

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**CLAUDIA ALOISA BRUCH**

**ALFA - AMILASE EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE COM  
VALORIZAÇÃO ENERGÉTICA**

**DOIS VIZINHOS  
2023**

**CLAUDIA ALOISA BRUCH**

**ALFA - AMILASE EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE COM  
VALORIZAÇÃO ENERGÉTICA**

**Alpha - amylase in broiler chickens with energy recovery**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Zootecnia, do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes.

**DOIS VIZINHOS  
2023**



Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação**  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
**Campus Dois Vizinhos**



CLAUDIA ALOISA BRUCH

### **ALFA-AMILASE EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE COM VALORIZAÇÃO ENERGÉTICA**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Produção Animal.

Data de aprovação: 27 de Fevereiro de 2023

Dr. Ricardo Vianna Nunes, Doutorado - Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste)

Dr. Jansller Luiz Genova, Doutorado - Fundação Universidade Federal de Viçosa (Ufv)

Dr. Jose Geraldo De Vargas Junior, Doutorado - Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 28/06/2023.

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente a Deus por nunca me desamparar e por me acompanhar onde quer que eu vá, bem como por me dar forças para não desistir dos meus objetivos.

Gostaria de expressar minha gratidão à minha mãe, Teresinha Simon (in memoriam), por sempre me guiar e me ensinar a superar as dificuldades. Agradeço por acreditar em mim e por me ensinar a correr atrás dos meus sonhos, além de me ensinar que o estudo é algo que ninguém pode me tirar.

Quero agradecer também à família Moro (Zeferino, Zeli e Jociane) pela ajuda e pelo aconselhamento em não desistir do meu sonho de fazer um mestrado.

Expresso minha gratidão ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes, pela sua sabedoria ao me guiar nesta trajetória.

Não posso deixar de agradecer à Secretaria do Curso pela sua cooperação ao longo do processo.

Por fim, gostaria de agradecer a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desta etapa da minha vida.

## Epígrafe

“Os sonhos não determinam o lugar que você vai estar, mas produzem a força necessária para o tirar do lugar em que está.”  
Augusto Cury

## RESUMO

Este estudo objetivou avaliar duas inclusões de alfa-amilase exógena em dietas com valorização de energia metabolizável (EM) no desempenho de crescimento, rendimento de carcaça e cortes, parâmetros bioquímicos séricos e indicadores de saúde intestinal de frangos de corte. Um total de 640 aves de corte machos (linhagem Cobb 500 e  $47,09 \pm 0,78$  g de peso corporal) foram distribuídos em 4 tratamentos de 8 repetições e 20 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos de uma dieta controle positivo (CP), controle negativo (valorização de 100 kcal de EM  $\text{kg}^{-1}$ ) (CN), CN mais suplementação de 100 g de alfa-amilase exógena  $\text{ton}^{-1}$  e CN mais suplementação de 200 g de alfa-amilase exógena  $\text{ton}^{-1}$ . A adição de alfa-amilase melhorou os parâmetros de desempenho e a conversão alimentar nas aves, principalmente na fase final de crescimento. Não foi observada variação no rendimento de carcaça e cortes, e peso relativo do fígado, pâncreas e gordura abdominal com a adição de alfa-amilase. Aves alimentadas com dieta contendo alfa-amilase a 200 g  $\text{ton}^{-1}$  apresentaram maior profundidade da cripta, e, a altura das vilosidades foi semelhante as dietas controle no seguimento do duodeno. Os parâmetros bioquímicos séricos não foram influenciados pelo uso de alfa-amilase. As aves que tiveram adição de 200 g  $\text{ton}^{-1}$  alfa-amilase apresentaram maiores concentrações de ácido acético e butírico no conteúdo cecal. Esses resultados sugerem que a, a alfa-amilase melhora o desempenho de crescimento e a saúde intestinal dos frangos, em dietas com redução de EM, tornando essa enzima exógena uma alternativa promissora na produção de frangos de corte.

Palavras-chave: alfa-amilase, desempenho de crescimento, enzima exógena, ácido graxos de cadeia curta.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate two inclusions of exogenous alpha-amylase in diets with metabolizable energy (ME) enhancement on growth performance, carcass and cuts yield, serum biochemical parameters and intestinal health indicators of broiler chickens. A total of 640 male broilers (Cobb 500 lineage and  $47.09 \pm 0.78$  g of body weight) were distributed in 4 treatments of 8 repetitions and 20 birds per experimental unit. The treatments consisted of a positive control diet (PC), negative control (100 kcal ME kg<sup>-1</sup> enhancement) (CN), CN plus supplementation of 100 g of exogenous alpha-amylase ton<sup>-1</sup> and CN plus supplementation of 200 g of exogenous alpha-amylase ton<sup>-1</sup>. The addition of amylase improved performance parameters and feed conversion in birds, especially in the final growth phase. No variation was observed in carcass and cuts yield, and relative weight of liver, pancreas and abdominal fat with the addition of alpha-amylase. Birds fed a diet containing alpha-amylase at 200 g ton<sup>-1</sup> showed greater crypt depth, and the villus height was similar to the control diets in the duodenum segment. Serum biochemical parameters were not influenced by the use of alpha-amylase. The birds that had the addition of 200 g ton<sup>-1</sup> alpha-amylase had higher concentrations of acetic and butyric acid in the cecal content. These results suggest that alpha-amylase improves the growth performance and intestinal health of chickens on ME-reduced diets, making this exogenous enzyme a promising alternative in broiler chicken production.

Keywords: alpha-amylase, growth performance, exogenous enzyme, short-chain fatty acid.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – A estrutura molecular do amido.....	14
--	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição percentual e calculada das rações experimentais.....	31
Tabela 2 - Resultado de desempenho de 1 a 21 dias de idade em frangos de corte submetidos a diferentes tratamentos com a-amilase.....	37
Tabela 3 – Resultado de desempenho de 1 a 42 dias de idade em frangos de corte submetidos a diferentes tratamentos contendo a-amilase.....	37
Tabela 4 - Rendimento de carcaça e cortes e peso relativo dos órgãos de frango de corte abatidos aos 42 dias de idade e alimentados com dietas de 100 kg <sup>-1</sup> de energia.....	43
Tabela 5 - Profundidade de cripta (PC), altura do vilo (AV) e relação Vilo:Cripta (RVC) do duodeno e do jejuno de frangos de corte alimentados com dietas valorizadas em 100 kcal kg <sup>-1</sup> . ....	43
Tabela 6 - Parametros bioquímicos séricos de frango de corte aos 40 dias de idade alimentados com dietas valorizadas em 100 kcal kg <sup>-1</sup> de energia metabolizavel e com inclusão de a-amilase.....	46
Tabela 7 – Metabolismo sanguíneo de frangos de corte aos 40 dias de idade alimentados com dietas valorizadas em 100 kcal kg <sup>-1</sup> de energia metabolizavel e com a inclusão de a-amilase.....	46
Tabela 8 – Ácidos graxos de cadeia curta do conteúdo cecal aos 35 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas valorizadas em 100 kcal kg <sup>-1</sup> na energia metabolizável e com adição de a-amilase .....	48

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
1.1 Objetivo.....	12
1.2 Objetivos específicos.....	12
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>14</b>
2.1 A produção e diferenciação do amido nas plantas .....	14
2.2 Amido resistente .....	16
2.3 Digestibilidade do amido em aves .....	19
2.4 Enzimas exógenas em rações de frango de corte .....	24
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>30</b>
3.1 Manejo e instalações.....	30
3.2 Dietas experimentais.....	30
3.3 Desempenho zootécnico e rendimento de carcaça .....	32
3.4 Análise dos parâmetros bioquímicos séricos .....	33
3.5 Morfometria intestinal.....	34
3.6 Ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo cecal .....	35
3.7 Análises estatísticas.....	36
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>37</b>
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	<b>50</b>
REFERÊNCIAS .....	51

## 1 INTRODUÇÃO

A base da alimentação de frangos de corte em qualquer idade é o milho devido ao seu alto teor de amido. De acordo com Cardoso et al. (2011), o milho é amplamente utilizado devido ao seu elevado aproveitamento nutricional.

No entanto, é importante ressaltar que nem todos os nutrientes presentes no milho são completamente utilizados pelas aves.

Alguns fatores, como a presença de antinutrientes e a falta de enzimas específicas em quantidade suficiente, podem limitar a digestibilidade e absorção dos nutrientes contidos no milho. Portanto, estratégias para melhorar a digestibilidade dos nutrientes, como a utilização de enzimas exógenas, têm sido investigadas visando maximizar o aproveitamento nutricional do milho e melhorar o desempenho das aves.

Os animais monogástricos, como os frangos de corte, não conseguem aproveitar completamente cerca de 15 a 25% dos valores nutricionais presentes nos alimentos (BEDFORD e PATRIDGE, 2011). Isso ocorre devido à falta de produção de certas enzimas específicas em quantidade suficiente ou à presença de fatores antinutricionais nas dietas, que podem limitar a digestibilidade e absorção dos nutrientes.

Nesse contexto, a suplementação de amilase exógena em dietas para frangos de corte tem como objetivo reduzir a síntese de alfa-amilase pelo pâncreas. Isso resulta em um menor gasto de energia pelo organismo das aves, tornando-a mais disponível para o desenvolvimento e crescimento das aves.

Essa abordagem foi mencionada por Gracia et al. (2003) como forma de otimizar a utilização dos nutrientes e melhorar o desempenho das aves. Ao adicionar a amilase exógena, as enzimas suplementares auxiliam na quebra do amido da dieta, aumentando sua digestibilidade e promovendo uma melhor absorção dos nutrientes disponíveis para as aves.

As enzimas do grupo das carboidrases, como a alfa-amilase, desempenham um papel fundamental na quebra das moléculas de amido, um polissacarídeo complexo de extrema importância em dietas para aves, conforme descrito por Valadares et al. (2016). O uso de amilase exógena melhora a digestão do amido, atuando em sinergia com a amilase pancreática, e auxilia na degradação do amido resistente, como mencionado por Cowieson et al. (2019).

A suplementação de enzimas exógenas na alimentação de frangos de corte é uma excelente alternativa, pois é capaz de potencializar os efeitos benéficos sobre a digestibilidade de produtos considerados de baixa qualidade. Essas enzimas atuam nas frações não disponíveis dos alimentos, ajudando a minimizar os efeitos antinutricionais e tornando a digestibilidade mais eficiente. Além disso, elas disponibilizam uma maior quantidade de energia contida nas dietas, resultando em um melhor desempenho do animal.

Estudos mencionados por Vieira et al. (2015), Stefanello et al. (2019), Córdova-Noboa et al. (2020) e Aderibigbe et al. (2020b) também destacaram os benefícios da suplementação da enzima alfa-amilase no desempenho de crescimento e na digestibilidade do amido em frangos de corte. Essas pesquisas reforçam a importância e os efeitos positivos do uso de enzimas exógenas, como a alfa-amilase, na nutrição avícola.

Nesse contexto, o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos de dietas suplementadas com ou sem a enzima alfa-amilase, com foco na valorização da energia metabolizável, sobre o desempenho de crescimento, rendimento de carcaça e cortes, parâmetros sanguíneos e enzimáticos, morfometria intestinal e concentração de ácidos graxos de cadeia curta em frangos de corte. O estudo buscou investigar os impactos da suplementação de alfa-amilase exógena em vários aspectos do metabolismo e crescimento das aves.

## **1.1 Objetivo**

Avaliar a inclusão de alfa-amilase em dietas com valorização de energia metabolizável sobre o desempenho de crescimento, rendimento de carcaça e cortes, parâmetros sanguíneos e enzimáticos, morfometria intestinal e concentração de ácidos graxos de cadeia curta em frangos de corte.

## **1.2 Objetivos específicos**

- Avaliar o desempenho zootécnico (conversão alimentar, ganho de peso e consumo de ração) de frangos de corte de 1 a 21 dias e de 1 a 42 dias de idade;

- Avaliar o rendimento de carcaça e cortes (coxa, sobrecoxa, asa, filé de peito e sassami), o peso relativo do fígado e pâncreas, e a gordura abdominal.
- Determinar as concentrações sanguíneas de ácido úrico, amilase, glicose, colesterol, triglicerídeos, AST (aspartato aminotransferase), ALT (alanina aminotransferase), GGT (gama glutamiltransferase), proteínas totais, desidrogenase láctica (LDH), albumina, creatina fosfoquinase (CPK) e creatinina.
- Verificar a morfometria intestinal do duodeno e jejuno.
- Avaliar a concentração de diferentes ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo cecal;

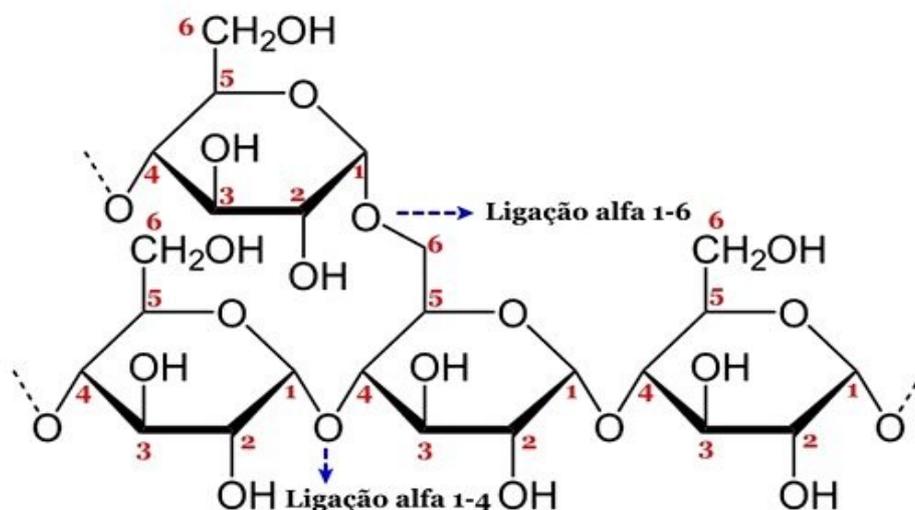
## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A produção e diferenciação do amido nas plantas

O amido é a principal fonte de carboidrato utilizado na alimentação de frangos de corte e é encontrado em diversas plantas, como milho, arroz, sorgo, trigo, trigoilho, centeio, cevada, entre outras. Na estrutura dos grânulos de amido (Figura 1), existem duas frações principais: a amilose e a amilopectina.

A amilose é um polímero linear composto por unidades de glicose ligadas através de ligações  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4), enquanto a amilopectina é altamente ramificada, com várias cadeias curtas que se conectam através de ligações  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  6) com as partes lineares da macromolécula. Essas frações existem como grânulos de amido semicristalinos distintos (ZEEMAN et al., 2010).

Figura 1 - A estrutura molecular do amido



Fonte: WU et al., (2013)

A diferença na estrutura faz com que esses dois componentes diferem significativamente entre si nas propriedades físicas e químicas. Por exemplo, a amilopectina é mais fácil de dissolver em água quente do que a amilose.

Outra diferença significativa é que apenas a amilose pode complexar com o iodo e fazer com que sua solução tenha uma cor azul escuro (MADHU, 2016).

A amilose tem alta tendência a ser um amido retrógrado e produzir géis de alta dureza e filmes fortes. A amilopectina, quando dispersa em água, tem maior estabilidade e produz géis maleáveis e filmes fracos (PÉREZ e BERTOFT, 2010).

Os emaranhados entre a amilose e a amilopectina, juntamente com a presença de fosfolipídios e lipídios, têm efeitos significativos nas propriedades físicas dos grânulos de amido.

