

# Avicultura

INDUSTRIAL.COM.BR

ISSN 1516-3105

Nº 04|2022 | ANO 113 | Edição 1318 | R\$ 26,00



## Qualidade para exportar

Os primeiros cinco meses do ano apontam crescimento nas vendas externas do ovo brasileiro, melhor resultado dos últimos cinco anos



### ESCASSEZ HÍDRICA

Como o reúso de água pode impactar positivamente a competitividade da avicultura brasileira



### EVOLUÇÃO TECNOLÓGICA

100 anos de conhecimento científico sobre o manuseio e os processos de refrigeração de ovos

# EQUAÇÕES DE PREDIÇÃO DA ENERGIA METABOLIZÁVEL *IN VITRO* DE MILHO PARA FRANGOS DE CORTE

*Importantes ferramentas para determinar os coeficientes de digestibilidade e a energia metabolizável dos alimentos de forma indireta, as equações de predição utilizam informações bromatológicas para ajustar as equações e minimizar o efeito da variabilidade nutricional*

**Por** | Jardel Andrei Müller<sup>1</sup>, Fernando de Castro Tavernari<sup>2</sup>, Noé Francisco da Fonseca<sup>2</sup>, João Marini<sup>2</sup>, Herbert Rech<sup>3</sup>, Terezinha Marisa Bertol<sup>2</sup>, Arlei Coldebella<sup>2</sup>, Jorge Victor Ludke<sup>2</sup>, Gerson Neudi Scheuermann<sup>2</sup>

O milho é caracterizado como uma excelente fonte de carboidratos para animais não-ruminantes, pois apresenta baixo nível de fibras e polissacarídeos não amiláceos solúveis quando comparado a outros alimentos como o trigo e a cevada (ODJO *et al.*, 2015). Conforme Loy e Lundy (2019), além de fornecer a maior parte da energia requerida na ração, o milho também possui óleo poli-insaturado e ácidos graxos essenciais, como o ácido linoleico; contém quantidades significativas de aminoácidos sulfurados, como a cisteína e metionina; e pequena quantidade de lisina e triptofano, tornando a mistura com o farelo de soja muito interessante, pois este apresenta boa quantidade desses dois aminoácidos essenciais. A qualidade do milho é dependente de uma série de fatores, entre eles a variedade genética do cultivar, momento da colheita, processamento térmico para a secagem do grão, qualidade do armazenamento, dureza do grão (vitreosidade), qualidade da moagem e tamanho da partícula do grão moído (ODJO *et al.*, 2015). Além disso, também podemos citar a forma como o milho é cultivado, relacionando com o clima da região, manejo do solo e adubação, controle de pragas e doenças, processamento e controle de qualidade do grão na unidade de fabricação de ração, entre outros fatores determinantes da qualidade final da matéria-prima. Tudo isso impacta nos coeficientes de digestibilidade do alimento pelo animal, na necessidade de medidas alternativas para atender o requerimento nutricional e também nos custos operacionais da produção de aves.

O milho é um alimento que foi bastante estudado em pesquisas nacionais e internacionais, resultando em grandes bancos de dados nutricionais. Um exemplo disso são as Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos de (ROSTAGNO *et al.*, 2017), que apresentam a composição nutricional média dos alimentos, como os valores de energia metabolizável, aminoácidos digestíveis, coeficientes de digestibilidade, entre outras informações que podem ser utilizadas para formular uma ração, comparar resultados de análises laboratoriais ou também para uso didático. Contudo, embora essas informações sejam importantes, a sua utilização como um padrão em distintas realidades de produção pode acarretar em perdas produtivas, uma vez que os alimentos, incluindo o milho, apresentam significativa variabilidade nutricional. Dessa forma, as equações de predição são importantes ferramentas para determinar os coeficientes de digestibilidade e a energia metabolizável dos alimentos de forma indireta, utilizando as informações bromatológicas para ajustar as equações e minimizar o efeito da variabilidade nutricional (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016), resultando em maior precisão da matriz nutricional dos alimentos que irão compor a fórmula da ração.

