS – RS)
T8	T7+ Prot1
T9	T7 + Prot2
T10	T7 + VP
T11	T7 + Proact
T12	Sem enzima corrigido (FS – RS)

As dietas foram formuladas com uma redução de 2,6% de proteína bruta e de 3,5% de redução dos aminoácidos lisina, metionina + cistina, treonina e valina das recomendações de Rostagno et al. (2011). Tendo um tratamento de cada farelo de soja corrigido com aminoácidos industriais para as recomendações de Rostagno et al. (2011) sendo este o tratamento controle. As formulações das dietas estão dispostas na Tabela 14.

As enzimas utilizadas “on top” foram duas proteases (Prot1 e Prot2) estas foram diluídas com inerte para que tivesse a mesma quantidade de inclusão 1000g/T, a Ronozyme VP e a Ronozyme ProAct foram incluídas em 200 g/T.

Tabela 14. Composição centesimal das dietas.

Alimento	Com redução	Controle
Milho	60,160	60,160
Farelo de soja	33,468	33,468
Óleo	1,943	1,943
Fosfato bicálcico	1,544	1,544
Amido	0,500	0,315
Calcário	0,908	0,908
Sal	0,482	0,482
DL-Metionina, 99%	0,267	0,297
L-Lisina, 79%	0,200	0,253
L-Treonina, 98%	0,050	0,078
L-Valina, 99%	0,013	0,047
L-Arginina, 99%	-	0,003
Glicina	-	0,037
Suplemento Vitamínico ¹	0,125	0,125
Suplemento Mineral ²	0,125	0,125
Cloreto de Colina, 60%	0,100	0,100
Salinomicina, 12% ³	0,055	0,055
Avilamicina, 10% ⁴	0,050	0,050
BHT ⁵	0,010	0,010
Total	100,000	100,000
Composição calculada		
EM, Kcal/Kg	3000	3000
Proteína bruta, %	20,255	20,255
Cálcio, %	0,819	0,819
Fosforo disponível, %	0,395	0,395
Sódio, %	0,210	0,210
Arginina digestível	1,265	1,268
Gli + Ser digestível	1,690	1,726
Isoleucina digestível	0,787	0,787
Lisina digestível	1,132	1,174
Met + Cis digestível	0,816	0,846
Treonina digestível	0,736	0,763
Triptofano digestível	0,224	0,224
Valina digestível	0,871	0,904

¹Composição por kg de ração: vit. A, 8.250 UI; vit. D3, 2.090 UI; vit. E 31 UI; vit. B1, 2,20mg; vit B2, 5,50 mg; vit. B6, 3,08 mg; ác. pantotênico, 11,0 mg; biotina, 0,077 mg; vit. K3, 1,65 mg; ácido fólico, 0,770 mg; ácido nicotínico 33,0 mg; vit. B12, 0,013 mg; selênio, 0,330 mg.

² Composição por kg de ração: manganês, 77,0 mg; ferro, 55,0 mg; zinco, 71,5 mg; cobre, 11,0 mg; iodo 1,10 mg.

³Anticoccidiano (Coxistac)

⁴Promotor de crescimento (Surmax)

⁵ButilHidroxi Tolueno (BHT)

A Ronozyme VP é uma carboidrase produzida partir de *Aspergillusaculeatus* e contém 50 FGB/g de endo-1,3(4)- β -glucanase, além de possuir atividade de pentosanase, de hemicelulase e de pectinase. A Ronozyme Proact® é uma protease produzida pela fermentação de *Bacillus lincheniformis* contendo genes transcritos de *Nocardioopsisprasin*a. A atividade enzimática para esta enzima é definida pela quantidade de enzima necessária pra degradar 1 μ mol de p-nitroaniline a partir de 1 μ M do substrato (Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-N-succinyl Ala-Ala-Pro-Phe-p-nitroanilide) por minuto em um pH de 9,0 e 37° C. O Produto utilizado possui 75000 unidades de protease/ g de enzima. Estas fornecidas pela DSM Nutricional Products. A PROT 1 - Cibenza DP100 é uma protease produzida a partir de *Bacillus licheniformis* contém 600 protease units/g. A PROT 2 – Poultry Grow é uma protease produzida a partir de *Streptomyces fradie* containing 25,000 units/g.