Além da amilose e da amilopectina, alguns amidos geneticamente modificados apresentam uma maior concentração de amilose e podem conter poliglucanos. Os poliglucanos são compostos por polímeros de glicose com alto peso molecular, sendo semelhantes ao glicogênio ou à amilopectina (PÉREZ e BERTOFT, 2010).

Esses grânulos de armazenagem estão localizados no espaço entre os tilacoides, que é um conjunto de membranas localizado no interior dos cloroplastos das plantas e nas cianobactérias sendo as estruturas intermediárias aos componentes principais. PÉREZ e BERTOFT (2010), observaram a presença de fito glicogênio em algumas variedades de amido como um mutante açucarado do amido de milho.

A amilose e a amilopectina, que são os componentes estruturais do amido, são depositadas em grânulos discretos dentro dos amiloplastos, que são os órgãos de armazenamento nas plantas. Esses grânulos apresentam diferentes tamanhos e formas. Por exemplo, nos grânulos de amido da família Triticeae (trigo, cevada, centeio e triticale), os grânulos podem ter forma de disco ou serem esféricos, conforme mencionado por Tester et al. (2004).

Os grânulos de amido são constituídos por uma estrutura muito complexa e variam em sua composição química ( $\alpha$ -glucanas, umidade, lipídios, proteínas e resíduos fosforilados) e na estrutura de seus componentes (TESTER et al., 2004).

Dois tipos de amido são encontrados nos tecidos das plantas: amido de armazenamento e amido transitório. O amido de armazenamento é sintetizado e acumula-se em grandes quantidades em sementes de cereais, raízes de armazenamento e tubérculos (SMITH; ZEEMAN, 2020) enquanto o amido transitório, que é principalmente encontrado nas folhas (CHEN et al., 2021), se acumula no período diurno da planta e basicamente é degradado durante o período noturno.

Na superfície do grânulo de amido, podem ser encontrados lipídios polares, principalmente fosfolipídios, que provavelmente permanecem na membrana dos amiloplastos e parte desses lipídios são apolares, geralmente triglicerídeos. Na composição do amido de trigo, estão presentes ácidos graxos (AG) de lipídios,

principalmente constituídos de ácidos palmítico, linoleico e oleico (KONOPKA; ROTKIOWICZ; TANSKA, 2004).

O amido é formado nos cloroplastos de folhas verdes e amiloplastos, organelas responsáveis pela síntese de reserva de amido de cereais e tubérculos e a produção de amido no cloroplasto é diurna e realizada rapidamente pela planta. Por outro lado, as reservas de amido produzidas pelos amiloplastos são depositadas ao longo de vários dias ou mesmo semanas (MEIRELES, 2015).

O amido atua como uma reserva de carbono durante o dia e como fonte de carbono durante a noite. Durante o dia, o CO<sub>2</sub> fixado na forma de açúcares solúveis, é dividido entre sacarose e transportado para os tecidos heterotróficos, como raízes ou folhas imaturas (verde claro) e amido transitório para armazenamento ou assimilação para crescimento. À noite, o amido é consumido para fornecer uma fonte de carbono para que o crescimento da planta continue (MACNEILL et al., 2017)

Nos tecidos vegetativos, o amido passa de um reserva de carbono durante o dia para uma fonte de carbono à noite. A quantidade de carbono fixado fotossinteticamente alocado durante o dia é de aproximadamente 25% a 30% para amido transiente, aproximadamente 7% de sacarose solúvel, com o restante consumido em processos metabólicos para crescimento e respiração (MACNEILL et al., 2017).

## **2.2 Amido resistente**

Conforme Perera, Meda e Tyler (2010), a amilose retrogradada, que pode ser solubilizada em hidróxido de potássio e subsequentemente se torna suscetível à hidrólise pela amiloglicosidase, é denominada amido resistente (AR). O amido retrogradado ocorre quando o gel de amido é resfriado, resultando em maior opacidade e acompanhado pela perda de água e formação de rachaduras no gel.

A classificação das frações de amido de Englyst e Cummings (1987), com base na taxa de hidrólise e na extensão, é considerada uma fração em que o amido é digerido lentamente, resultante da liberação de glicose no intestino delgado.

A importância dessa fração, denominada amido de digestão lenta, reside no fato de que sua ingestão não resulta em um pico agudo de glicose no sangue pós-prandial com uma resposta baixa insulinêmica; concomitantemente ao controle das

respostas glicêmicas e insulinêmicas pós-prandiais, é uma questão de relevância para o metabolismo normal ou com distúrbios.

A característica de digestão lenta dessa fração de amido dos alimentos está relacionada a muitos fatores, como mudanças estruturais produzidas durante o processamento, cozimento e armazenamento (BELLO-PEREZ et al., 2018).

O amido de digestão lenta é uma fração intermediária do amido entre amido de rápida digestão e AR, que é digerido lentamente por todo o intestino delgado para fornecer liberação constante de glicose com uma glicemia inicial baixa e, subsequentemente, uma liberação lenta e prolongada de glicose, diferente do intestino grosso em que apenas a resposta glicêmica de 0-120 min é medida sem levar em consideração o carboidrato contido nos alimentos na maioria das aplicações práticas (BELLO PEREZ et al., 2018).

A porção do amido que não é digerida ao transitar pelo trato gastrointestinal é chamada de amido resistente. A parte do amido que não se hidrolisa no íleo em 2 horas para formar d-glicose, mas sim digerir no cólon do intestino grosso, é o amido resistente. Diversas experimentações demonstraram que o amido resistente é formado a partir de um amido retrogradado e possui uma molécula linear de  $\alpha$ -1,4- d-glucano, com baixo peso molecular de  $1,2 \times 10^5$  Da (BEDE e ZAI XIANG, 2020).

O AR é a porção do amido e dos produtos da degradação do amido que escapa da digestão no intestino delgado das aves, sendo fermentada por microrganismos na região pré-cecal, e pode ser subdividido em 5 classes: AR1, AR2, AR3, AR4 e AR5.

O AR1, que não pode ser hidrolisado por causa do efeito de barreira das paredes celulares ou do efeito de isolamento de proteínas, é encontrado parcialmente em grãos e grãos moídos, grânulos de amido resistente. O AR2 se refere aos grânulos de amido resistentes naturais, como amido de batata e banana (JIANG et al., 2020).

O AR3 é um amido retrogradado devido à sua baixa digestibilidade. Ele é caracterizado por sua dificuldade em ser hidrolisado pela amilase devido à sua cristalização que ocorre durante o resfriamento e armazenamento após a gelatinização, como mencionado por Jiang et al. (2020).

Além disso, esse tipo de amido possui uma maior capacidade de complexação com iodo e ácidos graxos, o que o torna um material de encapsulamento ideal para o uso de excipientes em medicamentos, conforme destacado por Yi et al. (2021).

A modificação química do amido também conduz à produção de amido resistente, fato que o caracteriza como AR4. Esses produtos incluem os amidos

substituídos quimicamente com grupamentos ésteres, fosfatos e éteres, bem como amidos com ligações cruzadas, sendo estes também resistentes à digestão no intestino delgado (HAN; BEMILLER, 2007; RATNAYAKE; JACKSON, 2008; SANZ et al., 2009; SUI et al., 2011; ZIEBA; KAPELKO; SZUMNY, 2013).

O AR4 é considerado o amido mais resistente a hidrólise enzimática, devido ao volume dos grupos substituintes que dificulta a formação de complexos enzima substrato e torna as ligações mais resistentes à hidrólise (ALSAFFAR, 2011).

O AR5 consiste em um amido complexado com lipídeos (JIANG et al., 2010; FUENTES-ZARAGOZA et al., 2011). Esses complexos possuem temperaturas de gelatinização mais elevadas em comparação ao amido puro e também têm uma tendência maior à retrogradação.

A presença de lipídeos na amilose forma uma estrutura rígida que restringe a expansão dos grânulos durante o processo de cozimento. O complexo de amilose-lipídeo é resistente à hidrólise enzimática. Em geral, a quantidade e a estrutura desse complexo dependem da fonte botânica do amido, sendo mais comum em amidos com alto teor de amilose, que são mais propensos à retrogradação (HASJIM et al., 2010; FUENTES-ZARAGOZA et al., 2011).

O amido resistente (AR) pode ter efeitos benéficos no intestino, alterando a diversidade e aumentando a abundância de uma microbiota benéfica. Além disso, o AR pode levar à produção de ácidos graxos de cadeia curta. As mudanças na microbiota intestinal podem influenciar a expressão de certos genes relacionados ao metabolismo de glicose e lipídios, resultando em uma redução da resposta de glicose e insulina, bem como na lipogênese (ZHANG e BAO, 2021).

O amido encontrado nos cereais é quantitativamente a fonte de energia mais importante para as aves (SVIHUS, 2014). Cruz et al. (2008), destacaram que cerca de 70% a 80% do milho produzido no Brasil é consumido na alimentação de aves e suínos. De acordo com Vieira et al. (2007) o milho, além de ser o principal alimento energético, é ainda responsável por 20%, 10% e 25% da proteína, lisina e metionina + cistina, respectivamente, presentes na dieta.

### 2.3 Digestibilidade do amido em aves

O trato intestinal de uma ave é um tubo especializado que começa no bico e termina na cloaca. A função primária do intestino é a conversão e digestão dos alimentos em seus componentes básicos para absorção e utilização pela ave.

O intestino é separado em cinco regiões distintas: o papo, proventrículo, moela, intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) e intestino grosso (ceco, cólon e reto). Cada uma dessas regiões tem um papel específico no processo de digestão e absorção de nutrientes (SCANES e PIERZCHALA-KOZIEC, 2014).

A ração, após ser ingerida, fica armazenada no inglúvio, por um curto período, e pode ser parcialmente fermentada pela microbiota presente. Após ingestão, não é mais ração, e sim digesta (ácido clorídrico e pepsinogênio, que inclui a pepsina, enzima que quebra a proteína), e após é direcionado à moela.

A moela desempenha o papel de macerar e reduzir o tamanho das partículas, liberando a digesta com partículas menores para o intestino delgado. Enquanto a moela tritura a ração, ela é misturada com o ácido e as enzimas secretadas pelo proventrículo (SCANES e PIERZCHALA-KOZIEC, 2014).

No intestino delgado, ocorre a digestão dos carboidratos e gorduras, permitindo sua absorção e utilização pelas aves. Durante o processo normal de digestão, quando a digesta alcança a parte final do íleo, todas as proteínas, gorduras e carboidratos foram digeridos e absorvidos, restando apenas os componentes não digeríveis da ração, como a celulose e os polissacarídeos não amiláceos.

Esses resíduos têm dois destinos possíveis: são eliminados nas excretas ou degradados e absorvidos pelo ceco, onde a microbiota cecal fermenta esses materiais. Durante a fermentação, ocorre a formação de ácidos orgânicos, ácidos graxos de cadeia curta e vitaminas, que podem ser absorvidos pelas aves (SCANES e PIERZCHALA-KOZIEC, 2014).

A eficiente conversão da ração em seus componentes básicos para uma absorção ideal de nutrientes é crucial para a produção e o bem-estar dos frangos de corte e das matrizes. A saúde intestinal desempenha um papel fundamental nesse processo, sendo uma área complexa que envolve nutrição, microbiologia, imunologia e fisiologia.

Quando a saúde intestinal é comprometida, a digestão e a absorção de nutrientes são afetadas, o que pode resultar em uma conversão alimentar inadequada.

Isso não apenas causa perdas econômicas, mas também torna as aves mais suscetíveis a doenças.

As aves têm uma alta demanda por energia, a qual é obtida a partir de carboidratos, lipídios e proteínas presentes na dieta. No sistema de alimentação avícola, o amido dos grãos de cereais, como o milho, é a fonte de energia mais importante, e as aves possuem uma alta capacidade digestiva para processá-lo (SVIHUS, 2014). O milho comum contém cerca de 3% de açúcar e entre 60% e 70% de amido, enquanto o milho doce possui de 9% a 14% de açúcar e de 30% a 35% de amido (PEREIRA FILHO et al., 2013).

No sistema digestivo das aves, a digestão do amido começa com a secreção de amilase pancreática, que é liberada no duodeno. A amilase pancreática atua na quebra do amido em glicose, oligossacarídeos de glicose e dextrinas. Em seguida, enzimas como maltase e isomaltase presentes no epitélio intestinal convertem esses compostos em glicose, que pode ser absorvida pelo organismo das aves (ISAKSEN et al., 2011).

As aves possuem uma capacidade elevada de digestão do amido, mesmo quando comparadas a outras espécies, como suínos, ratos e humanos. Isso se deve à secreção particularmente alta de enzimas amilolíticas, que realizam a hidrólise do amido. Essas enzimas podem ser divididas em dois grupos principais:  $\alpha$ -1,4 glucanase e  $\alpha$ -1,6 glucanase, que atuam na quebra da cadeia de amido. A secreção dessas enzimas ocorre por meio do suco pancreático nas aves. (SVIHUS, 2014).

A maturação e o desenvolvimento de um intestino funcional após a eclosão são de extrema importância para iniciar o suporte nutricional externo, uma vez que as reservas embrionárias se esgotam.

Durante esse período, é observado que os depósitos de gordura subcutânea e o colesterol hepático diminuem rapidamente, juntamente com o conteúdo do saco vitelino. Esses elementos desempenham um papel crucial no suporte ao desenvolvimento corporal durante a transição para a dependência alimentar. (SPEAKE; DEANS; POWELL, 2003).

Conforme a ave cresce, o intestino passa por um processo de amadurecimento e se torna mais eficiente. Isso implica que as deficiências na produção de enzimas e na capacidade de absorção intestinal diminuem ao longo do tempo.

Como resultado, o ambiente no intestino delgado e grosso se torna mais estável e propício para o estabelecimento de um equilíbrio entre a capacidade digestiva do

hospedeiro e suas próprias necessidades nutricionais. Isso significa que a ave se torna mais capaz de digerir e absorver os nutrientes de maneira eficiente, garantindo um melhor aproveitamento dos alimentos para seu crescimento e desenvolvimento adequados.

A alfa-amilase pancreática é responsável pela hidrólise da amilose em maltose e maltotriose, e da amilopectina em maltose, maltotriose e dextrinas  $\alpha$ -limite (oligossacarídeos). No entanto, os oligossacarídeos são resistentes à ação das enzimas intestinais e pancreáticas no intestino delgado. Nesse local, os fruto-oligossacarídeos (FOS) têm um efeito osmótico devido à sua capacidade de reter água, como descrito por Borges et al. (2011).

Estas moléculas de oligossacarídeos que não são digeridas nem absorvidas no intestino delgado, alcançam o intestino grosso onde são fermentados pelas bactérias anaeróbias que compõem a microbiota intestinal, produzindo grandes quantidades de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), como o ácido acético, ácido propionico e ácido butírico, além de  $\text{CO}_2$ , amônia e  $\text{H}_2$ . Como resultado, o pH no lúmen do intestino grosso torna-se ácido (OTERO, 2003).

Durante o processo de digestão, a glicose resultante da quebra do amido é transportada para o citoplasma das células através de sistemas de transporte dependentes de sódio ( $\text{Na}^+$ ). Em seguida, a glicose é transportada pela membrana basolateral da célula para entrar no ciclo do ácido cítrico, onde será utilizado na geração de ATP (adenosina trifosfato).

Em aves, o amido é amplamente digerido no íleo terminal, com uma taxa de digestão superior a 95%. No entanto, a eficiência da digestão do amido pode variar de acordo com fatores como a idade das aves, a estrutura e a solubilidade do amido, o processamento térmico das dietas, entre outros.