Para determinar os coeficientes de digestibilidade e a energia metabolizável dos alimentos são utilizadas metodologias *in vivo*, como o método tradicional com coleta total de excretas ou o método de coleta ileal (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016). Para a realização desses ensaios são necessários animais para coleta das excretas e que também podem ser abatidos para coleta ileal, grande controle do





Crédito: KennStilger47/Shutterstock

consumo da ração, instalações adequadas, entre elas um galpão e gaiolas de metabolismo, freezer para armazenamento das amostras e sendo necessário também pelo menos duas rações por ensaio (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016). Assim sendo, as metodologias de digestibilidade *in vivo* não são viáveis para uso rotineiro pela indústria produtora de carne, pois são ensaios que levam semanas para obtenção dos resultados, exigem disponibilidade de mão de obra qualificada e de instalações, gastos com animais e ração, e demanda da disponibilidade de uma estrutura laboratorial para a análise dos alimentos e das excretas. Adicionalmente, a técnica *in vivo* carrega a variabilidade animal associada à genética e condições ambientais. Mas, mesmo assim, os métodos de digestibilidade *in vivo* são considerados padrões para a avaliação nutricional de alimentos e são utilizados como referência para a aplicação de outros métodos (NOBLET; JAGUELIN-PEYRAUD, 2007).

### ENSAIOS DE DIGESTIBILIDADE *IN VITRO*

Alternativamente às metodologias *in vivo* existem os ensaios de digestibilidade *in vitro*, que são realizados em ambiente laboratorial. Essas metodologias possibilitam a execução e obtenção dos resultados de forma mais rápida e com menor custo, os resultados têm menor interferência de fatores individuais dos animais, possuem boa reprodutibilidade e por isso podem ser eficazes para a realização da triagem de matérias-primas (EGGER *et al.*, 2017). Segundo Shurson *et al.* (2021), entre os métodos *in vitro* disponíveis, existem os métodos multienzimáticos que simulam as etapas do processo digestivo enzimático do animal, dos quais o sistema de duas etapas de (BOISEN; FERNÁNDEZ, 1995), e de três etapas de (BOISEN; FERNÁNDEZ, 1997), parecem promover resultados satisfatórios e ambas as metodologias se resumem ao uso de enzimas específicas em cada uma das etapas e o resíduo obtido no final do processo de



**Tabela 01. Composição química, diâmetro geométrico médio e energia metabolizável *in vivo* com frangos de corte dos seis lotes de milho (na matéria seca)**

Variável	Origem do Milho					
	A	B	C	D	E	F
Matéria seca, %	88,80	90,32	88,82	88,86	88,30	88,16
Matéria orgânica, %	86,94	87,15	86,97	87,03	86,96	86,97
Matéria mineral, %	1,06	0,85	1,03	0,97	1,04	1,03
Proteína bruta, %	7,84	7,33	8,22	7,99	8,37	8,75
Energia bruta, kcal/kg	3938	3926	3990	3940	3959	4105
Extrato etéreo, %	3,53	3,53	4,22	3,56	3,66	4,14
Fibra bruta, %	1,45	1,47	1,22	1,50	1,53	1,50
FDA, %	2,21	1,96	2,04	2,44	1,99	2,20
FDN, %	8,87	8,12	8,13	8,92	8,32	8,83
Amido não resistente, %	62,90	64,99	60,19	64,39	59,43	60,51
Amido resistente, %	1,52	1,13	0,98	1,22	1,57	2,56
Amido total, %	64,42	66,12	61,19	65,60	61,00	63,06
Densidade, g/L	711	782	722	749	772	774
DGM, µm	687	621	583	670	722	803
<b>EMA, kcal/kg</b>	<b>3203</b>	<b>3164</b>	<b>3327</b>	<b>3201</b>	<b>3364</b>	<b>3348</b>
<b>EMAn, kcal/kg</b>	<b>3144</b>	<b>3105</b>	<b>3240</b>	<b>3152</b>	<b>3268</b>	<b>3289</b>

