



**UDESC**

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC  
CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DO OESTE - CEO  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DIFERENTES METODOLOGIAS NA  
AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE  
RAÇÕES E DE MICROALGA PARA  
FRANGOS DE CORTE**

**LENILSON DA FONSECA ROZA**

CHAPECÓ, 2017

**LENILSON DA FONSECA ROZA**

**DIFERENTES METODOLOGIAS NA AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE  
RAÇÕES E DE MICROALGA PARA FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração Ciência e Produção Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), como requisito parcial para obtenção de grau de **Mestre em Zootecnia**.

**Orientador (a): Fernando de Castro Tavernari**

Co-orientador(s): Marcel Manente Boiago

Diovani Paiano

Chapecó, SC, Brasil

2017

**Universidade do Estado de Santa Catarina  
UDESC Oeste  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

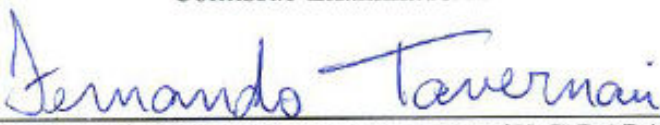
A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**DIFERENTES METODOLOGIAS NA AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE  
RAÇÕES E DE MICROALGA PARA FRANGOS DE CORTE**

Elaborada por  
**Lenilson da Fonseca Roza**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Zootecnia**

Comissão Examinadora:

  
Fernando de Castro Tavernari (UDESC/EMBRAPA)

  
Diego Surek (EMBRAPA)

  
Luiz Fernando Teixeira Albino (UFV)

Chapecó, 02 de Fevereiro de 2017.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela inspiração e força espiritual para realização deste trabalho.

Agradeço aos meus pais Lenoar e Roselei, a minha irmã Aline e ao meu irmão Gustavo pelo grande apoio.

Agradeço a minha esposa Jéssica pelo companheirismo, apoio e motivação nos momentos difíceis que encontrei.

Agradeço ao orientador Dr. Fernando de Castro Tavernari pelos ensinamentos, confiança, conselhos e auxílio durante o mestrado.

Agradeço ao Dr. Diego Surek pela colaboração na execução dos experimentos.

Agradeço aos colegas de mestrado, em especial meu amigo Marcos Migliorini pela amizade e auxílio nos experimentos e atividades durante o mestrado.

Agradeço a todos os professores do programa de Mestrado em Zootecnia, em especial meus co-orientadores Marcel e Diovani.

Agradeço a EMBRAPA Suínos e Aves, ao Diego, Carina e Neilor pelo auxílio durante o experimento.

Agradeço a empresa Spirulina Brasil G&F LTDA, em nome do biólogo Ivan Pinheiro Joventino pelo fornecimento da microalga.

Agradeço ao Prof. Luiz Albino pelas contribuições.

Obrigado!

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Universidade do Estado de Santa Catarina

### DIFERENTES METODOLOGIAS NA AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE RAÇÕES E DE MICROALGA PARA FRANGOS DE CORTE

AUTOR: Lenilson da Fonseca Roza  
ORIENTADOR: Fernando de Castro Tavernari  
Chapecó, 02 de Fevereiro de 2017.

Dois ensaios de metabolismo foram realizados na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Suínos e Aves, Concórdia, a fim de avaliar diferentes metodologias na determinação da energia metabolizável aparente (EMA) e corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) de rações e de microalga para frangos de corte. No primeiro ensaio fez-se a avaliação da EMA e EMAn de rações fareladas e peletizadas através dos métodos de coleta total de excretas e com o uso de diferentes indicadores, que foram a cinza insolúvel em ácido (CIA), dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) e óxido de cromo (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em um arranjo fatorial 4 métodos (coleta total, CIA, TiO<sub>2</sub> e Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) x 2 formas físicas de ração (farelada e peletizada), com 10 repetições. Os indicadores foram adicionados na dosagem de 5 g/kg de ração em seus respectivos tratamentos. No segundo ensaio, determinou-se os coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos e os valores EMA e de EMAn da microalga *Spirulina platensis*. Os valores de energia foram determinados utilizando o método de coleta total de excretas e indicador CIA (10g/kg). Assim, utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado com 2 tratamentos (coleta total de excretas e indicador CIA) e 10 repetições de 14 aves cada. Para isso, um grupo de aves receberam ração referência isenta de microalga e outro grupo receberam dieta com 80% de ração referência + 20% de microalga. Houve interação significativa (P<0,05) entre metodologias e a forma física das rações. Rações peletizadas tiveram maiores valores (P<0,05) de EMA e EMAn (MS e MN). O método de coleta total de excretas apresentou maiores valores de EMAn (MN) do que os determinados pelos indicadores CIA, TiO<sub>2</sub> e Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> em rações peletizadas. Entretanto, em rações fareladas o indicador CIA apresentou valores EMAn (MN) semelhante à coleta total. A microalga *S. platensis* avaliada apresentou 88,8% de MS, 4399 Kcal/kg de energia bruta, 51,47% PB; 0,99% EE; 1,06% FB; 9,44% MM; 0,313% Ca e 1,101% Pt. A EMAn da microalga foi superior (P<0,05) no método de coleta total (2800 kcal kg<sup>-1</sup> MS e 2493 kcal kg<sup>-1</sup> MN) comparada ao indicador CIA (1980 kcal kg<sup>-1</sup> MS e 1763 kcal kg<sup>-1</sup> MN). Os coeficientes de digestibilidade ileal estandardizados médios dos aminoácidos essenciais foi de 79,99±3,53% e não essenciais de 78,52±4,26%. De modo geral, conclui-se que o processo de peletização aumenta a EMAn de rações e que a metodologia para avaliação da energia varia de acordo com a forma da ração, peletizada ou farelada. O uso de indicador CIA subestimou a EMAn da microalga comparado ao método de coleta total de excretas.

**Palavras-chave:** EMAn, Forma física, Indicadores, Metodologias, Microalga.

## ABSTRACT

Master's Dissertation  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Universidade do Estado de Santa Catarina

### DIFFERENT METHODOLOGIES IN THE NUTRITIONAL EVALUATION OF DIETS AND OF MICROALGAE FOR BROILER CHICKENS

AUTHOR: Lenilson da Fonseca Roza  
ADVISER: Fernando de Castro Tavernari  
Chapecó, February 02<sup>st</sup>, 2017

Two metabolism assays were carried out at the Brazilian Agricultural Research Company - EMBRAPA Swine and Poultry, Concordia, in order to evaluate different methodologies in the determination of the apparent metabolizable energy (AME) and corrected for the nitrogen balance (AMEn) of diets and microalgae for broiler chickens. In the first experiment, the AME and AMEn were evaluated for mash and pelleted diets through total excreta collection method and with use of different markers, that were acid insoluble ash (AIA), titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) and chromium oxide (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). The design was completely randomized in a factorial arrangement with 4 methods (total collection, AIA, TiO<sub>2</sub> and Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) and 2 physical forms of diets (mash and pellets), with 10 replicates. The markers were added at the dosage of 5 g/kg of diet in their respective treatments. In the second assay, the amino acid digestibility coefficients and AME and AMEn of the microalgae *Spirulina platensis* was determined. Energy values were determined using the total excreta collection method and AIA marker (10 g/kg). Thus, a completely randomized design was used with 2 treatments (total excreta collection method and use of AIA marker) and 10 replicates of 14 birds each. For this, one group of birds received microalgae free reference diet and another group received a diet with 80% of reference diet + 20% of microalgae. There was a significant interaction (P<0.05) between methodologies and the physical form of diet. Pelleted diets had higher values (P<0.05) of AME and AMEn (DM and NM). The total excreta collection method presented higher values of AMEn (NM) than those determined by the AIA, TiO<sub>2</sub> and Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> markers in pelleted diets. However, in mash diets, the AIA marker presented AMEn (NM) values similar to total collection. The microalgae *S. platensis* evaluated had 88.8% DM, 4399 Kcal/kg crude energy, 51.47% crude protein; 0.99% ethereal extract; 1.06% crude fiber; 9.44% mineral matter; 0.313% calcium and 1.101% total phosphorus. The AMEn of the microalgae was higher (P 0.001) in the total collection method (2800 kcal/kg DM and 2493 kcal/kg NM) compared to the marker use AIA (1980 kcal/kg DM and 1763 kcal/kg NM). The ileal (standardized) digestibility coefficients of the amino acids essential were 79.99±3.53% and nonessential of 78.52±4.26%. In general, it's concluded that the pelletizing process increases the AMEn of diet and that the methodology for evaluating the energy varies according to the form of the diet, pelleted or mash. The use of the AIA marker underestimated the AMEn of the microalgae compared to the method of total excreta collection.