Apesar do amido apresentar uma estrutura semicristalina que dificulta sua digestão, os frangos de corte de crescimento rápido têm a capacidade de digerir completamente esse amido durante sua passagem pelo jejuno. Isso demonstra a adaptabilidade dessas aves para a digestão eficiente do amido em sua dieta. (SVIHUS, 2014).

À medida que as aves amadurecem, seus tratos intestinais desenvolvem uma capacidade cada vez maior de digerir o amido. Isso ocorre devido ao aumento na produção de amilase pancreática, uma enzima responsável pela quebra do amido em moléculas menores que podem ser absorvidas pelo organismo.

Em comparação com os mamíferos neonatais, as aves possuem uma capacidade superior de digestão do amido. Isso ocorre porque as aves não dependem da lactose, encontrada no leite materno, como fonte primária de energia. Em vez disso, elas são capazes de extrair energia diretamente do amido presente em sua dieta. Seu sistema digestivo é adaptado para lidar com essa fonte de energia, o que lhes confere uma vantagem em termos de digestão e absorção de nutrientes.

Quando se trata da qualidade do milho utilizado na alimentação das aves e dos padrões de contaminação, é importante mencionar que problemas como lesões hepáticas e alterações no sistema locomotor podem surgir. Esses problemas podem levar a uma redução no desempenho das aves, afetando negativamente a produção. Portanto, é fundamental garantir a qualidade dos ingredientes utilizados na dieta das aves, incluindo o milho, a fim de promover um bom desempenho e saúde das aves. (SVIHUS et al., 2010).

O estudo realizado por Weurding et al. (2001) demonstrou que a digestão do amido no intestino delgado das aves pode variar significativamente dependendo do tipo de alimento consumido. Os resultados indicaram que a digestão rápida do amido pode ter implicações metabólicas que afetam a absorção de nutrientes em frangos de corte. Essa variação na digestibilidade do amido pode estar relacionada a fatores como a estrutura e a composição do alimento.

Além disso, o amido resistente (AR), que age como uma fibra alimentar, possui a capacidade de resistir à digestão no intestino delgado e, conseqüentemente, chegar ao intestino grosso, onde é fermentado pela microbiota intestinal, resultando na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Esses AGCC têm efeitos benéficos para a saúde intestinal de mamíferos e aves. (LOCKYER; NUGENT, 2017).

Portanto, o AR desempenha um papel prebiótico, fornecendo substrato para o crescimento seletivo de bactérias benéficas no intestino e contribuindo para a manutenção de uma microbiota saudável. Esses efeitos prebióticos do AR são relevantes tanto para mamíferos quanto para aves, auxiliando na promoção da saúde intestinal e no equilíbrio do trato gastrointestinal. (BIRD et al., 2010).

O processamento térmico, incluindo a secagem do milho, pode levar à desnaturação de proteínas, resultando em mudanças na sua estrutura e funcionalidade. Além disso, a exposição do amido a altas temperaturas durante a secagem pode levar à formação do amido retrógrado. O amido retrógrado é

caracterizado pela reorganização das moléculas de amido, resultando em uma estrutura mais compacta e resistente à digestão enzimática. (ODJO et al., 2012).

Durante o processo de digestão, os grânulos de amido presentes na ração de aves passam por um estágio de gelatinização, onde ocorre a absorção de água e o aumento da solubilidade do amido. Isso leva à quebra da estrutura cristalina do amido e o torna mais facilmente digerível pelas enzimas amilolíticas, como a amilase.

No entanto, quando os géis de amido são resfriados, ocorre a retrogradação do amido, ou seja, a reorganização das moléculas de amido em uma estrutura cristalina mais estável. Esses cristais de amido retrogradado são mais resistentes à ação da amilase, tornando-os menos digeríveis no intestino das aves.

Essa resistência à digestão do amido retrogradado ocorre devido à formação de ligações cruzadas entre as moléculas de amido durante o processo de retrogradação. Essas ligações tornam a estrutura do amido mais compacta e dificultam a ação das enzimas digestivas em quebrá-lo em unidades menores.

Após o processo de gelatinização do amido durante a digestão, a sua capacidade de formar cristais após o resfriamento pode conferir resistência à hidrólise enzimática, dificultando a sua completa digestão. Essa retrogradação do amido pode ocorrer em diferentes alimentos e produtos alimentares, incluindo a ração de aves (LOCKYER; NUGENT, 2017).

Os estudos de Giacobbo et al. (2021) sugerem que a temperatura de secagem e os diferentes híbridos de milho podem não ter causado alterações significativas na estrutura físico-química e nutricional relacionada ao desempenho das aves. Isso indica que esses fatores podem ter tido um impacto limitado na digestibilidade e utilização do milho na dieta das aves.

Em relação ao AR (amido resistente), sua completa degradação ocorre no ceco das aves, levando a mudanças na composição da microbiota cecal e colônica. Isso resulta em um aumento nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), como ácido acético, propiônico e butírico. Esses AGCC têm efeitos benéficos na saúde intestinal das aves.

O aumento na produção de AGCC pelo metabolismo do AR no ceco das aves ajuda a modificar e estabilizar a microbiota intestinal. Essa mudança na microbiota contribui para o desenvolvimento intestinal, uma vez que os AGCC produzidos reduzem o pH no cólon, criando um ambiente ácido e desfavorável para o crescimento excessivo de bactérias indesejáveis.

O AR exerce um efeito prebiótico nas aves, promovendo a saúde intestinal e contribuindo para um equilíbrio microbiano favorável no trato gastrointestinal. Esses efeitos são importantes para a função digestiva e a saúde global das aves. (REGASSA; NYACHOTI, 2018).

O equilíbrio e a saúde intestinal das aves podem ser afetados por diversos fatores, incluindo o manejo e a ambiência das aves, bem como a qualidade e o processamento da alimentação. Quando esses aspectos não estão adequados, podem ocorrer interrupções nos processos digestivos normais, levando a uma digestão e absorção incompletas de nutrientes.

#### **2.4 Enzimas exógenas em rações de frango de corte**

As enzimas são proteínas altamente complexas que requerem condições adequadas de umidade, temperatura e pH para desempenharem suas funções específicas nos substratos (SORIO, 2012). São proteínas globulares (MACIEL et al., 2020) encontradas em todos os seres vivos, que atuam como catalisadores de reações químicas, convertendo substâncias em energia e tecidos. Cada enzima possui um modo de ação específico, sendo capaz de se ligar a um substrato particular e promover sua quebra em compostos menores (DAILIN et al., 2018).

A produção de enzimas ocorre por meio de processos que envolvem o isolamento de materiais de origem vegetal, animal e a fermentação por microrganismos. A produção por fermentação é amplamente utilizada devido à sua capacidade de padronização e custos mais baixos (SORIO, 2012).

Fungos filamentosos e leveduras são responsáveis por mais de 50% da produção de enzimas, seguidos por bactérias (30%), animais (8%) e plantas (4%) (RIGO et al., 2021).

Os frangos são capazes de aproveitar de 75% a 85% do que ingerem devido à presença de compostos indigestíveis, fatores antinutricionais e interferências no processo digestivo que dificultam a ação das enzimas endógenas (BARLETTA, 2011). Isso significa que entre 15% e 25% da dieta não é digerida, representando uma oportunidade para a utilização de enzimas exógenas.

As enzimas exógenas têm o papel de melhorar a digestibilidade dos nutrientes presentes na ração, reduzindo os efeitos antinutricionais. Elas aumentam a disponibilidade de nutrientes para a absorção e otimizam a atividade das enzimas

endógenas (SCHIMIDT e SILVA, 2018; ORDONEZ et al., 2018). Além disso, as enzimas exógenas contribuem para o melhor crescimento, produção de ovos e prevenção de doenças (PIRGOZLIEV et al., 2019). Outro benefício é a redução da excreção de fósforo nas fezes, o que contribui para uma melhor gestão ambiental (ALAGAWANY et al., 2018).

As enzimas exógenas possuem muitas vantagens na suplementação de digestibilidade de polissacarídeos não amiláceos presentes em macronutrientes que, usualmente, compõem a alimentação dos frangos, como a soja, o milho e o trigo (CHOCT et al., 2010; EICHNER, 2005; PUERTAS, 2019). As enzimas exógenas quebram os PNA's, reduzindo a viscosidade intestinal, aumentando, desta forma, a digestibilidade dos nutrientes, além de diminuir a excreção de nutrientes e excesso de nitrogênio, zinco e cobre no ambiente (ALAGAWANY et al., 2018).

De fato, estudos têm demonstrado que a inclusão de complexos enzimáticos nas dietas de animais, como frangos, pode levar a melhorias na digestibilidade dos cereais e no aproveitamento de nutrientes. Esses complexos enzimáticos são formulados para fornecer uma combinação de enzimas específicas que atuam na quebra de componentes indigestíveis presentes nos alimentos.

A melhoria na digestibilidade dos cereais é importante, uma vez que eles são uma fonte essencial de energia nas dietas das aves. A atuação dos complexos enzimáticos auxilia na quebra de compostos como fibras, amidos não gelatinizados e outros fatores antinutricionais, aumentando assim a disponibilidade de nutrientes para absorção.

Além disso, a diversificação da microbiota intestinal é um aspecto relevante para a saúde e desempenho das aves. Os complexos enzimáticos podem influenciar positivamente a composição e a atividade da microbiota intestinal, favorecendo o crescimento de bactérias benéficas e suprimindo o crescimento de patógenos. Isso pode levar a uma melhor absorção de nutrientes, uma resposta imunológica mais eficiente e uma redução na incidência de doenças.

Pesquisas destacam a importância dos complexos enzimáticos na melhoria da digestibilidade dos cereais e na diversificação da microbiota intestinal, ressaltando os benefícios para a absorção de nutrientes e o desempenho das aves. (BEDFORD & COWIESON, 2012; CHAMORRO et al., 2017; DIÓGENES et al., 2017; PUERTAS, 2019)

A secreção pancreática das aves inclui enzimas proteolíticas, amilolíticas e lipolíticas. No entanto, o desenvolvimento pleno dessas funções enzimáticas ocorre gradualmente após o nascimento.

Nos primeiros dias de vida, as aves têm uma capacidade limitada de produção e secreção enzimática pelo pâncreas. Até os 7 dias de idade, a atividade enzimática, incluindo a amilase, está em estágio inicial de desenvolvimento.

À medida que as aves crescem e seus sistemas digestivos amadurecem, a produção de enzimas pancreáticas, como a amilase, aumenta progressivamente. Após os 14 dias de idade, ocorre um aumento significativo da atividade da amilase pancreática, e geralmente se estabiliza por volta dos 21 dias de idade. Nessa fase, a produção de enzimas pancreáticas está plenamente estabelecida, e a capacidade de digestão do amido das aves está melhor desenvolvida.

É importante notar que esses marcos de desenvolvimento podem variar ligeiramente entre diferentes espécies de aves e também podem ser influenciados por fatores ambientais e nutricionais. Após a eclosão, há a necessidade ajustes na ingestão de amido, já que o pinto ainda está desenvolvendo a capacidade de digestão e absorção dos nutrientes. É importante preconizar a qualidade nutricional do ingrediente utilizado na ração, principalmente no que se refere a metabolizabilidade dos nutrientes (JHA, 2019).

De acordo com Delmaschio (2018), a produção de amilase pancreática em animais monogástricos, como suínos e aves, é baixa nas fases iniciais de vida. Isso pode resultar em uma capacidade limitada de digestão do amido durante essas fases e afetar o desenvolvimento adequado desses animais.

A amilase pancreática é uma enzima responsável pela quebra do amido em moléculas menores, como maltose e maltotriose, que são mais facilmente absorvidas pelo trato digestivo. No entanto, a produção de amilase pancreática em animais jovens é limitada, o que dificulta a digestão eficiente do amido.

Essa dificuldade na digestão do amido pode resultar em menor aproveitamento dos nutrientes contidos nos alimentos e afetar negativamente o crescimento e o desenvolvimento dos animais nas fases iniciais da vida. Medidas como a suplementação de enzimas exógenas, como a amilase, podem ser adotadas para auxiliar na digestão do amido e melhorar o desempenho dos animais jovens.

Segundo Piovesan et al. (2011), essa informação deve ser levada em consideração, uma vez que a base das formulações de ração desses animais de produção em qualquer idade é o milho e este possui alto teor de amido.

A etapa final na digestão de carboidratos e proteínas da dieta ocorre na superfície dos enterócitos do intestino delgado, nas imediações dos transportadores que transportam os açúcares e aminoácidos resultantes para as células epiteliais.

As enzimas responsáveis por esse estágio terminal da digestão (glicosidases, peptidases e fosfatases) não ocorrem livremente no lúmen intestinal, mas sim na membrana citoplasmática dos enterócitos. Essas enzimas quando incorporadas são chamadas de enzimas da borda em escova (RAVINDRAN; ABDOLLAHI, 2021).

As enzimas amilolíticas são responsáveis pela degradação do amido e podem ser encontradas em grãos de cereais, como milho e cevada (PÉREZ, BALDWIN, GALLANT, 2009). Desde a década de 50 até os dias atuais, têm sido demonstrados efeitos positivos da suplementação de complexos enzimáticos contendo amilase (STEFANELLO et al., 2015).

Alguns estudos mais recentes também têm demonstrado os efeitos da utilização da amilase isolada, sem outras enzimas (AMERAH et al., 2017). A maioria da amilase suplementada na nutrição é a  $\alpha$ -amilase produzida por *Bacillus* sp., e essa enzima hidrolisa as ligações  $\alpha$ -1,4 no interior do grânulo de amido (ISAKSEN et al., 2011).

As alfa-amilases são enzimas com a capacidade de degradar polissacarídeos, como o amido. Elas podem ser encontradas em uma variedade de organismos, incluindo fungos e bactérias.

Devido ao seu amplo potencial biotecnológico, essas enzimas são amplamente utilizadas em diversos setores industriais, desde a indústria de alimentos até a produção de biocombustíveis. Nas formulações de rações para animais, a adição de alfa-amilase pode melhorar a digestão do amido e promover um melhor desempenho nutricional dos animais.

Stefanello et al. (2019) evidenciou que a suplementação de alfa-amilase exógena em rações para aves resultou em um aumento dos valores energéticos e na melhoria da digestibilidade dos nutrientes no jejuno.

Além disso, outras enzimas carboidrases exógenas, como xilanases, amilases e glucanases, também têm sido estudadas e demonstraram melhorar a utilização de

energia e o desempenho de frangos de corte, conforme mencionado por Olukosi et al. (2007).

Essas enzimas auxiliam na quebra de polissacarídeos presentes nos alimentos, como xilanas, amido e glucanos, promovendo uma melhor digestão e absorção dos nutrientes pelos animais. Dessa forma, a suplementação com essas enzimas pode resultar em benefícios nutricionais e melhorias no desempenho dos animais de produção.

Em dietas convencionais formuladas com milho e farelo de soja (SBM), estima-se que 450 kcal/kg de energia estejam disponíveis para utilização via enzimas exógenas, que podem incluir até 37% de amido não digerido (COWIESON et al., 2010).

Observa-se que a utilização de enzimas exógenas pode atuar de duas maneiras distintas para melhorar a digestão e a absorção de nutrientes. Por um lado, as enzimas podem melhorar o acesso das enzimas endógenas ao conteúdo celular, promovendo a quebra de estruturas complexas e facilitando a ação enzimática (KOCHER et al., 2003; MENG et al., 2005). Por outro lado, as enzimas exógenas também podem estimular as secreções de enzimas endógenas, aumentando a produção e liberação dessas enzimas pelo organismo (GRACIA et al., 2003).