digestão é coletado e analisado. O método de duas etapas simula os processos enzimáticos do estômago e intestino delgado e permite determinar a digestibilidade da proteína e aminoácidos, já o método de três etapas simula a digestão total do trato digestório, ou seja, estômago, intestino delgado e intestino grosso, determinando a digestibilidade da matéria seca e matéria orgânica (SHURSON *et al.*, 2021). O aumento do uso das metodologias *in vitro* também pode ser uma alternativa para o princípio dos 3Rs (*Reduction*,

*Refinement* e *Replacement*), que busca estabelecer formas de minimizar a dependência pelo uso de animais em experimentação. A redução está relacionada com o menor número de animais utilizados para obter-se uma mesma informação, o refinamento busca minimizar e aliviar a dor, o sofrimento e conseqüentemente o estresse, e por último, a substituição está voltada ao uso de formas alternativas que possibilitem concluir determinado objetivo sem a utilização de animais vertebrados vivos, desta forma, qualquer meio

**Tabela 02. Variáveis determinadas na digestibilidade *in vitro* (na matéria seca)**

Variável	Granulometria	Origem do milho avaliado					
		A	B	C	D	E	F
DIGMS (%)	MGG <sup>1</sup>	61	67	66	56	59	51
EDIV (kcal/kg)		2155	2431	2460	1941	2124	1818
CDEB (%)		55	62	62	49	54	44
DIGMS (%)	MGF <sup>2</sup>	81	80	84	80	83	80
EDIV (kcal/kg)		3093	3066	3257	3067	3130	3218
CDEB (%)		79	78	82	78	79	78

<sup>1</sup>Milho de granulometria grossa (moída em peneira de 3,5 mm de diâmetro de abertura)

<sup>2</sup>Milho de granulometria fina (padronizada no laboratório físico-químico da Embrapa Suínos e Aves (<1mm))

CDEB=Coefficiente de digestibilidade da energia bruta



**Tabela 03. Estatísticas descritivas da composição e digestibilidade *in vitro* das seis amostras de milho**

Variável	Granulometria	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
DIGMS, %	MGG <sup>1</sup>	60,17	6,22	50,66	67,09
EDIV, kcal/kg		2155	256,52	1818	2460
CDEB, %		54,25	6,9	44,3	61,91
DIGMS, %	MGF <sup>2</sup>	81,21	1,78	79,59	84,12
EDIV, kcal/kg		3138	81,04	3066	3256
CDEB, %		78,92	1,38	77,83	81,62
Amido Total, %		63,57	2,19	61	66,12
Amido Resistente, %		1,50	0,57	0,98	2,56
Amido Não Resistente, %		62,07	2,34	59,43	64,99

<sup>1</sup>Milho de granulometria grossa (moída em peneira de 3,5 mm de diâmetro de abertura)

<sup>2</sup>Milho de granulometria fina (padronizada no laboratório físico-químico da Embrapa Suínos e Aves (<1mm))

CDEB=Coefficiente de digestibilidade da energia bruta

que possibilite beneficiar esses princípios nos trabalhos de ensino e pesquisa podem ser chamados de métodos alternativos (CAMPOS *et al.*, 2016).

### ESTUDOS PARA MELHORIA DA EFICIÊNCIA DE USO DO MILHO

Diante do exposto, a Embrapa Suínos e Aves em parceria com a Seara Alimentos vem desenvolvendo estudos com tecnologias voltadas para a melhoria da eficiência de uso do milho destinado para a alimentação de frangos de corte, através do desenvolvimento de equações de predição da energia metabolizável baseadas em resultados obtidos com a digestibilidade *in vitro*.