Durante todo o período experimental as aves receberam ração e água à vontade e diariamente foram registradas as temperaturas máximas e mínimas no interior das instalações, por meio de quatro termômetros colocados na altura das aves localizados em diferentes partes da instalação. O programa de luz utilizado no experimento foi o contínuo (24 horas de luz natural + artificial).

Diariamente, todas as unidades experimentais foram verificadas para retirar as aves doentes e mortas. Em caso de morte ou de aves doentes, foi registrado para posterior correção do consumo de ração e da conversão alimentar.

As aves e as rações foram pesadas no início e no final do experimento, para obter os parâmetros de ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar do primeiro aos 21 dias de idade.

Os dados de ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar foram submetidos a Análise de Variância por intermédio do software SAS utilizando o procedimento GLM a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

Não foi observada resposta significativa estatisticamente ($p>0,05$) para interação entre os fatores enzima e farelo de soja para todas as variáveis dependentes estudadas. Portanto os dados foram estudados de forma independente.

Tabela 15: Médias dos tratamentos para as variáveis respostas avaliadas Consumo (g), Ganho de peso (g), Conversão alimentar (Kg/Kg) e Índice de eficiência produtiva (IEP).

Farelo de soja	Enzima	Consumo, Kg	Ganho de Peso, g	Conversão alimentar, Kg/Kg	IEP
Minas Gerais (MG)	S/enzima	1183	843,57	1,40	302
	PROT 1	1148	847,83	1,35	310
	PROT 2	1155	846,59	1,36	311
	VP	1187	852,14	1,38	309
	PROACT	1170	852,97	1,37	308
	Controle	1172	857,47	1,37	307
Rio Grande do Sul (RS)	S/enzima	1195	867,42	1,38	315
	PROT 1	1208	888,62	1,36	325
	PROT 2	1196	880,10	1,36	324
	VP	1187	877,70	1,35	325
	PROACT	1208	889,82	1,35	323
	Controle	1193	884,24	1,35	328
Médias Principais					
Enzima	S/enzima	1189	855,50	1,39	308
	PROT 1	1178	868,23	1,36	317
	PROT 2	1176	863,35	1,36	318
	VP	1187	864,92	1,37	317
	PROACT	1186	871,40	1,36	316
	Controle	1182	870,86	1,36	317
Farelo de soja	MG	1,169 B	850,10 B	1,37 A	308 B
	RS	1,197A	881,32 A	1,36 B	323 A
ANOVA P-Valor	Farelo de soja	0,0008	<0,0001	0,0357	<0,0001
	Enzima	0,9498	0,5227	0,0955	0,5880
	Enz * FS	0,5022	0,9214	0,7394	0,9866
	CV	3,49	2,97	2,58	5,16

Letras diferentes na mesma coluna significa diferença estatística. ANOVA (<0,05)

Dessa forma para todas as variáveis dependentes consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar e Índice de eficiência produtiva (IEP) o fator farelo de soja oriundo do estado de Rio Grande do Sul obteve resultados melhores quando o comparando com o farelo de soja de origem do estado de Minas Gerais ($p < 0,05$). Para o fator enzima não foi observada diferença entre as enzimas estudadas ($p > 0,05$) e nem com o tratamento controle no qual foi corrigido para atender as exigências de Rostagno et al., 2011. Entretanto foi observado uma melhora considerável em todas

as variáveis dependentes em especial a protease proact que proporcional uma melhora de 16 gramas no ganho de peso e 8 pontos no IEP. Já para conversão alimentar houve uma tendência ($p=0,09$) para diferença entre as enzimas e o tratamento sem enzima, com uma melhora na conversão alimentar de 0,03%.