Estudos anteriores demonstraram consistentemente os benefícios da suplementação de alfa-amilase na digestibilidade do amido e da energia em frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja (COWIESON et al., 2019; STEFANELLO et al., 2019; WOYENGO et al., 2019).

Esses estudos destacaram que a suplementação de alfa-amilase isoladamente contribuiu para aumentar a disponibilidade de amido para a absorção, resultando em uma melhor digestibilidade e aproveitamento da energia contida nos grãos de milho. Essa melhoria na digestibilidade do amido é fundamental para otimizar o desempenho nutricional das aves, promovendo um crescimento mais eficiente e uma utilização mais eficaz dos nutrientes da dieta.

O estudo realizado por Valadares et al. (2016) investigou o valor nutricional e a energia metabolizável do farelo residual de milho com e sem a adição da enzima alfa-amilase. Embora não tenha havido um efeito estatisticamente significativo sobre os valores de energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida pelo nitrogênio (EMAn) com a adição da enzima, observou-se uma melhoria

na utilização da energia do ingrediente, resultando em um efeito positivo sobre o coeficiente de metabolização da energia.

Por outro lado, o estudo conduzido por Adeola et al. (2010) utilizou uma mistura enzimática contendo xilanase e amilase em frangos de corte alimentados com uma dieta à base de milho e farelo de soja. Os resultados indicaram que as aves suplementadas com as carboidrases apresentaram melhores valores de energia digestível ideal, energia metabolizável e energia metabolizável corrigida (EMn). Isso demonstra que a suplementação de enzimas carboidrases, como xilanase e amilase, resultou em uma melhoria na digestibilidade e na utilização da energia da dieta pelos animais.

Ambos os estudos destacam os efeitos benéficos das enzimas, seja a alfa-amilase ou a combinação de xilanase e amilase, na melhoria da utilização da energia e no valor nutricional dos ingredientes utilizados na alimentação de frangos de corte. Esses resultados evidenciam a importância da suplementação enzimática como uma estratégia eficaz para otimizar o aproveitamento dos nutrientes e melhorar o desempenho das aves, especialmente em dietas que contenham ingredientes de complexidade nutricional.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Manejo e instalações**

Este estudo foi conduzido no Centro de Pesquisa em Avicultura da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste, Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil), aprovado pelo comitê de ética em animais de produção sob o protocolo de experimentação animal nº 05/2022.

Um total de 640 pintos de corte, machos, com um dia de vida ( $47,09 \pm 0,78$  g de peso corporal), provenientes de matrizes Cobb 500® com 48 semanas de idade, foram designados em um delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos, 8 repetições e 20 aves por box como a unidade experimental.

As aves foram alocadas em boxes individuais (1,76 m<sup>2</sup>), com piso de concreto recoberto com cama de maravalha, contendo um comedouro tubular de 20 kg e bebedouros tipo nipple.

A temperatura ambiente e a umidade relativa do ar na instalação experimental foram controladas de acordo com as recomendações para cada fase de criação, seguindo o manual da linhagem Cobb 2018.

As variáveis ambientais foram monitoradas por Sonda Smaai TU digital (Inobram, Pato Branco, PR, Brasil) e controladas pelo painel Smaai 3 (Inobram, Pato Branco, PR, Brasil).

Em cada fase de criação, foi instalada uma resistência elétrica de 250 watts em cada box para o conforto térmico das aves. Para ventilação mínima e resfriamento da instalação, foram utilizados 2 exaustores e duas entradas de ar (16,2 m<sup>2</sup>) com placas evaporativas.

O programa de luz adotado foi de 1 hora de escuro do alojamento ao 7º dia de idade e, do 8º dia de idade até o abate, foi utilizado um período contínuo de 6 horas de escuro.

#### **3.2 Dietas experimentais**

As dietas experimentais foram formuladas à base de milho e farelo de soja e suplementadas com aminoácidos industriais, de acordo com a composição alimentar e as exigências nutricionais recomendadas por Rostagno et al. (2017), atendendo às

fases de 1 a 21 dias (inicial), 21 a 35 dias (crescimento) e 35 a 42 dias (terminação) de idade (Tabela 1). As dietas experimentais foram fornecidas na forma farelada, juntamente com água ad libitum durante todo o período experimental.

**Tabela 1 - Composição percentual e calculada das dietas experimentais fornecidas para frangos de corte (como base alimentada, g kg<sup>-1</sup>)**

Ingredientes	Inicial (1 a 21 dias)		Crescimento (22 a 35 dias)		Terminação (36 a 42 dias)	
	CP	CN	CP	CN	CP	CN
Milho moído (7,88% de PB)	554,02	564,72	565,96	589,32	580,70	603,97
Farelo soja (45% de PB)	343,26	341,40	295,01	290,91	239,73	235,63
Farelo trigo (15,1% de PB)	50,00	50,00	70,00	70,00	100,00	100,00
Óleo de soja	15,95	1,00	38,11	18,86	52,31	33,07
Calcário calcítico (36%)	11,33	11,34	10,45	10,48	9,65	9,67
Fosfato bicálcico (18%)	10,62	10,61	8,15	8,13	5,58	5,55
Sal refinado	4,38	4,27	3,83	3,82	3,37	3,36
Sulfato de lisina (60%)	3,71	3,76	2,92	3,04	3,46	3,58
DL-Metionina (99%)	3,11	3,10	2,41	2,28	2,11	2,08
L-Treonina (99%)	1,07	1,07	0,71	0,71	0,74	0,74
Adsorvente <sup>1</sup>	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Premix vitamínico <sup>2</sup>	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Premix mineral <sup>3</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Cloreto de colina (60%)	0,50	0,50	0,40	0,40	0,30	0,30
Fitase <sup>4</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Caulim*	0,20	6,38	0,20	0,20	0,20	0,20
Composição química calculada						
EM (kcal kg <sup>-1</sup> )	2950	2850	3100	3000	3200	3100
Proteína bruta (g g <sup>-1</sup> )	220,0	220,0	200,0	200,0	180,0	180,0
Extrato etéreo (g g <sup>-1</sup> )	43,54	29,10	65,84	47,58	80,61	62,35
Fibra bruta (g g <sup>-1</sup> )	37,76	37,85	36,69	36,90	36,13	36,33
Amido (g g <sup>-1</sup> )	416,46	423,87	429,57	445,84	447,60	463,87
Cinzas (g g <sup>-1</sup> )	54,87	60,94	49,68	49,73	44,59	44,63
Cálcio (g g <sup>-1</sup> )	9,00	9,00	8,00	8,00	7,00	7,00
Fósforo disponível (g g <sup>-1</sup> )	4,50	4,50	4,00	4,00	3,50	3,50
Lisina dig. (g g <sup>-1</sup> )	12,00	12,00	10,50	10,50	9,50	9,50
M+C dig. (g g <sup>-1</sup> )	8,88	8,88	7,77	7,77	7,03	7,03
Treonina dig. (g g <sup>-1</sup> )	7,92	7,92	6,93	6,93	6,27	6,27
Triptofano dig. (g g <sup>-1</sup> )	2,38	2,38	2,15	2,14	1,90	1,90
Colina total (mg kg <sup>-1</sup> )	16.160	16.171	14.607	14.632	12.9990	13.024
Sódio (g g <sup>-1</sup> )	2,00	2,00	1,80	1,80	1,60	1,60
Cloro (g g <sup>-1</sup> )	3,16	3,17	2,87	2,88	2,58	2,59

<sup>1</sup>Bentonita; <sup>2</sup>Conteúdo por kg do produto: Vit. A (min) 32.000 UI, Vit. D<sub>3</sub> (min) 8.000 UI, Vit. E (min) 60.000 UI, Vit. K<sub>3</sub> (min) 6.000 mg, Vit. B<sub>1</sub> (min) 7.200 mg, Vit. B<sub>2</sub> (min) 20.000 mg, Vit. B<sub>6</sub> (min) 9.600 mg, Vit. B<sub>12</sub> (min) 40.000 mcg. ácido pantotênico (min) 36.000 mg, Niacina (min) 108.000 mg, ácido fólico (min) 3.300 mg, biotina (min) 160 mg, BHT 290 mg; <sup>3</sup>Conteúdo por kg do produto: Cobre (min) 16 g, Ferro (min) 100 g, Manganês (min) 140 g, Zinco (min) 120 g, Iodo (min) 1600 mg, Selênio (min) 600 mg; <sup>4</sup> \*A  $\alpha$ -amilase substituiu o caulim em kg kg<sup>-1</sup>. CP: controle positivo; CN: controle negativo.

**Fonte: Autoria própria (2022)**

Os tratamentos foram constituídos por: (1) controle positivo (CP), (2) controle negativo (CN) com adição de 100 kcal de EM kg<sup>-1</sup> de dieta, (3) CN com inclusão de 100 g de alfa-amilase kg<sup>-1</sup> de dieta e (4) CN com inclusão de 200 g de alfa-amilase kg<sup>-1</sup>

<sup>1</sup> de dieta. As dietas CP e CN foram formuladas para atender às exigências nutricionais das aves, exceto pelos valores de energia metabolizável nas dietas CN. A inclusão da alfa-amilase nas dietas substituiu o material inerte (caulim).

A enzima alfa-amilase (sunamy amylase<sup>®</sup>, Wuhan City, Hubei, China) utilizada foi produzida pela fermentação de *Bacillus subtilis*, com atividade mínima de 1000 U kg<sup>-1</sup> e solubilidade in vitro de 48,5% e 34,4% em solução ácida e básica, respectivamente.

### 3.3 Desempenho zootécnico e rendimento de carcaça

As aves foram pesadas aos 1, 21 e 42 dias de idade para monitorar o ganho de peso. Nas trocas de rações, foram pesadas as sobras e os desperdícios para determinar o consumo de ração nos períodos de 21 e 42 dias de idade. A conversão alimentar foi calculada dividindo a quantidade de ração consumida pelo ganho de peso no mesmo período. A mortalidade foi registrada diariamente para correção do consumo de ração e da conversão alimentar, seguindo a metodologia descrita por Sakomura e Rostagno (2016).

Aos 42 dias de idade, após a pesagem das aves, duas aves por boxe foram selecionadas ao acaso, pesadas individualmente, marcadas e sacrificadas. A insensibilização foi realizada por eletronarcolese, seguida de sangria total. Imediatamente, as aves foram escaldadas a 60°C e depenadas em uma depenadeira industrial para seis aves. Após a depena, as carcaças foram evisceradas, com coleta do fígado e do pâncreas para pesagem e determinação do peso relativo (NUNES et al., 2016).

Toda a gordura visceral, composta pelo tecido adiposo presente ao redor da cloaca, moela, proventrículo e dos músculos abdominais adjacentes, foi retirada, quantificada e determinada a porcentagem de gordura abdominal na carcaça (NUNES et al., 2016).

Após a evisceração, as carcaças foram lavadas e submersas em água com gelo para resfriamento a uma temperatura de aproximadamente 5°C por um período de 60 minutos. Após o resfriamento das carcaças, estas foram submetidas ao processo de gotejamento com duração de 10 minutos. Em seguida, as carcaças foram pesadas para determinação do rendimento de carcaça (NUNES et al., 2016).

As carcaças foram resfriadas em água com gelo por 30 minutos e depois penduradas para retirada do excesso de água por 10 minutos. Em seguida, as carcaças foram pesadas e esposteçadas, obtendo-se as seguintes partes: pernas (coxa e sobrecoxa), asas, filé de peito e sassami. Após a obtenção dos cortes, estes foram pesados e os rendimentos de cortes foram calculados (NUNES et al., 2016).

Todos os procedimentos de abate e sacrifício das aves seguiram as normas da Resolução CFMV nº 1000/2012 (CFMV, 2012) e da Instrução Normativa nº 03 de 17 de janeiro de 2000 da DSA/MAPA (BRASIL, 2000), que estabelecem os Métodos de Insensibilização para o Abate Humanitário.

### **3.4 Análise dos parâmetros bioquímicos séricos**

A colheita de sangue foi realizada aos 40 dias de idade, sendo coletados 4 ml de sangue de uma ave por boxe (NUNES et al., 2018). O sangue foi coletado por punção braquial através da veia ulnar, com as aves em decúbito lateral, utilizando-se tubos para coleta de sangue a vácuo em vidro 13 × 75 mm com ativador de coágulo e capacidade de 5 mL (CRAL, Cotia, São Paulo, SP, Brasil), adaptadores específicos e agulha para coleta à vácuo 25 × 0,8 mm (Labor Import - Shandong Weigao, Weihai, Xantum, China).

Após a coleta, as amostras permaneceram em decúbito horizontal por 15 minutos e em seguida foram centrifugadas (Kasvi brand, K14-4000, Curitiba, PR, Brasil) a 1.050 g por 10 minutos em temperatura ambiente. Após a separação do soro, as amostras foram identificadas e colocadas em microtubos de 2 mL (CRAL, Cotia, SP, Brasil) e armazenadas em freezer a -20°C até o momento da análise.

Para a realização das leituras, as amostras foram descongeladas sob refrigeração (4°C) em geladeira por 24 horas. Antes da realização das análises, as amostras foram centrifugadas em microcentrífuga (Eppendorf® brand, Minispin®, Hamburg, HH, Germany) a 1.050 g por 10 minutos em temperatura ambiente para retirada de possíveis presenças de fibrina.

As leituras dos parâmetros bioquímicos foram realizadas em analisador bioquímico automático, com espectrofotometria no equipamento Flexor EL200 (Elitech® brand, Flexor EL200 model, Puteaux, France), utilizando reagentes, calibradores (Elical II) e padrões de medida (Elitrol I) da marca Elitech®.

Os parâmetros avaliados foram: ácido úrico com base no método Trinder, enzimático colorimétrico de ponto final (TRINDER, 1969); glicose pelo método de Trinder, enzimático colorimétrico cinético (TRINDER, 1969); colesterol pelo método de Trinder, enzimático colorimétrico de ponto final (ALLAIN et al., 1974); triglicerídeos pelo método enzimático colorimétrico de ponto final (FOSSATI e PRENCIPE, 1982); proteínas totais pelo método de biureto de ponto final (RIFAI et al., 2018); albumina pelo método colorimétrico verde de bromocresol (BCG) (DOUMAS e BIGGS, 1972; WU, 2006); e creatinina pelo método de Jaffe colorimétrico cinético (RIFAI et al., 2018).

As concentrações das atividades enzimáticas de aspartato aminotransferase (AST) foram determinadas pelo método IFCC sem fosfato de piridoxal, cinético, UV (SCHUMAN et al., 2002a); alanina aminotransferase (ALT) pelo método IFCC sem fosfato de piridoxal, cinético, UV (SCHUMAN et al., 2002b); gamma glutamiltransferase (GGT) pelo método substrato glupa C, cinético (SCHUMAN et al., 2002c); amilase pelo método CNP-G3 padronizado contra o método IFCC, cinético (WINN-DEEN, et al., 1988); desidrogenase láctica (LDH) pelo método IFCC, cinético (SCHUMANN et al., 2002d); e creatina fosfoquinase (CPK) pelo método IFCC, cinético (SCHUMANN et al., 2002e).

### **3.5 Morfometria intestinal**

Fragmentos de 5 cm do intestino delgado na porção jejunal das aves abatidas aos 35 dias foram coletados para a mensuração da altura de vilosidade, profundidade de cripta e relação altura de vilosidade: profundidade de cripta.