Os ensaios foram desenvolvidos na Embrapa Suínos e Aves de Concórdia (SC) e foram utilizados seis lotes de milho adquiridos por meio da Seara Alimentos, sendo eles oriundos de seis diferentes origens. Para iniciar os estudos, todos os milhos foram moídos em moinho de martelos com uma peneira de 3,5 mm de diâmetro de abertura e também foi determinado a composição bromatológica dessas amostras no Laboratório de Análises Físico-Químicas (LAFQ) da Embrapa. A primeira etapa experimental correspondeu aos ensaios para determinação dos coeficientes *in vivo*. A segunda etapa correspondeu ao ensaio de digestibilidade *in vitro* e foram utilizados os mesmos seis lotes de milho, moídos em moinho martelo com peneira de 3,5 mm de diâmetro de abertura (Milho de Granulometria Grossa - MGG), e também moídos no laboratório com a granulometria padrão para análises laboratoriais (<1mm) (Milho com Granulometria Fina - MGF) e que também é preconizado

pelos autores da metodologia *in vitro*. Para esse procedimento foi utilizado um moinho de facas tipo *wiley* e assim o ensaio foi composto por 12 tratamentos e três repetições (triplicata). Para determinar a Digestibilidade *in vitro* da Matéria Seca (DIVMS) e a Digestibilidade da Energia (EDIV), foi adotado a metodologia de digestibilidade em três etapas de (BOISEN; FERNÁNDEZ, 1997). O ensaio consistiu em submeter as amostras a digestão enzimática por pepsina durante duas horas, por pancreatina durante quatro horas e, por último, em um complexo enzimático com carboidrases durante 18 horas, e em cada uma dessas etapas foi ajustado o pH de acordo a porção do trato digestório que estava sendo simulada a digestão, e que corresponderam aos pHs 2,0, 6,8 e 4,8, respectivamente. Além disso, durante todo o processo de digestão, as amostras foram mantidas em uma incubadora e em agitação constante a 39°C. A etapa final consistiu em filtrar as amostras, coletar o resíduo contido no filtro e encaminhar ao laboratório para as análises de MS, EB e PB.

Para realizar a modelagem para obtenção das equações de predição da energia metabolizável, foram utilizados os dados de digestibilidade *in vivo* dos seis lotes de milho em conjunto com os dados de um estudo anterior da Embrapa Suínos e Aves, desenvolvido por (ZANOTTO *et al.*, 2016), no qual foram utilizadas 14 amostras de milho. Após a análise exploratória destas 14 amostras de milho, uma foi retirada por apresentar padrão diferenciado das demais, e, assim, foram mantidas 13 amostras de milho que foram avaliadas em quatro a cinco granulometrias diferentes no estudo dos autores e assim totalizaram 60 amostras. Este

**Tabela 04. Modelos testados, estimativas dos parâmetros e respectivos critérios de informação de Akaike (AIC), coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) e erros de predição da energia metabolizável para frangos de corte**

Modelo	AIC	R <sup>2</sup>	Erro de predição médio (kcal/kg)	Erro de predição médio (%)
1 $\hat{y} = 3199,3$	71,8	-	65,9	2,06
2 $\hat{y} = 3432,5 - 0,1082x_{1a}$	72,9	0,135	63,7	1,99
3 $\hat{y} = 902,3 + 0,7319x_{1b}$	68,1	0,617	36,7	1,14
4 $\hat{y} = 5064,1 - 29,34x_3$	66,1	0,722	28,8	0,89
5 $\hat{y} = 3082,6 + 77,96x_4$	71,3	0,342	49,9	1,56
6 $\hat{y} = 5067,1 - 30,1x_5$	61,5	0,872	21,4	0,67
7 $\hat{y} = 3572,7 - 6,206x_{6a}$	72,0	0,262	57,0	1,79
8 $\hat{y} = 1867,9 + 16,396x_{6b}$	72,2	0,149	53,6	1,67
9 $\hat{y} = 3272,7 - 50,83x_2$	73,8	0,006	64,5	2,02
10 $\hat{y} = -993,1 + 1,1288x_{1b} + 450,09x_2$	62,0	0,900	18,6	0,58
11 $\hat{y} = 2541,7 + 174,36x_7$	69,0	0,552	37,6	1,17
12 $\hat{y} = -522,5 + 1,3884x_{1b} - 168,5x_7$	69,7	0,637	39,1	1,22