**Keywords:** AMEn, Markers, Physical form, Methodologies, Microalgae.

## LISTA DE TABELAS

### REVISÃO DE LITERATURA

<b>Tabela 1.</b> Composição de algumas espécies de microalgas.....	14
--	----

### DIFERENTES METODOLOGIAS NA DETERMINAÇÃO DOS VALORES ENERGÉTICOS DE RAÇÕES FARELADAS E PELETIZADAS PARA FRANGOS DE CORTE

<b>Tabela 1.</b> Composição das dietas usadas no ensaio de metabolismo (12-22 dias).....	29
<b>Tabela 2.</b> Valores de Energia metabolizável Aparente (EMA) de rações peletizadas e fareladas determinadas pelos métodos de coleta total e indicadores CIA, Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> e TiO <sub>2</sub> .....	30
<b>Tabela 3.</b> Valores de Energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) de rações peletizadas e fareladas determinadas pelos métodos de coleta total e indicadores CIA, Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> e TiO <sub>2</sub> .....	31
<b>Tabela 4.</b> Taxa de recuperação dos indicadores e fator de indigestibilidade das dietas fareladas e peletizadas..	32
<b>Tabela 5.</b> Consumo de ração e ganho de peso de frangos de corte alimentados com dietas peletizadas e fareladas.....	33

### VALORES DE ENERGIA METABOLIZÁVEL APARENTE E DIGESTIBILIDADE DE AMINOÁCIDOS DE MICROALGA *Spirulina platensis* PARA FRANGOS DE CORTE

<b>Tabela 1.</b> Composição da dieta referência (13-22 dias).....	45
<b>Tabela 2.</b> Composição bromatológica analisada da microalga ( <i>Spirulina platensis</i> ) na matéria natural (MN). .....	46
<b>Tabela 3.</b> Valores de energia metabolizável aparente (EMA) e corrigida para balanço de nitrogênio (EMAn) das rações referência, teste e da microalga <i>Spirulina platensis</i> para frangos de corte.....	47
<b>Tabela 4.</b> Coeficientes de metabolizabilidade da matéria seca, matéria mineral, nitrogênio e energia.....	48
<b>Tabela 5.</b> Aminoácidos totais, digestíveis (aparente e standardizado) e os coeficientes de digestibilidade ileal (aparente e standardizado) dos aminoácidos da microalga <i>Spirulina platensis</i> (% MN).....	49

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>9</b>
1.1	REVISÃO DE LITERATURA .....	9
<b>2</b>	<b>CAPÍTULO II .....</b>	<b>18</b>
2.1	Diferentes metodologias na determinação dos valores energéticos de rações fareladas e peletizadas para frangos de corte .....	19
	Resumo.....	19
	Abstract .....	20
	Introdução .....	20
	Material e Métodos .....	21
	Resultados .....	23
	Discussão .....	24
	Conclusões.....	26
	Referências Bibliográficas .....	26
2.2	Valores de energia metabolizável aparente e digestibilidade de aminoácidos de microalga <i>Spirulina platensis</i> para frangos de corte .....	34
	Resumo.....	34
	Abstract.....	35
	Introdução .....	35
	Material e Métodos .....	36
	Resultados e Discussão.....	39
	Referências Bibliográficas .....	41
<b>3</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>50</b>
	Referências bibliográficas.....	51



## 1 CAPÍTULO I

### 1.1 REVISÃO DE LITERATURA

#### *Cenário avícola brasileiro*

Destaque na produção avícola mundial, o Brasil possui uma avicultura que cresce a cada ano, sendo reconhecido como uma das atividades que mais gera empregos. O setor avícola brasileiro possui status de segundo maior produtor e maior exportador de carne de frangos do mundo. De modo geral, em 2015 a produção nacional foi de 13,14 milhões de toneladas de frangos, ficando apenas atrás dos Estados Unidos da América, com uma produção de 17,97 milhões de toneladas (ABPA, 2016).

A produção nacional de frangos concentra-se fortemente na região sul do Brasil, onde os três estados juntos (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) abatem 62,83% do total de frangos. Dentre eles, o estado do Paraná lidera o ranking de abate (32,46%) e exportação (35,70%). O estado de Santa Catarina, apesar de possuir reduzida área territorial comparada aos demais estados brasileiros, figura na segunda colocação em abate (16,24%) e exportação (23,20%) (ABPA, 2016).

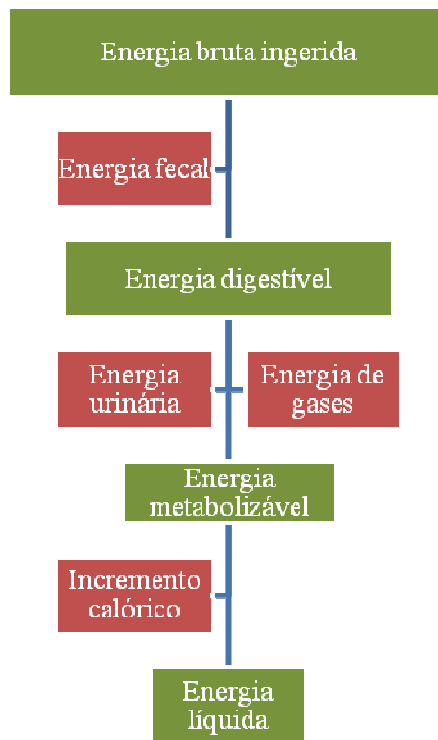
Diversos são os fatores que colaboram para a grande ascensão do país no setor. O baixo custo de produção é um dos principais fatores que favorecem a competitividade da carne de frango brasileira frente aos demais países. Dentre os custos produtivos, a nutrição representa cerca de 70% destes, motivo que faz com que pesquisas nesta área sejam desenvolvidas a fim de encontrar maneiras de maximizar o desempenho dos animais e reduzir os custos de produção.

#### *Avaliação do valor energético de alimentos para aves*

Conhecer o valor energético dos alimentos é fundamental para garantir uma correta formulação e consequente aproveitamento da energia pelas aves (Sakomura e Rostagno, 2007). Isto é necessário, pois nem toda a energia contida nos alimentos é aproveitada pelas aves, uma vez que perdas de energia

(energia fecal, urinária, gases e incremento calórico) ocorrem durante os processos de digestão e absorção do alimento. De acordo com Sakomura e Rostagno (2007) a energia é biologicamente dividida em energia bruta (produzida pela oxidação total da matéria orgânica do alimento), energia digestível (energia absorvida após o processo de digestão), calculada pela diferença entre a energia bruta do alimento e a energia bruta das fezes dos animais. Em aves, como há dificuldades em separar fezes e urina é considerada então a energia metabolizável, determinada pela diferença entre a energia bruta do alimento e a energia perdida nas fezes+urina (excretas). A última fração da energia do alimento é a energia líquida, a qual é determinada pela diferença entre a energia metabolizável e as perdas de energia com incremento calórico. A figura abaixo representa o aproveitamento da energia pelos monogástricos.

Figura 1. Esquema da utilização da energia pelos monogástricos.



Adaptado de Sakomura e Rostagno (2016).

Diante disto, atualmente, os valores de energia dos alimentos utilizados na alimentação de aves é baseada na energia metabolizável (EM). A EM dos alimentos para aves pode ser determinada em ensaios de metabolismo considerando dois métodos. O método tradicionalmente utilizado na determinação da EM é o método de coleta total, descrito por Sibbald e Slinger (1963). Este baseia-se na determinação da energia metabolizável através a mensuração do total de alimento ingerido e total excretado, para que então, haja a mensuração da energia bruta ingerida e excretada das rações experimentais Sakomura e Rostagno (2007). Contudo, este método é considerado mais demorado e trabalhoso, uma vez que demanda a mensuração do consumo de alimentos e das excretas.

O método de coleta parcial de excretas apresenta-se como um método mais prático uma vez que não necessita a mensuração de consumo de alimento e das excretas, pois baseia-se na determinação da

digestibilidade por meio da relação entre substâncias indigestíveis (indicadores) presentes no alimento/dieta e nas excretas (Kobt e Luckey, 1972). Os indicadores são usados na determinação de um fator de indigestibilidade (FI), sendo aferido através da recuperação do indicador indigestível nas excretas. Através do FI pode-se estimar a quantidade de excretas que corresponde a uma unidade de ração consumida (Sakomura e Rostagno, 2007). Os indicadores comumente utilizados são óxido de cromo, a cinza insolúvel em ácido e o dióxido de titânio. Para obter bons resultados o indicador não deve ser tóxico, não apresentar alterações durante a passagem pelo intestino, não influenciar em processos fisiológicos, não se associar a outros nutrientes e que seja recuperado nas excretas (Kobt e Luckey, 1972).

Os valores de energia metabolizável obtidos por diferentes métodos apresentam divergências. Em estudo comparando os valores de energia metabolizável aparente (EMA) do milho determinada pelo método de coleta total e uso de indicador cinza insolúvel em ácido, Carvalho et al. (2013) não encontraram diferenças entre os métodos. Contudo, observaram altos valores de desvio padrão quando utilizaram o indicador CIA. Ao avaliar a EMA do milho para codornas, Hajkhodadadi e Moravej (2014) encontraram valores semelhantes entre os métodos de coleta total e o indicador óxido de cromo. Cortés (2008) avaliou a EMA corrigida para balanço de nitrogênio de uma dieta para frangos de corte e não encontrou diferenças de EMA entre os métodos de coleta total e o indicador óxido de cromo. Dourado et al. (2010) ao comparar a EMA do milho e farelo de soja pelos métodos de coleta total de excretas e indicador CIA não encontrou diferença entre os métodos nos valores de EMA do farelo de soja, porém, a EMA do milho foi maior quando determinada com indicador CIA. O mesmo autor menciona que a composição da dieta pode influenciar os valores de EMA quando são utilizados indicadores. Exemplo é a fibra, a qual pode modificar a taxa de passagem da digesta e influenciar na recuperação do indicador. Além disso, a incompleta recuperação do indicador pode afetar os valores de EMA (CORTÉS, 2008).

### *Rações peletizadas para frangos de corte*

A utilização de rações peletizadas para frangos tem sido disseminada pelos vastos benefícios que proporcionam, principalmente no âmbito nutricional e conseqüentemente econômico. Do ponto de vista zootécnico, diversos estudos na literatura apontam que dietas peletizadas produzem melhorias no desempenho (Klein et al., 1996; Engberg et al., 2002; Abdollahi et al., 2013; Abdollahi et al., 2011) sendo associado a redução do desperdício, maior consumo de ração, menor segregação de partículas e gasto energético para o consumo, melhora a digestibilidade de nutrientes, entre outros (Bellaver e Nones, 2000; Silveira et al., 2010).