Para a amostragem, foi considerado visualmente o segmento do duodeno a partir do piloro até a porção distal da alça intestinal e o segmento do jejuno a partir da porção distal da alça duodenal até o divertículo de Meckel.

Os fragmentos coletados foram fixados em solução de formalina tamponada (10%), desidratados em séries crescentes de etanol e incluídos em parafina. Cortes semisseriados de 5 µm de cada segmento foram dispostos em lâminas de vidro e corados pela técnica de hematoxilina-eosina, de acordo com Luna (1968).

As mensurações foram realizadas utilizando o sistema de imagens PROPLUS IMAGE 4.1. Para cada lâmina, foram mensurados o comprimento de 30 vilos e a profundidade de suas respectivas criptas. Essas medidas morfométricas foram

utilizadas para o cálculo da relação altura de vilo:profundidade de cripta, dividindo-se o valor da altura do vilo pelo valor da profundidade de cripta.

### **3.6 Ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo cecal**

Para a quantificação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), uma ave por boxe aos 35 dias de idade foi sacrificada para a coleta do conteúdo cecal, conforme Del Valle et al. (2018).

O conteúdo cecal foi retirado, e 200 mg foram pesados e transferidos para microtubos de 2 mL (CRAL, Cotia, SP, Brasil) devidamente identificados. Um total de 1800 µL de solução de NaOH a 1% (m/v) foi adicionado ao conteúdo cecal. Em seguida, os microtubos foram homogeneizados em vortex multifuncional (Kasvi Brand, K40-1010, São José dos Pinhais, PR, Brasil) por 2 min a 3.000 g.

Após a homogeneização, os microtubos foram centrifugados (Kasvi Brand, K14-4000, Paraná, Brasil) a 1.050 g por 5 min, para a completa sedimentação da fração sólida da amostra. Um volume de 900 µL do sobrenadante foi transferido (Micropipeta monocanal Plus 100 – 1000 µL, Kasvi, K1 - P1000, Paraná, Brasil) para microtubos (CRAL, Cotia, SP, Brasil) novos e acidificados com 50 µL (Micropipeta monocanal Plus 10 – 100 µL, Kasvi, K1 - P100, Paraná, Brasil) de solução de ácido ortofosfórico 50% (m/v).

As amostras acidificadas foram homogeneizadas (Kasvi Brand, K40-1010, São José dos Pinhais, PR, Brasil) por 30 seg a 3.000 g e armazenadas em freezer a -20°C até as leituras.

As concentrações dos ácidos acético, propanoico, butírico, valérico e isovalérico nas amostras foram determinadas por cromatografia gasosa utilizando cromatógrafo Shimadzu© GC-2010 Plus equipado com injetor automático AOC-20i, coluna capilar Stabilwax-DA™ (30m, 0,25 mm DI, 0,25 µm df, Restek©) e detector de ionização de chama, após acidificação com ácido ortofosfórico 1 M p.a. (Ref. 100573, Merck©) e fortificação com uma mistura de ácidos voláteis livres (Ref. 46975, Supelco©).

Uma alíquota de 1 µL de cada amostra foi injetada com split ratio de 40:1, utilizando gás hélio como carreador e velocidade linear de 42 cm/s. A separação dos analitos foi obtida em uma corrida cromatográfica de 11,5 min. As temperaturas do injetor e do detector foram, respectivamente, 250°C e 300°C, e a temperatura inicial

da coluna foi de 40°C. A rampa de temperatura da coluna começou com um gradiente de 40°C a 120°C a uma taxa de 40°C/min, seguido de um gradiente de 120°C a 180°C a uma taxa de 10°C/min e de 180°C a 240°C a uma taxa de 120°C/min, mantendo a temperatura em 240°C por mais 3 min ao final.

Para a quantificação dos analitos, uma calibração do método foi realizada com diluições do padrão WSFA-2 (Ref. 47056, Supelco®) e ácido acético glacial (Ref. 33209, Sigma-Aldrich®) analisados nas condições descritas acima. A determinação e integração dos picos foram realizadas utilizando o software GCsolution v. 2.42.00 (Shimadzu®). Os resultados foram expressos em mmol/kg.<sup>-1</sup>.

### **3.7 Análises estatísticas**

Os dados foram submetidos à análise de homogeneidade pelo teste de Levene e à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, utilizando o PROC UNIVARIATE.

Os dados discrepantes (outliers), quando identificados, foram avaliados e excluídos. Em seguida, os dados foram submetidos à análise unidirecional de variância (ANOVA). Quando foi detectado um efeito significativo ( $P < 0,05$ ), as médias dos tratamentos foram comparadas usando o teste de Student-Newman-Keuls pelo PROC GLM.

Todos os procedimentos foram realizados utilizando o software estatístico SAS.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com os resultados de desempenho, aos 21 dias de idade, foi observada diferença significativa para peso médio (PM,  $P < 0,001$ ), consumo de ração (CMR;  $P = 0,097$ ), ganho de peso (GP;  $P < 0,001$ ) e conversão alimentar (CA;  $P < 0,001$ ).

As aves que consumiram a dieta CP apresentaram melhor PM, GP e CA em comparação aos demais tratamentos dietéticos, enquanto as aves que receberam a dieta CN apresentaram pior CA.

No entanto, a inclusão de 100 ou 200 g  $\text{ton}^{-1}$  de alfa-amilase nas dietas proporcionou uma melhora intermediária, porém insuficiente em comparação com as aves que receberam a dieta CP (Tabela 2).

**Tabela 2 - Desempenho de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, recebendo dietas suplementadas ou não com alfa-amilase**

	PM (g)	CMR (g)	GP (g)	CA
Controle positivo (CP)	1.044 <sup>a</sup>	1.301 <sup>a</sup>	997 <sup>a</sup>	1,306 <sup>c</sup>
Controle negativo (CN)	970 <sup>b</sup>	1.263 <sup>b</sup>	923 <sup>b</sup>	1,369 <sup>a</sup>
CN + 100 g $\text{ton}^{-1}$ $\alpha$ -amilase	987 <sup>b</sup>	1.261 <sup>b</sup>	940 <sup>b</sup>	1,340 <sup>b</sup>
CN + 200 g $\text{ton}^{-1}$ $\alpha$ -amilase	977 <sup>b</sup>	1.245 <sup>b</sup>	930 <sup>b</sup>	1,340 <sup>b</sup>
EPM	20,12	31,24	19,92	0,02
Valores de P	<,001	0,097	<,001	<,001

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de SNK a 5% de probabilidade; PM: peso médio; CMR: consumo médio de ração; CA: conversão alimentar; GP: ganho de peso. Houve valorização de 100 kcal de EM  $\text{kg}^{-1}$  e de 200 kcal de EM  $\text{kg}^{-1}$  para observar seus resultados.

Fonte: Aatoria própria (2022)

Considerando o período total, não foi observada diferença ( $P > 0,05$ ) para CMR e viabilidade. No entanto, foram observados melhores resultados de PM ( $P < 0,001$ ), GP ( $P < 0,001$ ), ganho de peso diário (GPD;  $P < 0,001$ ), CA ( $P = 0,002$ ) e índice de eficiência produtiva (IEP;  $P < 0,001$ ) para as aves alimentadas com a dieta CP.

Por outro lado, para essas mesmas variáveis, foram observados resultados inferiores para as aves alimentadas com a dieta CN, evidenciando que a redução de 100 kcal  $\text{kg}^{-1}$  foi suficiente para afetar negativamente o desempenho dos animais.

As aves do grupo de controle negativo tiveram melhores resultados na CA, mas o IEP foi melhor quando 100 g  $\text{ton}^{-1}$  foram incluídos na dieta (Tabela 3).

**Tabela 3 - Desempenho de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade, recebendo dietas suplementadas ou não com alfa-amilase**

	PM	CMR	GP	GPD	CA	Viab	IEP
CP	3414 <sup>a</sup>	5282	3366 <sup>a</sup>	80,15 <sup>a</sup>	1,56 <sup>b</sup>	97,50	506 <sup>a</sup>
CN	3179 <sup>c</sup>	5198	3131 <sup>c</sup>	74,55 <sup>c</sup>	1,64 <sup>a</sup>	96,25	430 <sup>d</sup>

CN + 100 g ton <sup>-1</sup> α-amilase	3327 <sup>b</sup>	5187	3280 <sup>b</sup>	78,10 <sup>b</sup>	1,59 <sup>b</sup>	97,50	482 <sup>b</sup>
CN + 200 g ton <sup>-1</sup> α-amilase	3330 <sup>b</sup>	5235	3282 <sup>b</sup>	78,16 <sup>b</sup>	1,59 <sup>b</sup>	93,75	459 <sup>c</sup>
EPM	63,11	77,17	63,17	1,50	0,03	3,13	20,14
Valores de P	<,001	0,084	<,001	<,001	0,02	0,076	<,001

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de SNK a 5% de probabilidade; PM: peso médio; CMR: consumo médio de ração (g); CA: conversão alimentar; GP: ganho de peso médio (g); GPD: ganho de peso diário (g); Viab: viabilidade (%); IEP: índice de eficiência produtivo.

Fonte: Aatoria própria (2022)

Uma CA inferior observada aos 42 dias é um indicativo de que foi consumida uma menor quantidade de dieta para alcançar o peso corporal desejado. No entanto, no presente estudo, não foram observadas diferenças no CMR.

Embora o CMR aumente à medida que as aves envelhecem, é possível que a falta de efeito da suplementação de alfa-amilase no CMR esteja limitada à disponibilidade de substrato para a enzima (ADERIBIGBE et al., 2020).

A suplementação de alfa-amilase em dietas para frango de corte complementa as enzimas endógenas, reduzindo a síntese dessa enzima pelo pâncreas e resultando em menor gasto de energia, tornando-a mais disponível para o desenvolvimento das aves (GRACIA et al., 2003).

Contudo, o desempenho foi melhor em frangos alimentados com dietas CP ou com alfa-amilase. Isso sugere que as aves utilizaram melhor os ingredientes na dieta contendo a enzima, mesmo sem alteração no CMR e redução de EM.

Os resultados de desempenho ao final deste estudo mostraram que a dieta CN comprometeu o crescimento de frangos de corte aos 42 dias de idade. Além disso, foi observado um melhor resultado no ganho de peso, CA e IEP em frangos alimentados com dietas contendo alfa-amilase, atribuído a uma menor hidrólise de amido (STEFANELLO et al., 2015).

Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que a alfa-amilase cria poros no grânulo de amido, permitindo o acesso de enzimas endógenas ao conteúdo celular, reduzindo a viscosidade da digesta e aumentando a capacidade de absorção dos nutrientes pela ave (COWIESON et al., 2005; COWIESON et al., 2019; ADERIBIGBE et al., 2020b).

Giacobbo et al. (2021a) encontraram resultados similares ao avaliar as aves de 1 a 42 dias de idade. Os autores observaram que, mesmo com a redução de 100 kcal kg<sup>-1</sup> na dieta, a adição de alfa-amilase isoladamente ou em associação com

xilanase e protease melhorou a CA e o desempenho das aves de forma semelhante ao grupo CP.

Os estudos de Castro et al. (2020), Gracia et al. (2003), Stefanello et al. (2019) e Aderibigbe et al. (2020a) reforçam os benefícios da suplementação dietética com alfa-amilase em frangos de corte.

Castro et al. (2020) observaram que a adição de alfa-amilase em diferentes níveis em dietas com redução energética resultou em melhorias no desempenho e na conversão alimentar em frangos de corte. Esses resultados indicam que a alfa-amilase contribuiu para a utilização mais eficiente da energia dietética.

Gracia et al. (2003) e Stefanello et al. (2019) também observaram melhorias no uso de energia, na digestibilidade dos nutrientes e no desempenho em frangos de corte suplementados com alfa-amilase.

Aderibigbe et al. (2020a) demonstraram que a adição de alfa-amilase à dieta promoveu uma melhora na digestibilidade ileal do amido em frangos de corte. Além disso, eles observaram um aumento progressivo na ingestão de amido digerível ao longo das diferentes fases de crescimento das aves.

Esses estudos destacam a importância da suplementação com alfa-amilase na dieta de frangos de corte, fornecendo benefícios como melhoria no desempenho, aumento da digestibilidade dos nutrientes e melhor utilização da energia dietética.

Ao comparar o desempenho das aves aos 21 e 42 dias de idade, observou-se que as aves mais velhas tiveram um melhor aproveitamento da ação da alfa-amilase quando incluída na dieta.

Acredita-se que a idade da ave, associada ao desenvolvimento do trato gastrointestinal (TGI) e ao conteúdo da dieta, sejam fatores limitantes na ação de enzimas endógenas e exógenas.

Isso é justificado devido à atividade sinérgica entre a alfa-amilase endógena e exógena. A maturação do trato gastrointestinal das aves promove uma maior produção de alfa-amilase pancreática, sugerindo que as aves mais velhas se beneficiam mais da suplementação exógena de alfa-amilase em suas dietas (COWIESON et al., 2019).

Jiang et al. (2008) observaram uma redução significativa na expressão do mRNA da alfa-amilase pancreática e na atividade da amilase endógena em frangos de corte jovens suplementados com alfa-amilase exógena.

Aderibigbe et al. (2020a) e Kalil et al. (2020) relataram que a capacidade digestiva das aves é limitada durante o início da vida, e a digestibilidade dos nutrientes geralmente aumenta com o avanço da idade. Logo, a utilização da enzima alfa-amilase pode ser limitada na fase inicial dos frangos devido ao fato de que o trato gastrointestinal ainda está imaturo.

Concordando, Zhu et al. (2014) avaliaram diferentes níveis de energia metabolizável (EM) e suplementação enzimática (xilanase,  $\beta$ -glucanase e  $\alpha$ -amilase) no período de 1 a 21 dias de idade. Relataram que não houve efeito significativo das dietas contendo enzimas sobre os parâmetros de consumo de ração (CMR) e ganho de peso médio (GPM). No entanto, conforme os referidos autores, a suplementação não foi avaliada no período total de produção (1 a 42 dias).

Da mesma forma, no estudo de Giacobbo et al. (2021a), não foram observadas diferenças no rendimento de carcaça, peito, pernas e asas de frangos de corte que receberam dietas suplementadas com alfa-amilase e redução energética de 100 kcal kg<sup>-1</sup>.

Castro et al. (2020) também afirmam que a adição de alfa-amilase em diferentes níveis (250 g ton<sup>-1</sup>, 500 g ton<sup>-1</sup>, 750 g ton<sup>-1</sup>, 1000 g ton<sup>-1</sup>) em dietas com redução energética de 200 kcal kg<sup>-1</sup> não foi capaz de alterar o rendimento de carcaça e cortes (peito, pernas e coxa), o percentual de gordura abdominal e o peso relativo do fígado e pâncreas.

Conforme Amerah et al. (2017), não foi possível observar alterações nas características de carcaça, cortes (peito e pernas) e gordura abdominal com redução energética de 86 kcal kg<sup>-1</sup> e a adição de alfa-amilase sozinha ou em combinação com a protease e xilanase nas dietas de frango de corte.

Govil et al. (2017) indicam um maior rendimento de carcaça para as aves que receberam dietas com redução energética de 100 kcal kg<sup>-1</sup> e suplementação com um complexo de multacarbohidrases (xilanase, mananase e amilase). Esses resultados sugerem que a presença de outras enzimas na composição do suplemento pode ter causado essa alteração.