$\hat{y}$  = valor estimado da energia metabolizável corrigida para nitrogênio (kcal/kg);  $x_{1a}$  = energia digestível *in vitro* (kcal/kg) do MGG;  $x_{1b}$  = energia digestível *in vitro* (kcal/kg) do MGF;  $x_2$  = fibra bruta (%);  $x_3$  = amido total (%);  $x_4$  = amido resistente (%);  $x_5$  = amido não resistente (%);  $x_{6a}$  = coeficiente de digestibilidade da matéria seca (%) do MGF;  $x_{6b}$  = coeficiente de digestibilidade da matéria seca (%) do MGF;  $x_7$  = extrato etéreo (%)

conjunto de dados, somado às seis amostras do presente ensaio *in vivo*, totalizaram 66 amostras de milho moído. Em seguida foram ajustados 328 modelos, entre lineares e não-lineares, para determinar as equações de predição da energia metabolizável do milho, considerando diversas combinações de variáveis físico-químicas, entre elas a EB, densidade e Diâmetro Geométrico Médio (DGM) do milho. Posteriormente, foi realizada a análise dos dados *in vitro* em conjunto com a EMAn *in vivo* e foram avaliados os modelos lineares contendo o conteúdo de amido e valores do ensaio *in vitro*, nos quais foram incluídos os componentes lineares mais relevantes e complementando modelos selecionados anteriormente. Para a análise estatística foram adotados os procedimentos GENMOD e NLMIXED do software SAS (2008). A escolha dos melhores modelos para prever a energia metabolizável foi baseada no Critério de Informação de Akaike (AIC) e para os modelos escolhidos foram calculados os coeficientes de determinação e os erros de predição (absoluto e relativo).

### RESULTADOS DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Com os resultados obtidos a partir das análises físico-químicas dos lotes de milho (Tabela 01), é possível observar

a grande variabilidade nutricional que uma pequena quantidade de milhos de diferentes origens pode apresentar, o que influencia a EMAn determinada *in vivo*.

A média dos resultados obtidos a partir da digestibilidade dos lotes de Milho com Granulometria Grossa (MGG) e com a Granulometria Fina (MGF) estão apresentados na Tabela 02 e a análise descritiva das variáveis avaliadas para



*Crédito: Orest Iyzhechka/Shutterstock*

os seis lotes de milho, já apresentada nas Tabelas 01, é complementada com a Tabela 03 para a digestibilidade *in vitro*. Foi marcante a diferença obtida no ensaio para determinar a DIVMS e a EDIV dos milhos com granulometria grossa e fina (Tabela 03). A utilização da granulometria fina promoveu aumento da DIGMS em 20,04% e quando observamos a CDEB houve o aumento de 24,67% e que correspondeu a 983,35 kcal/kg de EM de diferença. Esse efeito pode ser considerado como previsível, uma vez que ao aumentar a superfície de contato das partículas do milho, por meio da moagem mais fina dos grãos, a área de superfície disponível para a ação enzimática é maior e por isso a degradação torna-se mais eficiente. Além disso, no ensaio de digestibilidade *in vitro* não há a simulação da ação mecânica que ocorre na parte superior do trato digestório dos animais. Por esse motivo o uso de uma granulometria muito grossa no ensaio irá promover valores de digestibilidade menores e que ficam muito distantes da digestibilidade *in vitro* do MGF e *in vivo* com frangos de corte. Além disso, a média dos valores da EMAn *in vivo* e EDIV do MGF do presente estudo foram aproximados, com respectivamente, 3200 kcal/kg e 3138,32 kcal/kg, indicando que a metodologia *in vitro* pode ser uma alternativa para ser utilizada para estimar o valor de EMAn do milho.