Por outro lado, a peletização também proporciona algumas desvantagens, como custos com energia elétrica e equipamentos (Meurer et al., 2008; Biagi, 1990). Há relatos de maior presença de coliformes no íleo e baixo número de *Clostridium perfringens* e lactobacilos no ceco (Engber et al., 2002), maior taxa de mortalidade e percentual de gordura na carcaça (principalmente abdominal) decorrente do maior consumo e conseqüentemente ingestão de EMAn acima das exigências nutricionais (Lemme et al., 2006).

Diante disto, se observa que a maioria dos ensaios de avaliação de alimentos para frangos são realizados com rações fareladas, sendo que cerca de 70% das rações fornecidas para frangos no país são peletizadas (Massuquetto e Maiorka, 2015). Isso conseqüentemente gera dúvida entre os valores energéticos das rações formuladas e utilizados a campo, uma vez que divergências nos valores de EMAn de rações fareladas e peletizadas são comprovados (Pucci et al., 2010; Abdollahi et al., 2011).

### *Microalgas na nutrição de aves*

Na nutrição de frangos de corte, após a restrição de muitos mercados por aves alimentadas com alimentos de origem animal (farinhas de carne, sangue, vísceras, entre outras) os principais alimentos

utilizados atualmente são o milho e a soja (farelo). Apesar de serem alimentos produzidos em larga escala no país estes alimentos são considerados *commodities* tendo seus preços regulados internacionalmente.

Diante deste cenário, a busca por ingredientes alternativos, que podem substituir parcialmente estes alimentos cresce frequentemente, na busca pela redução dos custos e/ou melhora no desempenho das aves. Neste contexto, recentemente a utilização de microalgas na nutrição de aves surge como alternativa ao milho e farelo de soja nas dietas. As microalgas são organismos que possuem alta capacidade fotossintética, o que permite estas extraírem grandes quantidades de nutrientes dos ambientes onde são criadas (predominantemente água) e produzirem significativas quantidades de biomassa. Algumas microalgas são ricas em proteínas, carboidratos, minerais, vitaminas, pigmentos e extrato etéreo (Chisti, 2007). A tabela 1 abaixo apresenta a composição de algumas microalgas.

**Tabela 1.** Composição de algumas espécies de microalgas.

<b>Espécie</b>	<b>Proteína (%)</b>	<b>Carboidratos (%)</b>	<b>Lipídeos (%)</b>
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21
<i>Chlorella vulgaris</i>	51–58	12–17	14–22
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Porphyridium cruentum</i>	28–39	40–57	9–14
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50–56	10–17	12–14
<i>Spirulina maxima</i>	60–71	13–16	6–7
<i>Synechococcus sp</i>	63	15	11

Adaptado de Becker (2004).

O despertar na última década sobre as aplicações das microalgas vieram devido ao aumento da demanda por alternativas energéticas aos derivados do petróleo, e assim, o uso de microalgas na produção de biocombustíveis. Atualmente, os avanços nas pesquisas com microalgas demonstram que

estas possuem diversas aplicabilidades, como a produção de biogás, bioetanol, biodiesel, no tratamento de efluentes da suinocultura e mais recentemente na nutrição animal. Algumas das vantagens de se utilizar microalgas são que não demandam de grandes áreas para serem cultivadas, não competem por área com a agricultura e proporcionam elevada produção de biomassa por hectare. Exemplo disto é que algumas espécies de microalgas podem produzir de 130 a 338 vezes mais biodiesel do que a soja e milho, respectivamente, em uma mesma quantidade de área (Chisti, 2007).

O interesse na utilização de microalgas na nutrição de animal dá-se principalmente pelos elevados teores de nutrientes. Dentre as centenas de espécies de microalgas, estas apresentam variada composição, sendo algumas mais proteicas, outras ricas em amido e gorduras, o que pode chegar a valores superiores a muitos alimentos tradicionais utilizados atualmente (Lum et al., 2013). Aliado, a isso, a produtividade de biomassa de algas pode superar as culturas tradicionais, como é o exemplo da *Spirulina*, que tem potencial de produzir 125 vezes mais proteína do que a mesma área de milho (Furst, 1978).

A avaliação de microalgas na nutrição de aves se intensificou nas décadas de 80 e 90, onde estudos avaliaram nutricionalmente (Lipstein e Hurwitz, 1983) e testaram microalgas na nutrição de frangos de corte (Ross e Dominy, 1990, Venkataraman et al., 1994). Decorrente da vasta gama de espécies de microalgas e diferentes formas de cultivo, o que interfere na composição da algas, estudos apresentam variados resultados em relação ao uso deste alimento na nutrição de aves. De acordo com Ross e Dominy (1990), o uso de *Spirulina* pode substituir parcialmente o farelo de soja como fonte protéica, em proporção que pode variar de 1,5 a 12% sem afetar a conversão alimentar e ganho de peso. Gatrell et al. (2014) ao testar biomassa de microalgas desengordurada em substituição ao farelo de soja e milho em frangos e poedeiras encontrou valores entre 7,5 e 15% de adição de microalga as rações, respectivamente.

Ao substituir 7,5% do farelo de soja por biomassa desengordurada de *Stautospira sp.* na ração de frangos de corte, Austic et al. (2013) tiveram menor ganho de peso e eficiência alimentar que o grupo controle nas três primeiras semana de idade. Contudo, ao suplementar aminoácidos essenciais (metionina, lisina, isoleucina, treonina, triptofano e valina) não houve diferença em relação ao grupo que não recebeu microalgas.

Evans et al., (2015) concluíram que até 16% de inclusão de microalgas (*Spirulina*) em substituição parcial ao milho e farelo de soja não afetou o desempenho na fase inicial de crescimento (21 dias). A energia metabolizável verdadeira da microalga utilizada foi de 2.839 kcal/kg. No mesmo estudo os autores constataram melhoria na qualidade dos peletes de rações com adição de microalgas, o que aponta efeito aglutinante do ingrediente. Semelhantes aos valores encontrados de energia foi relatado por Alvarenga et al. (2011), sendo a energia metabolizável e energia metabolizável corrigida para o balanço de nitrogênio (kcal/kg de MS), 2.906 e 2.502 respectivamente para *Spirulina maxima*. No mesmo ensaio, a energia do farelo de soja foi de 2646 e 2340, respectivamente.

Ao verificar a coloração do peito de frangos alimentados com *Spirulina*, Toyomizu et al. (2001) relata aumentos significativos com adição de 0,04% às rações. Em estudo com poedeiras, Leng et al. (2012) ao substituírem 7,5% de milho e farelo de soja por biomassa de microalga desengordurada verificou aumento da coloração e diminuição da luminosidade dos ovos. Contudo, a inclusão não afetou a produção e a saúde das galinhas. Em estudo posterior Leng et al. (2014) encontraram os mesmos resultados com inclusão de 7,5% de microalgas durante 8 semanas, porém com 15% de inclusão observaram redução no consumo de ração, produção de ovos e eficiência alimentar. Ginzberg et al. (2000), ao avaliar a inclusão de 10% de microalga (*Porphyridium sp.*) na dieta de poedeiras não observou efeito sobre a produção e peso dos ovos.

A maioria das espécies de microalgas possuem significativas quantidades de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (PUFA), o que acabam por enriquecer a carne e ovos de aves



alimentadas com microalgas. Diante disto, trabalhos (Rymer et al., 2010; Sujatha e Narahari, 2011) apontam que microalgas são tão eficazes no enriquecimento com PUFA w-3 que óleo de peixe. Ao (2015) adicionou biomassa de microalgas à ração de poedeiras e constatou enriquecimento dos ovos com ácido docosahexaenóico (DHA), sem afetar a qualidade do ovo. Park et al. (2015) ao utilizarem a microalga *Schizochytrium* verificaram melhora na qualidade e produção dos ovos, com aumento no tamanho da gema e níveis de ácido docosahexaenóico, além diminuir a relação ômega 6 / ômega 3 do ovo. Ginzberg et al. (2000), avaliou utilização de microalgas na alimentação de poedeiras e verificou a redução dos níveis de colesterol da gema em 24%.

A utilização de microalgas na alimentação de aves é alvo de estudo não apenas do ponto de vista zootécnico, mas também sobre seus efeitos na saúde intestinal dos animais. Kang et al. (2013) avaliaram o efeito de microalga (*Chlorella vulgaris*) na dieta de frangos de corte e verificaram melhora no desempenho, características imunológicas e produção de *Lactobacillus* na microflora intestinal dos frangos, o que segundo os autores pode ter um benefício complementar nas dietas com ausência de antibióticos promotores de crescimento. Além disso, concluem que até 1% de microalga na dieta inicial de frangos pode melhorar o desenvolvimento do trato digestivo e crescimento. Efeitos benéficos sobre a saúde dos órgãos, mas também de características reprodutivas da microalga *Spirulina* foi relatada por Lum et al. (2013).

## **2 CAPÍTULO II**

### **ARTIGOS**

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de dois artigos, com sua formatação de acordo com as orientações da revista:

**Semina: Ciências Agrárias**

## 2.1 Diferentes metodologias na determinação dos valores energéticos de rações fareladas e peletizadas para frangos de corte

### Different methodologies in the determination of the energy values of diets mash and pellets for broilers

Lenilson da Fonseca Roza<sup>1</sup>; Fernando de Castro Tavernari<sup>2</sup>; Diego Surek<sup>2</sup>, Carina Sordi<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Alunos do programa de pós graduação (*stricto sensu*) em Zootecnia da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Chapecó, Brasil.

<sup>2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Suínos e Aves, Concórdia, Brasil.