De acordo com Mendes et al. (2004), o nível energético da dieta influencia diretamente o desempenho de frangos de corte. Embora o aumento do nível de energia das rações proporcione maior ganho de peso, esse aumento de energia pode resultar em maior deposição de gordura na carcaça das aves. Toda energia que

excede as exigências da ave para manutenção e síntese de tecido muscular é armazenada como gordura (KESSLER et al., 2000).

A redução de peso do pâncreas pode estar relacionada a uma menor secreção de enzimas endógenas, conseqüentemente influenciada pela atividade de enzimas e conteúdo de substratos, ou por produtos da hidrólise de nutrientes no lúmen intestinal (ADERIBIGBE et al., 2020a). Contudo, não se observou diferença desse parâmetro no presente estudo.

Esses resultados obtidos estão de acordo com Aderibigbe et al. (2020a), que observaram ausência de resposta no peso relativo do pâncreas em frangos de corte alimentados com dietas contendo alfa-amilase. Zhu et al. (2014) também perceberam que a redução energética na dieta associada a um complexo de multcarboidrases (xilânase,  $\beta$ -glucanase e alfa-amilase) não alterou o peso do pâncreas e fígado em frangos de corte.

A deposição excessiva de gordura na região abdominal das aves fica na moela, o que diminui a eficiência alimentar das aves e acarreta maior descarte de carcaças (MOREIRA et al., 2018). Como o fígado sintetiza grande parte da gordura abdominal (ZHANG et al., 2020), o peso relativo desse órgão é influenciado diretamente pelo metabolismo lipídico da ave e a deposição de gordura abdominal.

No entanto, Cardoso et al. (2011) não constataram efeitos significativos da suplementação enzimática sobre a percentagem de gordura abdominal dos frangos de corte, corroborando com os resultados desta pesquisa. Por outro lado, Neto et al. (2012) observaram que a suplementação enzimática com a enzima alfa-amilase reduziu a gordura abdominal, possibilitando a disponibilidade de mais nutrientes para a síntese muscular, sem a necessidade de desaminar aminoácidos para fornecer energia. Portanto, especula-se que os níveis de alfa-amilase testados não foram suficientes para alterar esse parâmetro.

O rendimento de carcaça foi maior ( $P=0,006$ ) para as aves que receberam a dieta CP em comparação aos demais tratamentos dietéticos (Tabela 4). Ainda assim, mesmo com um maior rendimento de carcaça, não foi observada diferença significativa para os rendimentos de filé de peito ( $P=0,999$ ), sassami ( $P=0,986$ ), coxa e sobrecoxa ( $P=0,370$ ) e asas ( $P=0,832$ ) (Tabela 4). Em adição, o percentual de gordura abdominal ( $P=0,117$ ) e a utilização da alfa-amilase em dietas não modificou o peso relativo do fígado ( $P=0,096$ ) e do pâncreas ( $P=0,391$ ) (Tabela 4).

Para morfometria intestinal no jejuno, não houve efeito de tratamento para nenhum dos parâmetros avaliados (profundidade de cripta;  $P=0,234$ ) (altura de vilosidade;  $P=0,896$ ) (V:C;  $P=0,598$ ) (Tabela 5).

Sangalli et al. (2021) relataram que o uso de um complexo de multcarboidrase em dietas favoreceu a hidrólise de substratos, permitindo melhor desenvolvimento na histologia intestinal. Similarmente a este estudo, os autores supramencionados utilizaram o milho e o farelo de soja como dieta base e não observaram alterações na morfometria jejunal, justificando que a metabolização desses ingredientes devido à sua alta digestibilidade e a presença de baixos teores de fatores antinutricionais reduzem danos à mucosa intestinal, explicando a falta de efeito das enzimas na morfometria intestinal.

**Tabela 4 - Rendimento de carcaça, cortes, peso relativo de fígado, pâncreas e percentual de gordura abdominal de frangos de corte processadas aos 42 dias de idade recebendo dietas suplementas ou não com alfa-amilase**

Tratamentos	RC (%)	RA (%)	RF (%)	RP (%)	RS (%)	PRGA (%)	PRF (%)	PRP (%)
CP	71,07 <sup>a</sup>	9,51	28,53	33,10	5,70	1,45	1,64	0,18
CN	69,48 <sup>b</sup>	9,54	28,48	32,88	5,65	1,46	1,67	0,17
CN + 100 g ton <sup>-1</sup> α-amilase	69,77 <sup>b</sup>	9,71	28,46	32,75	5,64	1,25	1,68	0,18
CN + 200 g ton <sup>-1</sup> α-amilase	68,94 <sup>b</sup>	9,75	28,50	32,26	5,67	1,57	1,79	0,17
EPM	1,68	0,87	1,80	1,37	0,50	0,36	0,16	0,02
Valores de P	0,006	0,832	0,999	0,370	0,986	0,117	0,096	0,391

Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste SNK a 5% de probabilidade. RC: rendimento de carcaça; RA: rendimento de asa; RF: rendimento de filé de peito; RP: rendimento de pernas; RS: rendimento de filé sassami; PRGA: percentual de gordura abdominal; PRF: peso relativo do fígado; PRP: peso relativo do pâncreas.

Fonte: Autoria própria (2022)

**Tabela 5 - Altura de vilo (μm), profundidade de cripta (μm), relação altura de vilo:profundidade de cripta dos segmentos duodeno e jejuno de frangos de corte aos 35 dias recebendo dietas suplementadas ou não com α-amilase**

Tratamentos	Duodeno			Jejuno		
	Profundidade de cripta(μm),	Altura de vilo (μm)	V:C	Profundidade de cripta (μm)	Altura de vilo (μm),	V:C
CP	136,89 <sup>b</sup>	1054,44 <sup>a</sup>	7,71 <sup>b</sup>	122,23	715,24	5,83
CN	108,55 <sup>c</sup>	1036,95 <sup>a</sup>	9,55 <sup>a</sup>	125,52	723,62	5,76
CN + 100 g ton <sup>-1</sup> α-amilase	110,72 <sup>c</sup>	854,83 <sup>b</sup>	7,74 <sup>b</sup>	132,01	735,72	5,58
CN + 200 g ton <sup>-1</sup> α-amilase	153,54 <sup>a</sup>	1033,71 <sup>a</sup>	6,75 <sup>b</sup>	129,00	717,71	5,55
EPM	8,00	40,91	0,35	8,59	97,17	0,59
Valores de P	<0,001	<0,001	<0,001	0,234	0,896	0,598

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de SNK a 5% de probabilidade. V:C: relação altura de vilo: profundidade de cripta.

Fonte: Autoria própria (2022)

Contudo, resultados discrepantes foram encontrados por Aderibigbe et al. (2020b), que adicionaram alfa-amilase na dieta de frangos de corte atendendo as exigências nutricionais e obtiveram maior altura de vilosidade no jejuno em comparação com CP. Porém, os autores ressaltaram que esses resultados podem ser influenciados pela formulação da dieta, idade da ave e tipo de amido.

Zhu et al. (2014) reduziram o conteúdo de energia em dietas com adição de um complexo de multcarboidrases (xilanase,  $\beta$ -glucanase e alfa-amilase) para frangos de corte e observaram maior altura das vilosidades. Todavia, as propriedades específicas da dieta, tipo de cereal, nível de inclusão e fatores relacionados às aves podem contribuir para a variação nos resultados de morfometria em dietas suplementadas com alfa-amilase (SVIHUS, 2014).

Cowieson et al. (2019) relataram que existem diferentes tipos de amido, dependendo da proporção entre a amilopectina e a amilose. O amido é um composto heterogêneo e complexo que tem um impacto direto na consistência da digesta e na digestibilidade do amido. A variação na composição e estrutura do amido pode afetar sua degradação e absorção no trato digestivo.

Os parâmetros bioquímicos séricos e a atividade enzimática no soro das aves aos 40 dias de idade não foram afetados pela redução da energia metabolizável (EM) e pelo uso de alfa-amilase na dieta. Isso indica que a valorização energética e o uso da alfa-amilase nos níveis testados não causaram distúrbios metabólicos nos animais durante o período de 1 a 42 dias de idade, conforme indicado nas Tabelas 6 e 7.

Os parâmetros bioquímicos do sangue alterados estão relacionados a distúrbios metabólicos, hepáticos e renais. Neste estudo, as aves apresentaram todos os parâmetros dentro da normalidade para aves saudáveis, de acordo com Nunes et al. (2018). Esses resultados indicaram que a redução de EM e a inclusão de alfa-amilase não alteram o metabolismo sérico.

A taxa de digestão e absorção do amido afeta o metabolismo lipídico das aves (ZHANG et al., 2020). O tecido adiposo das aves é um local de armazenamento de gordura, porém, a síntese de gordura ocorre principalmente no fígado e o desenvolvimento do tecido adiposo depende da utilização de glicose e triglicerídeos plasmáticos sintetizados nesse órgão (HERMIER, 1997; HAN et al., 2009).

Os resultados do presente estudo para as concentrações de glicose e de triglicerídeos sustentam os resultados encontrados para a percentagem de gordura abdominal e peso relativo do fígado. A digestão do amido é realizada a partir da

hidrólise completa em monômeros de glicose que são absorvidos pelas células epiteliais intestinais (COWIESON, 2005).

Apesar da influência da concentração de glicose sérica devido à digestibilidade de amido, Yin et al. (2014) também não encontraram alterações nos parâmetros bioquímicos avaliados (glicose, triglicerídeos e colesterol) ao adicionar alfa-amilase na dieta de frangos de corte.

Em um estudo conduzido por Silva et al. (2019), não foi observada alteração nas concentrações séricas de colesterol, triglicerídeos, glicose e proteínas totais com a adição de carboidrases na dieta das aves. No entanto, foi observado que os níveis de creatinina e gamma-glutamil transferase apresentaram concentrações reduzidas dentro dos valores considerados normais para aves saudáveis.

**Tabela 6 - Parâmetros bioquímicos séricos de frangos de corte, aos 40 dias de idade, recebendo dietas suplementadas ou não com alfa-amilase**

Tratamentos	Glicose (mg dL <sup>-1</sup> )	Colesterol total (mg dL <sup>-1</sup> )	Triglicerídeo (mg dL <sup>-1</sup> )	Albumina (g L <sup>-1</sup> )	Proteínas totais (g L <sup>-1</sup> )	Ácido úrico (mg dL <sup>-1</sup> )	Creatinina (mg dL <sup>-1</sup> )
CP	319,87	144,71	66,17	16,57	34,73	3,90	0,21
CN	313,29	136,82	74,15	16,91	36,34	5,29	0,21
CN + 100 g ton <sup>-1</sup> α-amilase	322,44	140,89	76,52	17,42	35,90	4,93	0,20
CN + 200 g ton <sup>-1</sup> α-amilase	314,60	148,66	69,86	16,54	33,80	5,43	0,21
EPM	16,07	14,67	17,78	1,37	3,14	1,65	0,02
Valor de P	0,465	0,211	0,447	0,343	0,200	0,079	0,628

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de SNK a 5% de probabilidade.

Fonte: A autoria própria (2022)

**Tabela 7 - Atividade enzimática de enzimas séricas de frangos de corte, aos 40 dias de idade, recebendo dietas suplementadas ou não com alfa-amilase**

Tratamentos	ALT <sup>1</sup> (IU L <sup>-1</sup> )	Amilase (IU L <sup>-1</sup> )	AST <sup>2</sup> (IU L <sup>-1</sup> )	GGT <sup>3</sup> (I L <sup>-1</sup> )	LDH <sup>4</sup> (IU L <sup>-1</sup> )	CPK <sup>5</sup> (IU L <sup>-1</sup> )
CP	12,18	896	364,48	17,25	1923	34826
CN	12,84	1027	413,49	14,69	2547	41509
CN + 100 g ton <sup>-1</sup> α-amilase	12,80	915	416,61	15,15	2582	45827
CN + 200 g ton <sup>-1</sup> α-amilase	11,43	895	387,60	16,76	2143	39358
EPM	2,94	191,61	117,80	4,02	783,16	19811,33
Valor de P	0,591	0,231	0,619	0,289	0,119	0,547

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de SNK a 5% de probabilidade. <sup>1</sup>ALT: alanina transferase; <sup>2</sup>AST: aspartato aminotransferase; <sup>3</sup>GGT: gamma glutamiltransferase; <sup>4</sup>LDH: desidrogenase láctica; <sup>5</sup>CPK: creatinofosfoquinase.

Fonte: A autoria própria (2022)

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) são ácidos orgânicos produzidos pela fermentação microbiana no ceco, principalmente a partir de carboidratos dietéticos não digeridos, como amidos resistentes e fibras dietéticas (CANANI et al., 2011).

A redução de 100 kcal kg<sup>-1</sup> de energia metabolizável na dieta afetou negativamente o desempenho das aves e provavelmente alterou a composição da microbiota cecal (AVINEWS, 2020), resultando em uma produção de ácido acético e butírico menor em comparação com as aves alimentadas com a dieta contendo alfa-amilase.

A atuação da alfa-amilase em seu substrato específico no trato gastrointestinal superior das aves melhora o aproveitamento dos nutrientes, proporcionando mais substratos disponíveis (como oligossacarídeos ou monossacarídeos) para a fermentação microbiana no ceco. Isso favorece a produção de energia a partir de substratos indigeríveis e o desenvolvimento de uma microbiota saudável (ATTIA et al., 2013; ONRUST et al., 2015).

Os resultados sugerem que a concentração superior de ácido acético e butírico em aves alimentadas com dietas contendo 200 g ton<sup>-1</sup> de alfa-amilase promove benefícios na integridade da barreira epitelial e na proliferação de células epiteliais (ATTIA et al., 2013; ONRUST et al., 2015).

**Tabela 8 - Concentração de ácidos graxos de cadeia curta, no conteúdo cecal de frangos de corte, aos 35 dias de idade, recebendo dietas suplementadas ou não com alfa-amilase**

Tratamentos	Acético	Propanóico	Isobutírico	Butírico	Isovalérico	Valérico
	mmol kg <sup>-1</sup>					
CP	39,99 <sup>a</sup>	4,032	0,350	7,709 <sup>ab</sup>	0,525	0,505
CN	30,07 <sup>c</sup>	3,488	0,397	5,071 <sup>b</sup>	0,535	0,368
CN + 100 g ton <sup>-1</sup> α-amilase	34,54 <sup>b</sup>	4,196	0,332	7,657 <sup>ab</sup>	0,503	0,501
CN + 200 g ton <sup>-1</sup> α-amilase	38,60 <sup>a</sup>	4,063	0,226	9,249 <sup>a</sup>	0,388	0,497
EPM	0,82	0,08	0,02	0,35	0,03	0,02
Valor de P	0,005	0,265	0,214	0,003	0,493	0,085

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de SNK a 5% de probabilidade.

Fonte: Aatoria própria (2022)

Os resultados indicaram que as aves alimentadas com a dieta contendo alfa-amilase em diferentes concentrações apresentaram uma maior concentração de ácido acético em comparação com as aves alimentadas com a dieta sem alfa-amilase. Além disso, a adição de alfa-amilase em 100 g ton<sup>-1</sup> também resultou em uma maior concentração de ácido acético em comparação com a dieta sem alfa-amilase.

Essas alterações promovidas pela adição de alfa-amilase na dieta podem aumentar a digestibilidade do amido e reduzir as quantidades de componentes não digeríveis que chegam ao ceco, potencialmente limitando o crescimento de bactérias patogênicas (FLORES et al., 2016).