Na Tabela 04 são apresentadas as estimativas dos parâmetros dos modelos que foram avaliados para estimar a energia metabolizável nos seis lotes de milho. A avaliação do ajuste dos modelos permite observar que a inclusão da EDIV do MGF melhorou a predição da energia metabolizável do milho para frangos de corte desses seis lotes avaliados.

O Modelo 3, que utilizou apenas a EDIV do MGF, apresentou um bom ajuste para estimar a EM e a correlação gerada foi do tipo positiva moderada ( $r^2=0,617$ ) e com um erro médio de predição relativamente baixo (36,7 kcal/kg ou 1,14%). Esses resultados podem indicar que o uso do protocolo *in vitro*, originalmente utilizado para gerar a digestibilidade *in vitro* da matéria seca, pode ser uma alternativa para determinar indiretamente os valores de energia metabolizável para frangos de corte e em menor tempo.

Quando avaliamos os resultados das estimativas dos parâmetros ligados a FB e EE, eles parecem não ter plausibilidade biológica nos modelos 10 e 12, uma vez que o valor foi positivo para fibra e negativo para extrato etéreo. Contudo, o modelo 10 apresentou o melhor ajuste ( $r^2=0,900$ ), o qual contempla a EDIV do MGF e a FB, indicando que quanto maior a quantidade de FB maior

será EMAn estimada. O modelo 12 também apresentou bom ajuste ( $r^2=0,637$ ), o qual contempla a EDIV do MGF e o EE, indicando que quanto menor a quantidade de EE maior é a EMAn estimada.

Esse efeito parece contraditório ao esperado, de incremento na EM por meio de maiores concentrações de EE, dentro do limite da capacidade de digestão enzimática da categoria animal. O uso dos óleos e gorduras promovem 2,25 mais calorias do que as proteínas e carboidratos e são alternativas para aumentar a densidade energética da ração para aves (KHATUN *et al.*, 2017). Contudo, no estudo de Meloche *et al.* (2013), o EE também não se ajustou aos modelos de predição de EMA de coprodutos do milho.

O modelo 11 também apresentou um ajuste razoável ( $r^2=0,552$ ) e nesse modelo podemos observar que só houve a utilização do EE e que o seu valor foi positivo, indicando que quanto maior o EE maior será a EMAn. Os modelos 4 e 6, contendo respectivamente o amido total e amido não resistente, também se ajustam bem aos dados; contudo, também apresentam problemas com plausibilidade biológica, pois apresentam estimativas negativas para seus parâmetros, indicando que quanto maior o amido, menor é a energia metabolizável.

De todos os modelos apresentados, o que se ajustou melhor e que parece ser mais plausível é o modelo 3, com coeficiente positivo relacionado a energia digestível *in vitro* do MGF. Podemos ressaltar que a acurácia dos resultados de digestibilidade *in vitro* poderia ser mais alta se o número de milhos utilizados fosse maior e assim aumentado a confiabilidade dos dados. Dessa forma, estudos futuros com maior número de milhos e a incorporação desses dados nas equações de predição poderão gerar novas afirmações e alternativas para aplicação na nutrição de frangos de corte. <sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC - CEO - Chapecó, SC

<sup>2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Suínos e Aves - Concórdia, SC

<sup>3</sup>Seara Alimentos



As Referências deste artigo podem ser obtidas no site de Avicultura Industrial por meio do link: [www.aviculturaindustrial.com.br/digestibilidade1318](http://www.aviculturaindustrial.com.br/digestibilidade1318)