#### RESUMO

Objetivou-se determinar os valores de energia metabolizável aparente (EMA) e corrigida pelo o balanço de nitrogênio (EMAn) de rações fareladas e peletizadas para frangos de corte utilizando o método de coleta total de excretas e com uso de indicadores. Os indicadores utilizados foram a cinza insolúvel em ácido (CIA), dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) e óxido de cromo (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em um arranjo fatorial 4x2, sendo 4 métodos (coleta total, CIA, TiO<sub>2</sub> e Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) x 2 formas físicas de ração (rações fareladas e peletizadas), com 10 repetições (gaiolas) de 8 aves cada. Apenas uma dieta foi formulada para todos os tratamentos de acordo com as Tabelas Brasileiras para aves e suínos. Os indicadores foram adicionados na dosagem de 5 g kg<sup>-1</sup> de ração, de acordo com o tratamento. Durante cinco dias (12-17 dias) as aves foram adaptadas as dietas experimentais, sendo mais 5 dias (18-22 dias) de coleta de excretas. Os valores de energia foram determinados pelo método de coleta total de excretas e com uso de indicadores. Os dados foram submetidos à análise de variância e quando significativos comparadas as médias pelo teste F e Student-Newman-Keuls à 5% de significância. Houve interação significativa (P<0,05) entre as metodologias e a forma física das rações. Rações peletizadas tiveram maiores valores (P<0,05) de EMA e de EMAn (kcal kg<sup>-1</sup> na MS e MN) quando determinados pelo método de coleta total e com indicador TiO<sub>2</sub>. O uso do indicador CIA proporcionou valores de EMA e de EMAn semelhantes (P>0,05) à coleta total de excretas quando estes valores foram expressos na base seca, independente da forma física da ração. Quando expressos na base natural, método de coleta total de excretas proporcionou maiores valores de EMA e de EMAn em rações peletizadas. Entretanto, em rações fareladas os valores de EMA e de EMAn quando se utilizou o indicador CIA foram semelhantes à coleta total. Conclui-se que o processo de peletização aumenta a EMA e a EMAn (kcal kg<sup>-1</sup> de MS e MN) de dietas. A escolha do método para determinar os valores de energia de dietas variam de acordo com a forma física da ração, peletizada ou farelada. A CIA foi o indicador mais adequado para determinar os valores de EMA e de EMAn (MS) de dietas.

**Palavras-chave:** cinza insolúvel em ácido, óxido de cromo, dióxido de titânio, indicador, farelada, peletizada.

## ABSTRACT

The aimed of this study was to in the determination of the apparent metabolizable energy (AME) and corrected by nitrogen balance (AMEn) values of mash and pelleted diets for broiler chickens using the total excreta collection method and markers. The markers used were acid insoluble ash (AIA), titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) and chromium oxide (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). A completely randomized design was used in a 4x2 factorial arrangement, with four methods (total collection, AIA, TiO<sub>2</sub> and Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) x 2 physical forms of diet (mash and pellets), with 10 replicates (cages) of 8 birds each. Only one diet was formulated for all treatments according to the Brazilian Tables for poultry and swine. All markers were added at the dosage of 5 g kg<sup>-1</sup> diets, according to the treatment. During five days (12-17 days) the birds were adapted to the experimental diets, with another 5 days (18-22 days) of excreta collection. Energy values were determined using the total excreta collection method and using markers. The data were submitted to analysis of variance and when significant, the averages were compared by F test and Student-Newman-Keuls test at 5% significance level. There was a significant interaction (P<0.05) between the methodologies and the physical form of the diets. Pelleted diets had higher values (P<0.05) of AME and AMEn (kcal kg<sup>-1</sup> in DM and NM) when determined by the total collection method and with TiO<sub>2</sub> marker. The marker AIA provided AME and AMEn values similar (P>0.05) to total excreta collection when these values were expressed in dry basis, regardless of the physical form on the diet. When expressed in the natural basis, the total excreta collection method provided higher values of AME and AMEn in pelleted diets. However, in mash diets the AME and AMEn values when using the AIA marker were similar to total collection. It's concluded that the pelletizing process increases de AME and AMEn (Kcal kg<sup>-1</sup> DM and NM). The choice of the method to determine the energy values of diets varies according to the physical form of diet, pelleted or mash. The AIA was the most appropriate marker to determine the AME and AMEn (DM) values diets.

**Keywords:** ash insoluble in acid, chromium oxide, titanium dioxide, indicator, pleated, pelletized.

## INTRODUÇÃO

Atualmente, diferentes metodologias são utilizadas para determinação dos valores de energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) de alimentos, sendo eles o método de coleta total de excretas e o uso de indicadores. Estes indicadores são substâncias indigestíveis que permitem estimar o fluxo de excretas produzidas, através de um fator de indigestibilidade criado (SALES; JANSSENS, 2003; SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016). Entretanto, este método necessita de maiores procedimentos e análises laboratoriais que resultam em maiores variações de resultados.

Por apresentarem características inertes, não serem digeridos ou absorvidos pelas aves, alguns indicadores foram consolidados, sendo eles óxido de cromo ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ), dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) e cinza insolúvel em ácido (CIA). Estes indicadores são comumente utilizados na avaliação de rações e alimentos para aves (STEFANELLO et al., 2016; PIENIAZEK et al., 2016; KACZNAREK et al., 2016; SCHRAMM et al., 2016), mas ainda apresentam divergências entre estes (OLUKOSI et al., 2015; SMEETS et al., 2015) sendo necessário avaliar a utilização dos indicadores simultaneamente em contraste com o método de coleta total (método tradicional), uma vez que os valores energéticos tem impacto direto sobre o desempenho das aves.

Além disso, os benefícios que a forma física da ração causa sobre o desempenho das aves já está consolidado em diversos trabalhos (NADERINEJAD et al., 2016; ABDOLLAHI et al., 2013). No entanto, a influência da forma física da ração causa sobre os valores energéticos destas ainda necessita melhores avaliações, pois a maior parte das rações para frangos de corte são peletizadas. Sendo assim, considerar a metodologia de avaliação da energia e verificar a influência que a forma física da ração causa sobre os valores de energéticos de dietas é necessária para escolha adequada da metodologia.

Sendo assim, objetivou-se avaliar diferentes metodologias de determinação dos valores de EMAn de rações para frangos de corte, bem como verificar influência da forma física da ração.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### *Animais, instalações e condução geral do estudo*

Foram alojados em sala de metabolismo climatizada 480 frangos de corte de 1 dia de idade da linhagem Cobb 500. Do 1º ao 11º dia de idade, as aves foram alocadas em gaiolas metálicas (2,7 x 0,9m), independentemente do tratamento. Aos 12 dias, as aves foram separadas em seus devidos tratamentos.

Entre o 12º e 17º dia de vidas os frangos foram adaptados às dietas experimentais para então iniciar-se o período experimental, o qual ocorreu entre o 18º e 22º dia. Nesta fase, houve mensuração do consumo das rações e início da coleta das excretas, as quais ficavam depositas sobre bandejas de aço inoxidável. As coletas ocorreram diariamente (com início as 08h00 e término aproximado as 10h00 da manhã), sendo as excretas coletadas durante 5 dias, colocadas em sacos plásticos, pesadas, congeladas em freezer (-10°C) e posteriormente homogeneizadas. Após homogeneização, amostras de excretas foram retiradas para análise de energia bruta e de indicadores (CIA,  $\text{TiO}_2$  e  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ).

### *Delineamento experimental e dietas*

Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado em um arranjo fatorial 4 métodos (coleta total, CIA,  $\text{TiO}_2$  e  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) x 2 formas físicas de ração (fareladas e peletizadas), com 10 repetições (gaiolas) de 8 aves.

Formulou-se apenas uma dieta (tabela 1) para todos os tratamentos, a base de milho e de farelo de soja, seguindo exigências nutricionais de acordo com Rostagno et al. (2011). Os indicadores foram adicionados na dosagem de 5g kg<sup>-1</sup> de ração (0,5%), conforme os tratamentos.

As rações foram peletizadas em peletizadora a vapor, da marca Koppers Júnior C40, com motor de 50 CV, marca Siemens e anel com furos de diâmetro de 3/16 polegadas a uma temperatura de 80°C e 600 RPM com tempo de retenção de 15 segundos..

#### *Análises físico-químicas*

Para viabilizar a determinação dos valores de EMA e de EMAn das rações fez-se análises nas rações e excretas, sendo matéria seca (LUTZ, 2008), pré matéria seca (CBAA, 2009), nitrogênio e energia bruta (AOAC, 1995; Leco Corporation AC 500), cinza insolúvel em ácido (adaptado de VAN KEULEN; YOUNG, 1977) e óxido de cromo e titânio com equipamento ICP-OES (Espectrômetro de emissão ótica com plasma de argônio induzido).

#### *Cálculos*

Os valores de energia metabolizável aparente das rações experimentais foram determinados por diferentes métodos, sendo eles o método de coleta total de excretas (descrito por SIBBALD; SLINGER, 1963) e com uso de indicadores. A EMA e EMAn do método de coleta total de excretas seguiu-se metodologia proposta por Matterson et al. (1965):

Energia Metabolizável Aparente (EMA):

$$\text{EMA (kcal kg}^{-1}\text{): } \frac{\text{EB ingerida} - \text{EB excretada}}{\text{Matéria seca ingerida}}$$

Energia Metabolizável Aparente corrigida para balanço de nitrogênio (EMAn):

$$\text{EMAn: } \frac{\text{EB ingerida} - (\text{EB excretada} + 8,22 * \text{Balanço de Nitrogênio (N ingerido} - \text{N excretado))}{\text{Matéria seca ingerida}}$$

Para a determinação dos valores de EMA e de EMAn com indicador seguiu-se o modelo proposto por Sakomura e Rostagno (2016):

Fator de indigestibilidade (FI):  $\frac{\text{Indicador na dieta}}{\text{Indicador na excreta}}$

EMA dieta: EB dieta – (EB excreta x FI)

EMAn dieta: EB dieta – (EB excreta x FI) + 8,22 x Balanço de nitrogênio (N ingerido – N excretado x FI)

### *Análise estatística*

Os dados foram submetidos à análise da variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste F e SNK (Student-Newman-Keuls) e a 5% de significância, com auxílio do software SAS versão 9,5 proc glm.