DISCUSSÃO

O fato de não ter encontrado diferença estatística entre os tratamentos com redução da proteína bruta de 2,6% e dos aminoácidos lisina, metionina, treonina e valina de 3,5% com o tratamento com redução sem enzima pode ser explicado pela baixa porcentagem de redução desses nutrientes. Pois Angel et al.(2011) ao formular dietas experimentais com redução de 9% e 10% aproximadamente de proteína bruta e aminoácidos respectivamente obteve diferença entre os tratamentos com enzima e sem enzima para ganho de peso e conversão alimentar no qual a enzima foi capaz de melhorar o desempenho de frangos de corte quando submetidos a uma dieta com redução de proteína bruta e aminoácidos.

Mas quando comparado à utilização da enzima com o tratamento controle sem redução de nutrientes os valores de desempenho foram iguais. Mostrando que a utilização da enzima é capaz de dar resultados satisfatórios quando a redução dos nutrientes for capaz de prejudicar o desempenho das aves. Messias, (2014) utilizando dietas com redução de 8% e 9% aproximadamente de proteína bruta e aminoácidos respectivamente não encontrou diferença para ganho peso quando comparando o tratamento com redução com o tratamento com redução mais a enzima protease. Em contra partida o tratamento sem redução de nutrientes foi melhor que o tratamento com redução mais enzima protease.

A diferença encontrada entre o farelo de soja oriundo do Rio Grande do Sul e farelo de origem de Minas Gerais pode ser por vários motivos de acordo com Morata, (2008) vários fatores influenciam a composição química e energética do ingrediente, entre eles destacam-se a variedade do alimento cultivado, o sistema de cultivo adotado, a adubação realizada, o clima da região de produção, o processamento dos ingredientes, a forma de armazenamento, a amostra analisada e os protocolos experimental e laboratorial de avaliação. Essas variáveis podem ser bem expressivas, pois é de conhecimento a grande diferença climática entre esses estados.

A tendência de diferença estatística para a conversão alimentar com uma melhora de 0,03% dos tratamentos com enzima contra o tratamento sem enzima é considerável a nível de campo onde qualquer melhora na conversão proporciona uma economia considerável tanto pelo volume de ração consumida quanto pelo seu custo.

CONCLUSÃO

A utilização de enzimas exógenas protease e carboidrase em rações a base de milho e de farelo de soja não melhorou estatisticamente o desempenho de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, independente se o farelo de soja é de origem do Rio Grande do Sul ou de Minas Gerais. Entretanto houve uma melhora considerável em todos os parâmetros estudados quando suplementado com enzima, em especial para a protease Proact.

A utilização do farelo de origem do Rio Grande do Sul proporciona melhor resultado do desempenho de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade quando comparado com farelo de soja de origem de Minas Gerais.

REFERÊNCIAS

ANGEL C. R., SAYLOR W., VIEIRA S. L. Effects of a monocomponent protease on performance and protein utilization in 7- to 22-day-old broiler chickens. **Poultry Science**90:2281–2286 2011

ROSTAGNO, H.S. et al. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais de Aves e Suínos (**Tabelas Brasileiras**). Universidade Federal de Viçosa. p.186, Viçosa – MG, 2011.

SALOMINSKI, B. A. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. **Poultry Science**, v. 90, n. 9, p. 2013-2033. Sept. 2011.

NAGATA, A. K.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. F. et al. Energia metabolizável de alguns alimentos energéticos para frangos de corte determinada por ensaios metabólicos e por equações de predição. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 3, p. 668 – 677, 2004.

MORATA, R. L. **Valor nutritivo de alimentos, deposição de nutrientes e desempenho de frangos de corte**. Viçosa – MG, 2008. 182p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2008.

MESSIAS, R. K. G. **Avaliação nutricional de enzimas exógenas em dietas para frangos de corte**. Viçosa – MG, 2014. 86p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2014.

SAS Institute, Inc., 2009. SAS OnlineDocR Version 9.1.3, Cary, NC, USA.