A maior concentração de ácido butírico e acético pode desempenhar diferentes mecanismos, como a diminuição do nível de metabólitos bacterianos tóxicos e patogênicos, o que contribui para uma maior disponibilidade de nutrientes, melhora na digestibilidade de proteínas e energia, e maior eficiência alimentar (WIELEN et al., 2008; ADIL et al., 2010; SUNKARA et al., 2011; QAISRANI et al., 2015).

## 5 CONCLUSÕES

Com base nos critérios mencionados, a inclusão de a inclusão de 200 g ton<sup>-1</sup> de alfa-amilase em dietas com redução energética de 100 kcal kg<sup>-1</sup> fornecidas a frangos de corte, demonstrou melhorar o desempenho de crescimento aos 42 dias de idade. Isso foi atribuído ao efeito benéfico na altura das vilosidades duodenais e ao aumento das concentrações de ácido acético e butírico no conteúdo cecal.

Além disso, a suplementação com alfa-amilase, independentemente do nível utilizado nas dietas com redução de 100 kcal kg<sup>-1</sup> de EM, não afetou negativamente o rendimento de carcaça e cortes, o perfil sanguíneo e o peso relativo dos órgãos. Isso indica que a inclusão de alfa-amilase nessas condições não teve impacto negativo nessas variáveis avaliadas.

Esses resultados sugerem que a suplementação com alfa-amilase em dietas com redução energética pode melhorar o desempenho de crescimento das aves, promover benefícios na saúde intestinal e não afetar negativamente outras características avaliadas, como o rendimento de carcaça e o perfil sanguíneo.

## REFERÊNCIAS

- ADEOLA, O.; JENDZA, J.A.; SOUTHERN, L.L.; POWELL, S.; OWUSU-ASIEDU, A. Contribution of exogenous dietary carbohydrases to the metabolizable energy value of corn distillers grains for broiler chickens. **Poultry Science** 89:1947-1954.2010.
- ADERIBIGBE, A.: COWIESON, J. A.: SORBARA, O. J.: ADEOLA, O.: **Growth phase and dietary  $\alpha$ -amylase supplementation effects on nutrient digestibility and feedback enzyme secretion in broiler chickens.** Poultry science, v. 99, n. 12, p. 6867-6876, 2020.
- ADERIBIGBE, A.: COWIESON, J. A.: SORBARA, O. J.: ADEOLA, O.: **Intestinal starch and energy digestibility in broiler chickens fed diets supplemented with  $\alpha$ -amylase.** Poultry science, v. 99, n. 11, p. 5907-5914, 2020b.
- ADIL, S.; BANDAY,, T.; BHAT, G. A.; MIR, M. S.; REHMAN, M. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. **Veterinary medicine international**, v. 2010, 2010.
- ALAGAWANY, M.; ELNESR, S.S.; FARAG, M.R. The role of exogenous enzymes in promoting growth and improving nutrient digestibility in poultry. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v.19, n.3, p.157–164, 2018.
- ALCÁZAR-ALAY, Sylvia Carolina; MEIRELES, Maria Angela Almeida. Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 35, n. 2, p. 215-236, jun. 2015.
- ALLAIN, C. C.; POON, L. S.; CHAN, C. S.; RICHMOND, W. F. P. C.; FU, P. C. **Enzymatic determination of total serum cholesterol.** Clinical chemistry, v. 20, n. 4, p.470-475, 1974.
- ALJUMAAH, Mashael R. et al. **Organic acid blend supplementation increases butyrate and acetate production in Salmonella enterica serovar Typhimurium challenged broilers.** PLoS One, v. 15, n. 6, p. e0232831, 2020.
- AMERAH, A. M., ROMERO, L. F.; AWATI, A.; RAVINDRAN, V. Effect of exogenous xylanase, amylase, and protease as single or combined activities on nutrient digestibility and growth performance of broilers fed corn/soy diets. **Poultry Science**, v. 96, n. 4, p. 807-816, 2017.
- ANNISON, G. & CHOCT, M. Anti-nutritive activities of cereal non-starch polysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects. **World's Poultry Science Journal**, 47, 32-242, 1991.
- ATTIA, G. A., METWALLY, A. E., BEHEIRY, R. R.; FARAHAT, M. H. Effect of a multicarbohydrase supplementation to diets varying in metabolisable energy level on the performance, carcass traits, caecal microbiota, intestinal morphology, and nutrient

digestibility in broiler chickens. **Italian Journal of Animal Science**, v. 20, n. 1, p. 215-225, 2021.

ATTIA, Y. A. et al. Growing and laying performance of Japanese quail fed diet supplemented with different concentrations of acetic acid. **Italian Journal of Animal Science**, v. 12, n. 2, p. e37, 2013.

Avicultura Industrial. **Relatorio anual 2021**. Disponível em: <<https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/producao-de-carne-de-frango-cresce-em-2021-mesmo-frente-a-adversidades/20220504-143012-k170>>. Acesso em 27 de Agos.2022.

BABATUNDE, O. O., PARK, C. S., ADEOLA, O. (2021). **Nutritional Potentials of Atypical Feed Ingredients for Broiler Chickens and Pigs**. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11(5), 1196. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ani11051196>> Acesso em: 09 out 2019.

BARLETTA, A; BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G; Introduction: **Current market and expected developments**. In. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 2.ed. 2011. Cap.4, p.85-95.

BEDE, D.; ZAIXIANG, L.; **Recent Developments in Resistant Starch as a Functional Food**. *Starch - Stärke*, v. 73, n. 3-4, p. 2000139, 21 dez. 2020.

BEDFORD, M. R.; APAJALAHTI, J. H. The role of feed enzymes in maintaining poultry intestinal health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, p. jsfa.11670, 2021.

BEDFORD, M.R; COWIESON, A.J. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. **Animal Feed Science and Technology**, 173, 76-85, 2012.

BELLO-PEREZ, L. A.; FLORES, S.; PAMELA, C.; AGAMA-ACEVEDO, E.; TOVAR, J.; Starch digestibility: past, present, and future. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 14, p. 5009-5016, 2020.

BIRD, A. et al. **Resistant starch, large bowel fermentation and a broader perspective of prebiotics and probiotics**. *Beneficial Microbes*, v. 1, n. 4, p. 423-431, 2010.

BORTOLUZZI, C. P. A. A.; MALLO, J. J.; PUYALTO, M.; KIM, W. K.; APPLGATE, T. J. Sodium butyrate improved performance while modulating the cecal microbiota and regulating the expression of intestinal immune-related genes of broiler chickens. **Poultry science**, v. 96, n. 11, p. 3981-3993, 2017.

CANANI, R. B. et al. Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. **World journal of gastroenterology**: WJG, v. 17, n. 12, p. 1519, 2011.

CARDOSO, D. M. et al. **Efeito do uso de complexo enzimático em rações para frangos de corte**. *Arquivos de Zootecnia*, v. 60, n. 232, p. 1053-1064, 2011.

CASTRO, S. D. F.; BERTECHINI, A. G.; LIMA, E. M. C.; CLEMENTE, A. H. S.; FERREIRA, V. G. G.; CARVALHO, J. C. C. D. **Effect of different levels of supplementary alpha-amylase in finishing broilers.** *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 42, 2020.

CHEN, J.; HAWKINS, E; SEUNG, D.; Towards targeted starch modification in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 60, p. 102013, 2021.

CHAMORRO, S., VIVEROS, A.; REBOLÉ, A.; ARIJA, I.; ROMERO, C.; ALVAREZ, I.; REY, A.; BRENES, A. Addition of exogenous enzymes to diets containing grape pomace: Effects on intestinal utilization of catechins and antioxidant status of chickens. **Food Research International**, 96, 226-234, 2017.

CHOCT, M.; DERSJANT-LI, Y.; MCLEISH, J.; PEISKER, M. Soy oligosaccharides and soluble non-starch polysaccharides: a review of digestion, nutritive and anti-nutritive effects in pigs and poultry. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 23, n. 10, p. 1386– 1398, 2010.

CÓRDOVA-NOBOA, Hernan A. et al. Corn kernel hardness, drying temperature and amylase supplementation affect live performance and nutrient utilization of broilers. **Poultry Science**, v. 100, n. 10, p. 101395, 2021.

CÓRDOVA-NOBOA, A. H.; RONDÓN-OVIEDO, O. E.; et al.; Corn drying temperature, particle size, and amylase supplementation influence growth performance, digestive tract development, and nutrient utilization of broilers. **Poultry science**, v. 99, n. 11, p. 5681-5696, 2020.

COWIESON, A. J.; VIEIRA, S. L.; STEFANELLO, C. Exogenous microbial amylase in the diets of poultry: what do we know?. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 28, n. 3, p. 556-565, 2019.

COWIESON, A. J. 2005. "Factors that affect the nutritional value of maize for 453 broilers." **Animal Feed Science and Technology** 119 (3-4): 293-305. 454 doi:10.1016/j.anifeedsci.2004.12.017.

COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Effect of exogenous enzymes in maize-based diets varying in nutrient density for young broilers: growth performance and digestibility of energy, minerals and amino acids. **British poultry science**, v. 49, n. 1, p. 37-44, 2008.

COWIESON, A. J. COWIESON, M. R. BEDFORD, V. Ravindran Interactions between xylanase and glucanase in maize-soy-based diets for broilers Br. **Poultry Science**, 51. pg. 246-257. 2010.

COWIESON, A. J. Starch digestibility, energy utilization, and growth performance of broilers fed corn-soybean basal diets supplemented with enzymes. **Poultry Science** 94:2472– 2479. 2019.

CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A. R.; MAGALHAES, P.C.; **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 517 p.

DAILIN, D.J.; MANAS, N.H.A.; AZLEE, N.I.W.; EYAHMALAY, J.; YAHAYA, S.A.; MALEK, R.A.; SIWAPIRAGAM, V.; SUKMAWATI, D.; ENSHASY, H.E. Current and Future Applications of Phytases in Poultry Industry: A Critical Review. **Journal of Advances in VetBio Science and Techniques**. v.3, n.3, p.65-64, 2018.

DALÓLIO, F. S. VAZ, D. P., MOREIRA, J., ALBINO, L. F. T., & VALADARES, L. R. **Carcass characteristics of broilers fed enzyme complex**. *Biotechnology in Animal Husbandry*, v. 31, n. 2, p. 153-162, 2015.

DA SILVA, I. M. et al. Dry residue of cassava associated with carbohydrases in diets for broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 28, n. 4, p. 1189-1201, 2019.

DELMASCHIO, I. B. Enzimas na alimentação de animais monogástricos – Revisão de literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária 2**: 06-20.2018.

DIÓGENES, A.F., CASTRO, C.; CARVALHO, M.; MAGALHÃES, R.; ESTEVÃO-RODRIGUES, T.T.; SERRA, C.R.; OLIVA-TELES, A.; PERES, H. **Exogenous enzymes supplementation enhances diet digestibility and digestive function and affects intestinal microbiota of turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles fed distillers' dried grains with solubles (DDGS) based diets**. *Aquaculture*, 486, 42-50. 2017.

DOUMAS, B.T.; BIGGS, H.G. **Determination of sérum albumin**. *Standard Methods of Clinical Chemistry*. Academic Press N.Y., 1972.

EMBRAPA. **Central de inteligência de Aves e Suínos**. <<https://www.embrapa.br/suinos-eaves/cias/custos/icpfrango>>. Acesso em: 09 out 2019.

EICHNER, G. Alternativas na formulação de dietas vegetarianas para frangos de corte. (Dissertação de Mestrado). **Universidade do Rio Grande do Sul**, Brasil, 2005.

FERNANDES, J. I. M. CONTINI, J. P.; PROKOSKI, K.; GOTTARDO, E. T.; CRISTO, A. B.; PERINI, R. Desempenho produtivo de frangos de corte e utilização de energia e nutrientes de dietas iniciais com milho classificado ou não e suplementadas com complexo enzimático. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, p. 181-190, 2017.

FILHO, R. M. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**. Idade da matriz e peso do ovo fértil sobre o desenvolvimento inicial de pintos. Disponível em: <file:///C:/Users/evert/Downloads/14586-37765-1-PB.pdf > Acesso em 23 Agos. 2022

FLORES, C. et al. Direct-fed microbial and its combination with xylanase, amylase, and protease enzymes in comparison with AGPs on broiler growth performance and foot-pad lesion development. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 25, n. 3, p. 328-337, 2016.

FOSSATI, P., PRENCIPE, L. **Serum triglycerides determined colorimetrically with An enzyme that produces hydrogen peroxide**. *Clinical chemistry*, v. 28, n. 10, p. 2077 - 2080, 1982.

FRANCESCH, M.; GERAERT, P. A. Enzyme complex containing carbohydrases and phytase improves growth performance and bone mineralization of broilers fed reduced nutrient corn-soybean-based diets. **Poultry Science**, v. 88, n. 9, p. 1915-1924, 2009.

FREITAS, E. R. et al. Valor nutricional do milho termicamente processado, usado na ração pré-inicial para frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 4, p. 510-517, 2005.

GARCIA, D. A.; GOMES, D. E. A avicultura brasileira e os avanços nutricionais. **Revista Científica**, v. 1, n. 1, 2019.

GRACIA, M. I.; ARANÍBAR, M. J.; MEDEL, P.; MATEOS, G. G. Alpha-amylase supplementation of broiler diets based on corn. **Poultry Science** 82: 436–442. 2003.

GIACOBBO, F. C. N. et al. **Influence of Enzyme Supplementation in the Diets of Broiler Chickens Formulated with Different Corn Hybrids Dried at Various Temperatures**. *Animals*, v. 11, n. 3, p. 643, 2021b.

GIACOBBO, F. C.N. et al. **Different enzymatic associations in diets of broiler chickens formulated with corn dried at various temperatures**. *Poultry science*, v. 100, n. 5, p. 101013, 2021a.

GOVIL, K.; NAYAK, S.; BAGHEL, R. P. S.; PATIL, A. K.; MALAPURE, C. D.; THAKUR, D. Performance of broiler chicken fed multicarbohydrases supplemented low energy diet. **Veterinary world**, 10(7), 727–731. Disponível em: <<https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.727-731>> . Acesso em: 13/02/2023.

HAN, C. C., J. W. WANG, FU, Z.Y. LI. L. Effects of glucose and insulin on the activity and transcription of fatty acid synthase in goose hepatocytes. **Journal of Agricultural Biotechnology** 17, 634-637, 2009.

HEDEMANN, M. S.; BACH KNUDSEN, K. E. Resistant starch for weaning pigs — Effect on concentration of short chain fatty acids in digesta and intestinal morphology. **Livestock Science**, v. 108, n. 1-3, p. 175-177, 2007.

HERMIER, D. Lipoprotein metabolism and fattening in poultry. **The Journal of nutrition**, v. 127, n. 5, p. 805S-808S, 1997.

HUANG, Q. W. C.; YAN, W.; SUN, C.; GU, S.; ZHENG, J.; YANG, N. Comparative analysis of the characteristics of digestive organs in broiler chickens with different feed efficiencies. **Poultry Science**, v. 101, n. 12, p. 102184, 2022.

HUSSEIN, E. O. S., et al. Growth, carcass characteristics, and meat quality of broilers fed a low-energy diet supplemented with a multienzyme preparation. **Poultry science**, v. 99, n. 4, p. 1988-1994, 2020.

ISAKSEN, M. F. et al. Starch- and Protein-degrading Enzymes: Biochemistry, Enzymology and Characteristics Relevant to Animal Feed Use. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in Farm Animal Nutrition**. 2.ed. 2011. Cap.4, p.85-95.