### **Resultados**

Houve interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre metodologias e a forma física das rações para todos os valores de EMA determinados (Tabelas 2 e 3), ou seja, a energia determinada pelos métodos de coleta total de excretas e com indicadores variou de acordo com a forma física da ração, farelada ou peletizada. As rações peletizadas apresentaram maiores valores de EMA ( $\text{kcal kg}^{-1}$  MS e MN) e EMAn ( $\text{kcal kg}^{-1}$  MS e MN) do que rações fareladas, determinados pelo método de coleta total e com indicador  $\text{TiO}_2$  ( $P < 0,05$ ).

Observou-se valores semelhantes de EMA e de EMAn (MS) entre os métodos de coleta total e do indicador CIA, independente da forma física das rações. Estes por sua vez foram superiores aos valores de energia determinados com uso de indicador  $\text{TiO}_2$  e  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ . Contudo, observou-se que quando estes valores foram expressos na base natural, houve influência da forma física sobre a energia das rações. Assim sendo, os valores de EMA e de EMAn (MN) mantiveram-se semelhantes entre o método de coleta total e do indicador CIA em rações fareladas, porém, a coleta total foi superior a todos os indicadores quando as rações foram peletizadas.

Não houve interação ( $P > 0,05$ ) entre o tipo de indicador utilizado e a forma física das dietas, para as variáveis taxa de recuperação dos indicadores e fator de indigestibilidade das dietas (Tabela 4). Em ambas as variáveis não houve diferenças entre rações fareladas e peletizadas, ou seja, a forma física da ração não alterou a recuperação dos indicadores e conseqüente o fator de indigestibilidade das dietas.

Quando analisada a taxa de recuperação dos indicadores e fator de indigestibilidade das dietas, houve diferenças entre os tipos de indicadores ( $P < 0,05$ ), sendo a CIA o indicador que teve maior recuperação (94,73%), seguida pelo  $\text{TiO}_2$  (82,22%) e o  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  (70,53%), que teve menor taxa. Conseqüentemente a estes resultados, os fatores de indigestibilidade das dietas foram menores nas dietas contendo CIA (0,271), seguido pelo  $\text{TiO}_2$  (0,315) e maior no  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  (0,368).

Como variável secundária, determinou-se o desempenho zootécnico das aves durante o ensaio de metabolismo (Tabela 5). Foram avaliados o ganho de peso durante o período pré experimental e experimental (de 12 a 22 dias) e o consumo de ração durante o período experimental (de 18 a 22 dias). Não houve interação significativa entre a forma física das dietas e o indicador usado na ração tanto para ganho de peso ( $P > 0,05$ ) quanto para consumo de ração ( $P > 0,05$ ). Assim, observou-se que dietas peletizadas proporcionaram maior ganho de peso ( $P < 0,05$ ) e consumo de ração ( $P < 0,05$ ) pelos frangos nos períodos avaliados.

## Discussão

As dietas peletizadas tiveram maiores valores EMA e de EMAn ( $\text{Kcal kg}^{-1}$  de MS) do que as dietas fareladas, demonstrando que o processo de peletização aumenta a energia das rações. Entretanto, visto que na prática as rações são formuladas com base na matéria natural (MN) fez-se a correção destes valores, os quais tiveram mesmo comportamento entre a forma física das rações. Diante disto, apesar das rações peletizadas conterem maior teor de água (11,22%) do que fareladas (10,53%), decorrente da adição de vapor durante o processo de peletização, esta ainda resultou valores superiores de EMAn na MN. Assim sendo, o método de coleta total de excretas (tradicional) e o uso de  $\text{TiO}_2$ , aumentaram em 1,90% e em 2,11%, respectivamente, os valores de EMAn MN quando as dietas são peletizadas. Estes resultados diferem dos encontrados por Abdollahi et al. (2013), que observaram valores semelhantes de EMA de rações peletizadas e farelas com milho como alimento base. Entretanto, uma menor EMA foi encontrada em dietas peletizadas quando usado trigo como ingrediente base, também verificado por Amerah et al., (2007), o que permite inferir que a EMA de rações fareladas e peletizadas podem variar de acordo com o cereal base e outros fatores.

Em geral, verificou-se maior ganho de peso das aves alimentadas com rações peletizadas (tabela 4), provavelmente decorrente do maior ingestão de ração e total de EMAn encontrado, também verificado por Abdollahi et al. (2013). Vale destacar, que a melhora no desempenho das aves não se deve apenas a este fator e que outros benefícios como a redução de desperdício e seleção de partículas (GADZIRAYI et al., 2006), maior gelatinização do amido (ABDOLLAHI et al., 2011) e comprimento de duodeno e jejuno (NADERINEJAD et al., 2016; AMERAH et al., 2007) foram relatados na literatura como explicação para o desempenho zootécnico superior de frangos alimentados com dietas peletizadas.

A avaliação da EMA de alimentos/dietas entre as metodologias de coleta total de excretas e com uso de indicadores, seja com os indicadores  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ,  $\text{TiO}_2$  ou CIA, já foram realizadas, contudo nosso diferencial foi investigar a influência da forma física da ração. Os resultados aqui apresentados demonstraram que o indicador CIA proporcionou valores de EMA e de EMAn (MS) iguais a coleta total, contudo demonstrou diferentes resultados na EMA e na EMAn (MN) quando as dietas eram peletizadas ou fareladas. Assim sendo, para dietas peletizadas o método de coleta total de excretas apresentou ser mais apropriado para determinar os valores energéticos, não só por diferir estatisticamente das demais metodologias, mas por proporcionar valores de EMAn ( $2945 \text{ kcal kg}^{-1}$  de MN) mais próximos do valor calculado ( $3000 \text{ kcal kg}^{-1}$ ), resultando numa diferença de  $55 \text{ kcal kg}^{-1}$ . Tais diferenças podem ocorrer uma vez que os ensaios de metabolismo não consideram a idade, ou seja, é feito uma idade média de vida das aves. Porém, como as dietas são formuladas por fases é provável que a EMAn no começo da fase seja maior e no final menor, uma vez que há desbalanço em função da maior porcentagem de proteína e menor de energia no período em que avaliamos. Com relação ao uso de indicadores, chama a atenção os valores discrepantes encontrados em relação à EMAn esperada, sendo de  $95 \text{ kcal kg}^{-1}$  (CIA),  $203 \text{ kcal kg}^{-1}$  ( $\text{TiO}_2$ ) e  $410 \text{ kcal kg}^{-1}$  ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ). Em dietas fareladas, a utilização do indicador CIA mostrou-se adequado para



avaliar a EMAn MN de rações, pois resultados semelhantes entre o método de coleta total (2889 kcal kg<sup>-1</sup>) e CIA (2887 kcal kg<sup>-1</sup>) foram encontrados.

A utilização de indicadores na avaliação da digestibilidade de nutrientes para frangos e suínos apresenta resultados divergentes. Kavanaghi et al., (2001) verificaram coeficientes de digestibilidade da energia de rações para suínos semelhantes entre o método de coleta total e CIA, porém superiores aos indicadores TiO<sub>2</sub> e Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Entretanto, em estudo que avaliou milho para pombos usando CIA como indicador, Sales e Janssens (2003) relataram valores de EMA inferiores com CIA como indicador do que a coleta total, além de elevado erro padrão. A digestibilidade ileal de aminoácidos para frangos e suínos determinado com TiO<sub>2</sub> e Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foi averiguado por Olukosi et al., (2015) e Monteforte-Braga et al., (2006), onde encontraram maiores coeficientes de digestibilidade e menores variações nos resultados obtidos com TiO<sub>2</sub>.

A subestimação dos valores de energia das rações com uso dos indicadores TiO<sub>2</sub> e Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> aqui verificados, pode ser explicada pela baixa taxa de recuperação destes (Tabela 4), as quais também foram relatadas por Yin et al. (2000) e Kavanagui et al. (2001). Com uma taxa de recuperação 86,7%, Smeets et al. (2015) encontraram menores valores de EMA de três variedades de trigo para frangos determinados com indicador TiO<sub>2</sub> comparado a coleta total. Morata et al. (2006) utilizaram Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e coleta total para determinar a EMAn de alimentos para emas (*Rhea americana*) e também concluíram que o uso de indicador subestimou o aproveitamento da energia. Apesar destes indicadores não serem absorvidos ou digeridos, estes também não são excretados totalmente, uma vez que podem se depositar ou se aderirem em diferentes porções do sistema digestivo, principalmente quando altas concentrações são usadas (OLUKOSI et al. 2015; VOHRA; KRATZER, 1967; RODRIGUES et al., 2005). No caso do Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, por exemplo, características eletrostáticas dificultam a separação do mesmo nas excretas e assim, resultam em concentrações subestimadas (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016). Estes e outros fatores associados resultam em baixas recuperações e consequentemente elevados fatores de indigestibilidade, que subestimam o valor energético das dietas. Entretanto, é importante observar que tipo de alimento/dieta/nutriente está sendo avaliado para a escolha do indicador, isso porque em dietas ricas em fibra, o uso de Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> demonstrou resultados mais consistentes do que CIA (FAN; SAUER, 2002).

De modo geral, quando equalizamos a taxa de recuperação dos indicadores para 100%, ou seja, estimamos uma recuperação completa destes, os valores de EMAn (MN) aumentaram, CIA 2932 kcal kg<sup>-1</sup>; TiO<sub>2</sub> 2916 kcal kg<sup>-1</sup> e Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 2911 kcal kg<sup>-1</sup>, sendo mais próximos ao método de coleta total (2918 kcal kg<sup>-1</sup>). Esta simulação (que só é possível com a mensuração do consumo de ração e excretas) nos permite inferir que a utilização de indicadores pode ser confiável desde que a compreensão do dinamismo dos indicadores no trato gastrointestinal das aves e procedimentos de coleta, equipamentos e análise (aqui não testados) sejam padronizadas para buscar taxas de recuperação mais completas.

## Conclusões

Conclui-se que o processo de peletização aumenta a EMAn de rações. O uso do indicador cinza insolúvel em ácido proporciona valores de EMA e de EMAn semelhante à coleta total de excretas quando estes valores são expressos na base seca, independente da forma física da ração. Contudo, quando os valores de energia são expressos na base natural, a escolha do método varia de acordo com a forma da ração. Assim, em rações peletizadas a coleta total foi à metodologia mais apropriada, porém em dietas fareladas, tanto a coleta total quanto indicador CIA foram adequados para determinar os valores de EMA e de EMAn das rações.

## Agradecimentos

Agradecemos à Embrapa Suínos e Aves, Concórdia SC, por fornecer recursos, infraestrutura e corpo técnico para a realização da pesquisa.

## Referências bibliográficas

- ABDOLLAHI, M. R.; RAVINDRAN, V.; SVIHUS, B. Influence of grain type and feed form on performance, apparent metabolisable energy and ileal digestibility of nitrogen, starch, fat, calcium and phosphorus in broiler starters. *Animal Feed Science and Technology*, v. 186, p. 193–203, 2013.
- ABDOLLAHI, M. R.; RAVINDRAN, V.; WESTER, T. J.; RAVINDRAN, G.; THOMAS, D. V. Influence of feed form and conditioning temperature on performance, apparent metabolisable energy and ileal digestibility of starch and nitrogen in broiler starters fed wheat-based diet. *Animal Feed Science and Technology*, v. 168, p. 88–99, 2011.
- AMERAH, A.M.; RAVINDRAN, V.; LENTLE, R. G.; THOMAS, D. G. Influence of Feed Particle Size and Feed Form on the Performance, Energy Utilization, Digestive Tract Development and Digesta Parameters of Broiler Starters. *Poultry Science*, v. 86, p. 2615-2623, 2005.
- AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 16th ed. Protein (crude) determination in animal feed: copper catalyst Kjeldahl method (AOAC 984.13). Washington, USA, 1995.
- CBAA - Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal. *Método nº 37 Matéria pré-seca*, p.139, 2009.
- FAN, M. Z.; SAUER, W. C. Determination of true ileal amino acid digestibility and the endogenous amino acid outputs associated with barley samples for growing-finishing pigs by the regression analysis technique. *Journal of Animal Science*, v. 80, p. 1593–1605, 2002.
- GADZIRAYI, C.T.; MUTANDWA, E.; CHIHIYA, J.; MLAMBO, R. A Comparative Economic Analysis of Mash and Pelleted Feed in Broiler Production under Deep Litter Housing System. *International Journal of Poultry Science*, v. 7, p. 629-631, 2006.
- JJ Científica. Manual de instrução básica. *Liofilizadores série LJ10XX*. Disponível em: <http://www.jjcientifica.com.br/25023.swf>. Acesso em: 12 mai. 2016.

- KACZMAREK, S. A.; BARRI, A.; HEJDYSZ, M.; RUTKOWSKI, A. Effect of different doses of coated butyric acid on growth performance and energy utilization in broilers. *Poultry Science*, v. 00, p. 1–9, 2016.
- KAVANAGH, S.; LYNCH, P. B.; MARA, F. O.; CAFFREY, P. J. A comparison of total collection and marker technique for the measurement of apparent digestibility of diets for growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, v. 89, p. 49-58, 2001.
- LUTZ, I. A. *Método IAL 012/IV*. In: Zenebon, O., Pascuet, N.S., Tiglea, P. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo, p.98, 2008.
- LECO CORPORATION. *AC500 Automatic Calorimeter Instruction Manual*. Version 1.2x. Disponível em: <http://www.leco.com/products/analytical-sciences/calorific-value/ac500-isoperibol-calorimeter>. Acesso em: 20 set. 2016.
- MATTERSON, L. D.; POTTER, L. M.; STUTZ, M. W.; SINGSEN, E. P. *The metabolizable energy of feeds ingredients for chickens*. Connecticut: The university of Connecticut, Agricultural Experiment Station, p.11-14, 1965.
- MORATA, L. R.; MACHADO, T. M. M.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; DETMANN, E.; FERNANDES, L. T. O.; PARENTE, H. N.; ANTUNES, K. V.; ALMEIDA, A. C.; CSERMAK JÚNIOR, A. C. Techniques of evaluation of the energy values and the coefficients of digestibility of some feedstuffs for growing greater rhea (*Rhea americana*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, p. 1381-1388, 2006.
- NADERINEJAD, S.; ZAEFARIAN, F.; ABDOLLAHI, M. R.; HASSANABADI, A.; KERMANSHAHI, H.; RAVINDRAN, V. Influence of feed form and particle size on performance, nutrient utilisation, and gastrointestinal tract development and morphometry in broiler starters fed maize-based diets. *Animal Feed Science and Technology*. 2016. <http://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.02.012>
- OLUKOSI, O. A.; BOLARINWA, O. A.; COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Marker type but not concentration influenced apparent ileal amino acid digestibility in phytase-supplemented diets for broiler chickens and pigs. *Journal of Animal Science*, v. 90, p. 4414–4420, 2012.
- PIENIAZEK, J.; SMITH, K. A.; WILLIAMS, M. P.; MANANGI, M. K.; SOLBAK, A.; MILLER, M., LEE, J. T. Evaluation of increasing levels of a microbial phytase in phosphorus deficient broiler diets via live broiler performance, tibia bone ash, apparent metabolizable energy and amino acid digestibility. *Poultry Science*, v. 6, p. 1–13, 2016.
- PURDUM, S. Short-term effects of lower oil dried distillers grains with solubles in laying hen rations, *Poultry Science*, v. 93, p. 2592–2595, 2014.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L.T.; EUCLIDES, R. F. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*, 3ª ed. Viçosa, Minas Gerais, 2011, 252p.

- RODRIGUES, P.B. Effect of Collection Time and Methodologies on the Digestibility and Energy Value of Poultry Diets. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 34, p. 882–889, 2005.
- SALES, J.; JANSSENS, G. P. J. Methods to Determine Metabolizable Energy and Digestibility of Feed Ingredients in the Domestic Pigeon (*Columba livia domestica*). *Poultry Science*, v. 82, p. 1457-1461, 2003.
- SCHRAMM, V. G.; DURAU, J. F.; BARRILLI, L. N. E.; SORBARA, J. O. B.; COWIESON, A. J.; FELIX, A. P.; MAIORKA, A. Interaction between xylanase and phytase on the digestibility of corn and a corn/soy diet for broiler chickens. *Poultry Science*, v. 0, p. 1–8, 2016.
- SHARIFI, S. D.; DIBAMEHR, A.; LOTFOLLAHIAN, H.; BAURHOO, B. Effects of flavomycin and probiotic supplementation to diets containing different sources of fat on growth performance, intestinal morphology, apparent metabolizable energy and fat digestibility in broiler chickens. *Poultry Science*, v. 91, p. 918–927, 2012.
- SMEETS, N.; NUYENS, F.; CAMPENHOUT, L. V.; DELEZIE, E.; PANNECOUCQUE, J.; NIEWOLD, T. Relationship between wheat characteristics and nutrient digestibility in broilers : comparison between total collection and marker (titanium dioxide) technique. *Poultry Science*, v. 94, p. 1584–1591, 2015.
- STEFANELLO, C.; VIEIRA, S. L.; RIOS, H. V.; SIMÕES, C. T.; SORBARA, J. O. B. Energy and nutrient utilisation of broilers fed soybean meal from two different Brazilian production areas with an exogenous protease. *Animal Feed Science and Technology*, v. 221, p. 267–273, 2016.
- SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. *Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos*, 2<sup>a</sup> ed. Jaboticabal. 2016.
- SIBBALD, I. R.; SLINGER, S. J. A biological assay for metabolizable energy in poultry feed ingredients together with findings which demonstrate some of the problems associated with the evaluation of fats. *Poultry Science*, v. 54, p. 448-456, 1963.
- VAN KEULEN, J.; YOUNG, B. A. Evaluation of acid-insoluble ash as natural marker ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, v. 44, p. 282-287, 1977.
- VOHRA, P.; KEATZER, F. H. Absorption of barium sulfate and chromic oxide from the chicken gastrointestinal tract. *Poultry Science*, v. 46, p. 1603–1604, 1967.
- YIN, Y. L., MCEVOY, D. G.; SCHULZE, H.; HENNIG, U.; SOUFFRANT, W. B.; MCCRACKEN, K. J. Apparent digestibility (ileal and overall) of nutrients as evaluated with PVTC-cannulated or ileo-rectal anastomised pigs fed diets containing two indigestible markers. *Livestock Production Science*, v. 62, p. 133–141, 2000.