JIANG, F.; DU, C.; JIANG, W.; WANG, L.; DU, S.; The preparation, formation, fermentability, and applications of resistant starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 150, p. 1155-1161, maio 2020.

JIANG, Z., ZHOU, Y., LU, F., HAN, Z., & WANG, T. Effects of different levels of supplementary alpha-amylase on digestive enzyme activities and pancreatic amylase mRNA expression of young broilers. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 21, n. 1, p. 97-102, 2008.

JHA R, F. JM.; TIWARI, UP.; Li L, Wi. BP.; **Dietary fiber and intestinal health of monogastric animals**. *Front. Vet.Sci.* 2019; 6:48.

KESSLER, A. M.; SNIZEK, P.N.; BRUGALLI, I. **Manipulação da quantidade de gordura na carcaça de frangos**, In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. Anais Campinas: FACTA 107-133, 2000.

KONOPKA, I.; ROTKIEWICZ, D.; TAŃSKA, M.; Wheat endosperm hardness. Part II. **Relationships to content and composition of flour lipids**. *European Food Research and Technology*, v. 220, n. 1, p. 20-24, 28 out. 2004.

LEE, S. A. et al. Age and dietary xylanase supplementation affects ileal sugar residues and short chain fatty acid concentration in the ileum and caecum of broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 234, p. 29-42, 2017.

LIMA, A.C.F.; PIZAURO JR., J.M.; MACARI, M. et al. Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.200-207, 2003.

LOCKYER, S.; NUGENT, A. P. **Health effects of resistant starch**. *Nutrition Bulletin*, v. 42, n. 1, p. 10-41, 2017.

MACIEL, J.T.L.; BRITO, C.O.; SILVA, C.M. Enzimas exógenas sobre a microbiota intestinal: a expressão de genes e o desempenho de frangos de corte. **Ciência Animal**, v.30, n.2, p.138-152, 2020.

MACNEILL, G.J.; MEHRPOUYAN, S.; MINOW, M. A. A.; PATTERSON, J. A.; TETLOW, I. J.; EMES, M. J. Starch as a source, starch as a sink: the bifunctional role of starch in carbon allocation. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 16, p. 4433-4453, 20 jul.2017.

MADHU, S.; *et al.* **Infinite Polyiodide Chains in the Pyrroloperylene–Iodine Complex: Insights into the Starch–Iodine and Perylene–Iodine Complexes**. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 55, n. 28, p. 8032-8035, 2016.

MEHRI, M. et al. Effects of b-Mannanase on broiler performance, gut morphology and immune system. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 9, n. 37, p. 6221-6228, 2010.

MELLO, H. H. D. C., GOMES, P. C., ROSTAGNO, H. S., ALBINO, L. F. T., SOUZA, R. M. D., & CALDERANO, A. A. Valores de energia metabolizável de alguns alimentos obtidos com aves de diferentes idades. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 863-868, 2009.

MENDES, A.A.; MOREIRA, J.; OLIVEIRA, E.G.; GARCIA, E. A.; ALMEIDA, M. I. M.; GARCIA, R. G. Efeitos da energia da dieta sobre desempenho, rendimento de carcaça e gordura abdominal de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia** 33: 2300-2307, 2004.

MOREIRA, M. C. G. et al. **Integration of genome wide association studies and whole genome sequencing provides novel insights into fat deposition in chicken**. Scientific Reports, v. 8, n. 1, p. 16222, 2018.

NUNES, R.V.; BROCH, J.; WACHHOLZ, L. et al. Choosing sample sizes for various blood parameters of broiler chickens with normal and non-normal observations. **Poultry science**, v.97, n.10, p.3746-3754, 2018.

NUNES, R. V.; et al. **Levels of metabolizable energy and digestible lysine for broiler chicks 1-10 days of age**. Semina: Ciências Agrárias, v. 37, n. 4, p. 2691-2699, 2016.

OLUKOSI, O, A.; COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Age-related influence of cocktail of xylanase, amylase, and protease or phytase individually or in combination in broilers. **Poultry Science** 86, pg. 77-86. 2007.

ONRUST, LONNEKE, et al. Steering endogenous butyrate production in the intestinal tract of broilers as a tool to improve gut health. **Frontiers in veterinary science**, v. 2, p. 75, 2015.

ORDONEZ, M.J.; BRAVO, M.X.R.; SALDANA, D.F.R. Rol de las enzimas en la alimentación de mono-gástricos, con énfasis en pollos de engorde (Artículo de revisión). **Revista Ecuatoriana de Ciencia Animal**, v.2, n.3, p.25-42, 2018.

OTERO, R. M. L., Oligossacarídeos como ingredientes funcionales: Prebióticos. Disponível em: <http://www.icofma.es>. Acesso em: 20 Maio. 2003.

PASQUALI, G. A. M.; OLIVEIRA, R. F. D. et al. Performance and economic viability of broiler chicken fed diets with multienzyme complexes. Acta Scientiarum. **Animal Sciences**, v. 39, p. 91-96, 2017.

PEREIRA FILHO, A.; CRUZ, J. C.; COSTA, T. V. de. **Milho doce**. In: Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/producao/sistemas-diferenciais-de-cultivo>> Acesso em 05 Set. 2022.

PÉREZ, S.; BALDWIN, P. M.; GALLANT, D. J.; Structural Features of Starch Granules I. In: Starch. [s.l.]: Elsevier, 2009. p. 149-192.

PÉREZ, S.; BERTOFT, E. **The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: a comprehensive review**. Starch - Stärke, v. 62, n. 8, p. 389-420, 5 Jul. 2010.

PIOVESAN, V.; OLIVEIRA, V.; GEWEHR, C. E. 2011. **Milhos com diferentes texturas de endosperma e adição de alfa-amilase na dieta de leitões**. Ciência Rural 41:2014-2011.

PIRGOZLIEV, V.; ROSE, S.P.; IVANOVA, S. Feed additives in poultry nutrition. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v.25, p.8-11, 2019.

PUERTA, B.H. Efeito da suplementação da dieta de frangos contendo spirulina com enzimas exógenas sobre os índices zootécnicos e a qualidade da carne. Dissertação de mestrado. **Universidade de Lisboa**. Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa, 2019.

QAISRANI, S.N. et al. A estrutura da dieta, o ácido butírico e os carboidratos fermentáveis influenciam o desempenho do crescimento, a morfologia intestinal e as características da fermentação cecal em frangos de corte. **Ciência avícola**, v. 94, n. 9, pág. 2152-2164, 2015.

RAVINDRAN, V.; ABDOLLAHI, M. R.; **Nutrition and Digestive Physiology of the Broiler Chick: State of the Art and Outlook**. Animals, v. 11, n. 10, p. 2795, 2021.

RAZA, A.; BASHIR, S.; TABASSUM, R. **An update on carbohydrases: growth performance and intestinal health of poultry**. Heliyon, v. 5, n. 4, p. e01437, 2019.

REGASSA, A.; NYACHOTI, C. M. Application of resistant starch in swine and poultry diets with particular reference to gut health and function. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 3, p. 305-310, 2018.

RIGO, D.; GAYESKI, L.; TRES, G.A.; CAMERA, F.D.; ZENI, J.; VALDUGA, E.; CANSIAN, R.L.; BACKES, G.T. **Produção microbiológica de enzimas**: uma revisão. Brazilian Journal of Development, v.7, n.1, p.9232-9254, 2021.

RIFAI, N.; HORVATH, A.R.; WITTEWER, C.T. **Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics**. 6th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2018.

ROMERO, L. F., SANDS, J. S., INDRAKUMAR, S. E., PLUMSTEAD, P. W., DALSGAARD, S., & RAVINDRAN, V. 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. Poultry science, 93:10, 2501- 2513, 2014

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

SALAHUDDIN, M.; HIRAMATSU, K.; TAMURA, K.; & KITA, K. Dietary carbohydrate effects on histological features of ileal mucosa in White Leghorn chicken. **Journal of Veterinary Medical Science**, p. 21-0157, 2021.

SAKAMOTO, K.S.; BENINCASA, N.C.; SILVA, I.J.O. et al. The challenges of animal welfare in modern Brazilian poultry farming. **Journal of Animal Behaviour and Biometeorology**, v.8, p.131-135, 2020.

SAKOMURA, N. K., e H. S. ROSTAGNO. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástrico**. 2º ed Funep, Jaboticabal, 2016.

SANGALLI, G. G. et al. Performance, bone characteristics, and physiological parameters of broilers fed nutrient-restricted diets supplemented with multicarbohydrase complex associated with high levels of phytase. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 30, n. 2, p. 100141, 2021.

SCANES, Colin G.; PIERZCHALA-KOZIEC, K.; **Biology of the Gastrointestinal Tract in Poultry**. Avian Biology Research, v. 7, n. 4, p. 193-222, 2014.

SCHRAMM, V. G. et al. Exogenous  $\alpha$ -amylase improves the digestibility of corn and corn–soybean meal diets for broilers. **Poultry Science**, v. 100, n. 4, p. 101019, 2021.

SCHMITH, A. M.; ZEEMAN, S. C. Starch: a flexible, adaptable carbon store coupled to plant growth. **Annual Review of Plant Biology**, v. 71, n. 1, p. 217-245, 29 abr. 2020.

SCHMIDT, N.S.; SILVA, C.L. Pesquisa e desenvolvimento na cadeia produtiva de frangos de corte no brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v.56, n.3, p.467-482, 2018.

SCHUMANN, G.; BONORA, R.; IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 5. **Reference procedure for the measurement of catalytic activity concentration of aspartate-aminotransferase [L-aspartate: 2-oxoglutarate-aminotransferase (AST), EC 2.6.1.1]**. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, v. 40, n. 7, p. 725-733, 2002a.

SCHUMANN, G.; BONORA, R.; et al. . IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 4. **Reference procedure for the measurement of catalytic activity concentration of alanine aminotransferase [L-alanine: 2-oxoglutarate aminotransferase (ALT), EC 2.6.1.2]**. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, v. 40, n. 7, p. 718-724, 2002b.

SCHUMANN, G.; BONORA, R.; et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C Part 6. **Reference procedure for the measurement of catalytic activity concentration of  $\gamma$ -glutamyltransferase [( $\gamma$ -glutamyl)-peptide: amino acid  $\gamma$ -glutamyltransferase (GGT), EC 2.3.2.2]**. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, v. 40, n. 7, p. 734-738, 2002c.

SCHUMANN, G.; BONORA, R. et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 3. **Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Lactate Dehydrogenase**. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, v. 40, n. 7, p. 643-648, 2002d.

SCHUMANN, G.; BONORA, R. et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 2. **Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Creatine Kinase**. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, v. 40, no. 7, p. 635-642, 2002e.

SHAKOURI, M. D. IJI, P. A., MIKKELSEN, L. L., & COWIESON, A. J. Intestinal function and gut microflora of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 93, n. 5, p. 647-658, 2009.

SILVA, D. J. QUEIROZ, A. C. de. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3 ed. Viçosa, MG: UFV, 2019.

SORIO, A. **Estudo de viabilidade técnica e econômica destinado à implantação do Parque produtivo nacional de aditivos da indústria de alimentação de animais de produção**. Passo Fundo: Méritos, 2012. 300 p.

SPEAKE, B. K.; DEANS, E. A.; POWELL, KATE A. Differential incorporation of docosahexaenoic and arachidonic acids by the yolk sac membrane of the avian embryo. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 136, n. 2, p. 357-367, 2003.

STEFANELLO, C, V.; SL, S. GO.; KINDLEIN, L.; SORBARA, JOB.; COWIESON AJ.; Starch digestibility, energy utilization, and growth performance of broilers fed corn-soybean basal diets supplemented with enzymes. **Poultry Science**, v. 94, n. 2, p. 2472- 2479, Julho de 2015.

STEFANELLO, C. *et al.* Utilization of corn-based diets supplemented with an exogenous  $\alpha$ -amylase for broilers. **Poultry Science**, v. 98, n. 11, p. 5862-5869, 2019.

STRINGHINI, J. H. et al. Efeito da qualidade do milho no desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 191-198, 2000.

SUNKARA, L. T. et al. **O butirato aumenta a resistência a doenças de galinhas, induzindo a expressão gênica do peptídeo antimicrobiano de defesa do hospedeiro**. *PLoS um*, v. 6, n. 11, pág. e27225, 2011.

SVIHUS, B. Starch digestion capacity of poultry. **Poultry Science**, v. 93, n. 9, p. 2394-2399, sep. 2014.

SVIHUS, B. et al. Nutrient utilization and functionality of the anterior digestive tract caused by intermittent feeding and inclusion of whole wheat in diets for broiler chickens. **Poultry Science**, v. 89, n. 12, p. 2617-2625, 2010.

TESTER, F.; KARKALAS, J.; QI, X. **Starch-composition, fine structure and architecture.** *Journal Cereal Science* 39: 151-165. 2004.

TRINDER, P. **Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor.** *Annals of clinical Biochemistry*, v. 6, n. 1, p. 24-27, 1969.

VALADARES, C. G.; SANTOS, J. S.; LUDKE, M. C. M. M.; LUDKE, J. V.; SILVA, J. C. N. S.; PEREIRA, P. S. **Determinação da energia metabolizável do farelo residual do milho com e sem enzima em dietas para frangos de corte.** *Arquivo Brasileiro de Medicina* 68: 748-754. 2016.

VIEIRA, R. D. O. et al. Composição química e energia metabolizável de híbridos de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 4, p. 832– 838, 2007.

VIEIRA, S. L.; STEFANELLO, C.; RIOS, H. V.; SERAFINI, N.; HERMES, R. G.; SORBARA, J. O. B. Efficacy and metabolizable energy equivalence of an  $\alpha$ -amylase- $\beta$ -glucanase complex for broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 17, p. 227-235, 2015.

WEURDING, R. E. et al. Starch Digestion Rate in the Small Intestine of Broiler Chickens Differs among Feedstuffs. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 9, p. 2329-2335, 2001.

WOYENGO et al., T.A.; WOYENGO, K.J.; BOGOTA, S.L.; NOLL, J. Wilson Enhancing nutrient utilization of broiler chickens through supplemental enzymes. **Poultry Science**. 98, pg. 1302-1309. 2019.

WU, A.H.B. **Tietz clinical guide to laboratory test.** 4th ed. W.B. Saunders Company, 2006.

YI, D.; MAIKE, W.; YI, S.; XIAOLI, S.; DIANXING, W.; WENJIAN, S. Physiochemical Properties of Resistant Starch and Its Enhancement Approaches in Rice. **Rice Science**, v. 28, n. 1, p. 31-42, Jan. 2021.

YIN, D. Y., X., et al.. Supplementation of amylase combined with glucoamylase or protease changes intestinal microbiota diversity and benefits for broilers fed a diet of newly harvested corn. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2014.

ZEEMAN, S. C.; KOSSMANN, J.; SMITH, A. M. Starch: Its Metabolism, Evolution, and Biotechnological Modification in Plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, n. 1, 2 jun. 2010.

ZHANG, Yingying et al. Dietary corn-resistant starch suppresses broiler abdominal fat deposition associated with the reduced cecal Firmicutes. **Poultry science**, v. 99, n. 11, p. 5827-5837, 2020.

ZHANG, Z.; BAO, J. **Recent Advances in Modification Approaches, Health Benefits, and Food Applications of Resistant Starch**. *Starch - Stärke*, p. 2100141, 28 jul. 2021.

ZHU, H. L. et al. The effects of enzyme supplementation on performance and digestive parameters of broilers fed corn-soybean diets. **Poultry Science**, v. 93, n. 7, p. 1704-1712, 2014.