**Tabela 1.** Composição das dietas usadas no ensaio de metabolismo (12-22 dias).

<b>Ingredientes</b>	<b>Dieta CIA (%)</b>	<b>Dieta TiO<sub>2</sub> (%)</b>	<b>Dieta Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (%)</b>
Milho	57,75	57,75	57,75
Farelo de Soja (45%)	35,81	35,81	35,81
Óleo de Soja	2,02	2,02	2,02
Fosfato Bicálcico	1,43	1,43	1,43
Calcário Calcítico	1,29	1,29	1,29
Sal comum	0,48	0,48	0,48
DL-Metionina (99%)	0,27	0,27	0,27
L-Lisina HCl (78%)	0,14	0,14	0,14
L-Treonina (98%)	0,04	0,04	0,04
Cloreto de Colina (60%)	0,10	0,10	0,10
Suplemento Vitaminico <sup>1</sup>	0,10	0,10	0,10
Suplemento Mineral <sup>2</sup>	0,05	0,05	0,05
Antioxidante (BHT) <sup>3</sup>	0,01	0,01	0,01
Cinza Insolúvel em Ácido (Celite®)	0,50	-	-
Bióxido de Titânio (Synth®)	-	0,50	-
Óxido de Cromo (Elementis®)	-	-	0,50
<b>Composição calculada</b>			
Proteína Bruta	21,39	21,39	21,39
Energia metabolizável aparente (Kcal kg-1)	3000	3000	3000
Cálcio	0,82	0,82	0,82
Fósforo disponível	0,40	0,40	0,40
Metionina digestível	0,56	0,56	0,56
Lisina digestível	1,17	1,17	1,17
Fibra bruta	2,25	2,25	2,25
Sódio	0,21	0,21	0,21
Extrato Etéreo	5,01	5,01	5,01

<sup>1</sup>Níveis de garantia por Kg do produto: Vit. A: 9000000 UI; Vit. D3: 2500000 UI; Vit. E: 20000 mg; Vit. K3 – 2500 mg; Vit. B1 – 1500 mg; Vit. B2 – 6000 mg; Vit. B6 – 3000 mg; Vit. B12 – 12000 mg; Ác. Pântotenico – 12 g; Niacina 25 g; Ác. Fólico – 800 mg; Biotina – 60 mg; Se – 250 mg.

<sup>2</sup> Níveis de garantia por Kg do produto: Cu – 20 g; Fe – 100 g; Mn – 160 g; Co – 2000 mg; I – 2000 mg; Zn – 100 g.

<sup>3</sup>Beta-hidroxi-tolueno.

**Tabela 2.** Valores de Energia metabolizável Aparente (EMA) de rações peletizadas e fareladas determinadas pelos métodos de coleta total e indicadores CIA, Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e TiO<sub>2</sub>.

Método	EMA (MS)			EMA (MN)		
	Peletizada	Farelada	Média	Peletizada	Farelada	Média
Coleta Total	3531 Aa	3466 Ab	3498	3135 Aa	3100 Ab	3118
CIA	3508 Aa	3465 Aa	3487	3096 Ba	3089 Aa	3089
TiO <sub>2</sub>	3330 Ba	3237 Bb	3283	2973 Ca	2912 Bb	2943
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	3049 Ca	3073 Ca	3061	2749 Da	2708 Cb	2729
Média	3414	3363		3030	3008	
Método	<0,001			<0,001		
Forma física	<0,001			0,002		
Mét. x Form.	0,001			0,001		
CV (%)	1,42			1,33		
EP (Método)	9,85			8,18		
EP (Forma física)	6,23			5,18		

**Legenda:** CIA: Cinza insolúvel em ácido; Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: Óxido de cromo; TiO<sub>2</sub>: Dióxido de titânio; MS: Matéria seca; MN: Matéria Natural; **Mét. x Form.:** Interação entre Método e Forma física das rações; CV: Coeficiente de variação; EP: Erro padrão.

**A,B,C:** Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls ( $P < 0,05$ );

**a,b,c:** Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste F ( $P < 0,05$ );

**Tabela 3.** Valores de Energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) de rações peletizadas e fareladas determinadas pelos métodos de coleta total e indicadores CIA, Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e TiO<sub>2</sub>.

Método	EMAn (MS)			EMAn (MN)		
	Peletizada	Farelada	Média	Peletizada	Farelada	Média
Coleta Total	3311 Aa	3248 Ab	3280	2945 Aa	2889 Ab	2918
CIA	3293 Aa	3246 Ab	3270	2905 Ba	2887 Aa	2897
TiO <sub>2</sub>	3123 Ba	3044 Bb	3089	2797 Ca	2739 Bb	2768
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	2895 Ca	2880 Ca	2888	2590 Da	2558 Ca	2574
Média	3206	3155		2849	2814	
Método	<0,001			<0,001		
Forma física	<0,001			<0,001		
Mét. x Form.	0,002			0,001		
CV	1,39			1,40		
EP (Método)	9,05			8,07		
EP (Forma física)	5,72			5,10		

**Legenda:** CIA: Cinza insolúvel em ácido; Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: Óxido de cromo; TiO<sub>2</sub>: Dióxido de titânio; MS: Matéria seca; MN: Matéria Natural; **Mét. x Form.:** Interação entre Método e Forma física; **EP:** Erro padrão.

**A,B,C:** Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls ( $P<0,05$ );

**a,b,c:** Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste F ( $P<0,05$ );

**Tabela 4.** Taxa de recuperação dos indicadores e fator de indigestibilidade das dietas fareladas e peletizadas.

	Taxa recuperação (%)			Fator de Indigestibilidade		
	Peletizada	Farelada	Média	Peletizada	Farelada	Média
CIA	92,96	96,50	94,73 A	0,272	0,270	0,271 C
TiO <sub>2</sub>	82,40	82,04	82,22 B	0,314	0,317	0,315 B
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	69,05	72,02	70,53 C	0,372	0,365	0,368 A
Media	81,46 a	83,52 a		0,319 a	0,317 a	
Indicador	0,0001			0,0001		
Forma física	0,145			0,774		
Form. x Indicador	0,470			0,736		
CV	6,53			6,92		
EP (Indicador)	1,20			0,005		
EP (Forma física)	0,98			0,004		

**Legenda:** CIA: Cinza insolúvel em ácido; Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: Óxido de cromo; TiO<sub>2</sub>: Dióxido de titânio; EP: Erro padrão; CV: Coeficiente de variação; Form. x Indicador: Interação entre forma física da ração e indicador;

**A,B,C:** Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls ( $P<0,05$ ).

**a,b,c:** Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste F ( $P<0,05$ ).



**Tabela 5.** Consumo de ração e ganho de peso de frangos de corte alimentados com dietas peletizadas e fareladas.

Indicadores	Consumo de ração (g):			Ganho de peso (g):		
	18 a 22 dias			12 a 22 dias		
	Peletizada	Farelada	Média	Peletizada	Farelada	Média
CIA	534,22	459,92	497,07 A	637,27	557,35	597,32 A
TiO <sub>2</sub>	529,80	462,32	500,81 A	638,92	564,92	604,31 A
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	539,30	468,25	499,02 A	641,70	566,91	602,43 A
Média	534,44 a	463,50 b		639,30 a	563,39 b	
CV (%)	4,39			6,05		
Método	0,865			0,821		
Forma física	0,001			0,001		
Form. x Indicador	0,498			0,953		
EP (método)	4,91			8,13		
EP (forma física)				6,64		

**Legenda:** EP: Erro padrão; CV: Coeficiente de variação;

**A,B:** Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste SNK (P<0,05).

**a,b:** Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste F (P<0,05).

## 2.2 ARTIGO II

### Valores de energia metabolizável aparente e digestibilidade de aminoácidos de microalga *Spirulina platensis* para frangos de corte

### Values of apparent metabolizable energy and amino acids digestibility of microalgae *Spirulina platensis* for broiler chickens

Lenilson da Fonseca Roza<sup>1</sup>; Fernando de Castro Tavernari<sup>2</sup>; Diego Surek<sup>2</sup>; Carina Sordi<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Alunos do programa de pós graduação (*stricto sensu*) em Zootecnia da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Chapecó, Brasil.

<sup>2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Suínos e Aves, Concórdia, Brasil.

#### RESUMO

Objetivou-se determinar os coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos e o valor de energia metabolizável aparente (EMA) e corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) de microalga *Spirulina platensis* para frangos de corte. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), sendo dois tratamentos e 10 repetições de 14 aves por repetição. Os tratamentos eram compostos por duas metodologias de avaliação dos valores EMA e de EMAn da microalga, sendo eles o método de coleta total de excretas e o uso de indicador cinza insolúvel em ácido (dosagem 10 g kg<sup>-1</sup>). Para isso, um grupo de aves receberam dieta referência (DR) isenta de microalgas e outro grupo receberam dieta teste (DT), a qual continha a inclusão de 20% de microalga. O período experimental compreendeu entre os 13 e 22 dias de idade das aves, sendo 5 dias (13-18 dias) de adaptação as dietas experimentais e 4 dias (19-22 dias) de coleta de excretas. No último dia do ensaio, as aves foram insensibilizadas e abatidas para coleta do conteúdo ileal para recuperação do indicador e determinação dos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos da microalga. Os valores de EMA entre os diferentes métodos (coleta total e indicador CIA) foram comparados pelo teste F à 5% de significância. A microalga avaliada apresentou 88,8% de matéria seca (MS), 4399 Kcal kg<sup>-1</sup> de energia bruta, 51,47% PB; 0,99% EE; 1,06% FB; 9,44% MM; 0,313% Ca e 1,101% Pt. Os valores de EMA da microalga determinado pelo método de coleta total (3219 kcal kg<sup>-1</sup> MS e 2865 kcal kg<sup>-1</sup> MN) foi superior (P<0,05) a determinada pelo indicador CIA (2242 kcal kg<sup>-1</sup> MS e 1995 kcal kg<sup>-1</sup> MN). A EMA corrigida pelo balanço de nitrogênio também foi superior (P<0,05) no método de coleta total (2800 kcal kg<sup>-1</sup> MS e 2493 kcal kg<sup>-1</sup> MN) comparada ao indicador (1980 kcal kg<sup>-1</sup> MS e 1763 kcal kg<sup>-1</sup> MN). Os coeficientes de digestibilidade ileal standardizados médios dos aminoácidos essenciais foram de 79,99±3,53% e não essenciais de 78,52±4,26%. Conclui-se que a microalga *S. platensis* possui relevantes teores de aminoácidos digestíveis e energia metabolizável que a tornam

potencial alimento na nutrição de frangos de corte. O uso do indicador CIA subestima a EMAn da microalga comparado ao método de coleta total de excretas (padrão).

**Palavras-chave:** Aminoácidos, Energia, Indicador, Microalga, *Spirulina platensis*.

## ASBTRACT

The aimed of this study was to determine the amino acid digestibility coefficients and the apparent metabolizable energy (AME) and corrected by nitrogen balance (AMEn) values of *Spirulina platensis* microalgae for broiler chickens. The experimental design was completely randomized, with two treatments and 10 replicates of 14 birds per replicate. The treatments were composed by two methodologies for evaluating the AME and AMEn values of the microalgae, being the total excreta collection method and the acid-insoluble ash (AIA) marker (dosage 10 g kg<sup>-1</sup>). For this, one group of birds received microalgae-free reference diet (RD) and another group received a test diet (TD), which the inclusion of 20% microalgae. The experimental period comprised between 13 and 22 days of age, with 5 days (13-18 days) of adaptation to experimental diets and 4 days (19-22 days) of excreta collection. On the last day of the test, the birds were desensitized and slaughtered to collect the ileal contents for the recovery of the marker and determination of the digestibility coefficients of the amino acids of the microalgae. The AME values between the different methods (total collection and AIA marker) were compared by Student's t-test at 5% significance. The microalgae evaluated had 88.8% dry matter (DM), 4399 kcal kg<sup>-1</sup> crude energy, 51.47% CP; 0.99% EE; 1.06% CF; 9.44% MM; 0,313% Ca e 1,101% Pt. The microalgae AME values determined by the total collection method (3219 kcal kg<sup>-1</sup> DM and 2865 kcal kg<sup>-1</sup> Natural Matter - NM) were higher (P<0.05) than those determined by the AIA marker (2242 kcal kg<sup>-1</sup> DM and 1995 kcal kg<sup>-1</sup> MN). The corrected EMA by nitrogen balance was also higher (P<0.05) in the total collection method (2800 kcal kg<sup>-1</sup> DM and 2493 kcal kg<sup>-1</sup> NM) compared to the marker (1980 kcal kg<sup>-1</sup> DM and 1763 kcal kg<sup>-1</sup> NM). The average standardized ileal digestibility coefficients of the essential amino acids were 79.99±3.53% and nonessential of 78.52±4.26%. It's concluded that the microalgae *S. platensis* has relevant levels of digestible amino acids and metabolizable energy that make it potential feed in the nutrition of broilers. The use of the AIA marker underestimates the AMEn of the microalgae compared to the total collection method (standard).

Key words: Amino acids, Energy, Marker, Microalgae, *Spirulina platensis*.

## INTRODUÇÃO

A alta capacidade fotossintética, o crescimento rápido e a facilidade de cultivo (DANESI, 2016) fazem com que microalgas sejam capazes de produzir significativas quantidades de biomassa e de nutrientes em curto

período. Estes e outros fatores despertaram o interesse pela avaliação deste alimento na nutrição de animal (LENG et al., 2012; AUSTIC et al., 2013; GATRELL et al., 2014). Apesar da composição nutricional das microalgas variarem de acordo com a espécie (algumas proteicas, outras ricas em amido e gorduras), muitas dessas superam o valor nutricional de alimentos tradicionais utilizados na nutrição animal (LUM et al., 2013).

Visto que se inicia a difusão do uso de microalgas no Brasil e que estas apresentam potencial de utilização na alimentação de frangos de corte, torna-se necessária a avaliação deste alimento para aves. Para isso, o conhecimento da energia metabolizável e dos aminoácidos digestíveis deste ingrediente são necessários para correta formulação de rações e atendimento das necessidades energéticas e aminoácidas dos frangos.

Neste sentido, dois métodos são utilizados na avaliação energética de alimentos/rações para frangos de corte, o método de coleta total (tradicional) e parcial de excretas. O método de coleta parcial de excretas não necessita a mensuração de consumo de alimento e de excretas, pois estima através de substâncias indigestíveis (indicadores) a quantidade de excretas que corresponde a uma unidade de ração consumida (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016). A cinza insolúvel em ácido (CIA) é um indicador de fácil análise laboratorial, boa recuperação e comumente usado em ensaios de digestibilidade com aves (PURDUM et al., 2014; STEFANELLO et al., 2016).

Sendo assim, tão importante quanto avaliar o valor nutricional dos alimentos é necessária considerar a metodologia utilizada, uma vez que a metodologia pode influenciar nos resultados finais e conseqüentemente a formulação de rações. Diante do exposto, objetivou-se determinar os coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos e o valor de energia metabolizável aparente, pelos métodos de coleta total e com indicador CIA, de microalga *Spirulina platensis* para frangos de corte.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### *Animais e instalações*

Foram adquiridos 280 frangos de corte, machos, de um dia de idade, da linhagem Cobb 500, vacinados e em bom estado sanitário. As aves foram alojadas em sala de metabolismo e em gaiolas metabólicas que continham bandejas para coleta de excretas. Para atender o conforto térmico das aves, a instalação possuía sistema de climatização.

### *Delineamento experimental e condução geral do estudo*

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), sendo dois tratamentos e 10 repetições de 14 aves por repetição. Os tratamentos eram compostos por duas metodologias de determinação dos valores EMA e de EMAN da microalga, sendo eles o método de coleta total de excretas e o uso de indicador de indigestibilidade. Para isso, um grupo de aves receberam dieta referência (DR) isenta de microalgas e outro grupo que receberam dieta teste (DT), a qual continha a inclusão de 20% de microalga (*Spirulina platensis*).

O período pré experimental compreendeu entre o 1º e o 13º dia de vida dos frangos. As aves de um dia de idade foram acondicionadas em gaiolas (2,7 x 0,9m) até completarem 13 dias de idade, onde consumiram uma ração para a fase (*ad libitum*). Após isso, os frangos foram alocados em gaiolas metabólicas onde passaram por período de adaptação às dietas experimentais, sendo de 5 dias (13º até 18º dia de idade das aves) e então iniciou-se o período experimental, o qual teve duração de 4 dias (19º e 22º dia). Durante o período experimental realizou-se a mensuração do consumo de ração pelas aves. Para a coleta de excretas, utilizaram-se bandejas de aço inox. As coletas foram realizadas durante quatro dias, no período da manhã, com auxílio de espátulas metálicas. Após cada coleta, as excretas eram acondicionadas em sacos plásticos identificados, pesados em balança eletrônica (0,1g de precisão) e encaminhados para congelamento em freezer (-10°C), onde posteriormente foram descongeladas, homogeneizadas e formada uma amostra composta de cada gaiola do respectivo período. Assim, amostras para análise de energia bruta e indicador CIA foram coletadas para determinação dos valores de energia. Depois de realizada a última coleta, fez-se pesagem da ração residual dos comedouros, para aferir o consumo total de ração em cada gaiola.

No 22º dia, após a última coleta de excretas, as aves foram estimuladas para consumo de ração e então, duas horas após o estímulo, todas as aves de cada gaiola foram insensibilizadas (deslocamento cervical) e sacrificadas para coleta de conteúdo ileal. Para isso, procedimento realizado foi o mesmo utilizado por Brito (2007). Após a insensibilização, o íleo foi exposto por incisão abdominal e um segmento de cerca de 20 centímetros foi removido. Então, o conteúdo ileal foi levemente pressionado manualmente e alocado em bandeja de alumínio, onde foi pesado, congelado e liofilizado, para realização de análise do indicador CIA e posteriormente cálculo dos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos.

#### *Dietas experimentais*

A microalga avaliada no presente estudo é da espécie *Spirulina platensis*. Esta foi cultivada em lagoa aberta com água salobra e fonte sintética de nitrogênio e de fósforo. Para utilização nas rações experimentais, a microalga foi desidratada e utilizada *in natura*, sem passar por outro processamento.

As dietas experimentais eram à base de milho e farelo de soja e foram formuladas de acordo com Rostagno et al. (2011). Para determinação da EMA e digestibilidade aparente dos aminoácidos foram formuladas duas dietas, uma denominada de dieta referência (DR) (Tabela 2) e outra dieta teste (DT). Para elaboração da dieta teste (DT) foi adicionado 20% de microalga, compondo uma ração com 80% DR + 20% microalga. Em ambas as dietas experimentais foi adicionado indicador indigestível CIA - Cinza Insolúvel em Ácido (Celite®) na quantidade de 10g kg<sup>-1</sup> de ração.

#### *Análises físico-químicas*

Foram feitas as análises de matéria seca, de nitrogênio, de energia bruta, de cinza insolúvel em ácido (CIA) e de aminoácidos na dieta referência e teste. Nas excretas além destas análises, fez-se a determinação da

pré matéria seca. Na digesta (conteúdo ileal) foram realizadas análises de matéria seca liofilizada e CIA. Procedimentos analíticos para determinação da pré matéria seca (CBAA, 2009) e de matéria seca foram realizadas de acordo com Lutz (2008), para nitrogênio e energia bruta (AOAC, 1995), para cinza insolúvel em ácido pelo método gravimétrico (adaptado de VAN KEULEN; YOUNG (1977), para extrato etéreo (AOCS Am 5-04), para fibra bruta (AOAC Ba 6a-05), para aminoácidos uso de HPLC (High Performance Liquid Chromatography), matéria seca liofilizada com liofilizador JJ Científica LJ-030 e para energia bruta (Leco Corporation AC 500).

*Cálculos para a determinação de EMA e digestibilidade de aminoácidos*

A energia metabolizável da microalga (*Spirulina platensis*) foi determinada por dois métodos, o método de coleta total de excretas (descrito por SIBBALD; SLINGER, 1963) e com uso de indicador indigestível (CIA). A determinação da energia metabolizável aparente (EMA) e corrigida para balanço de nitrogênio (EMAn) pelo método de coleta total foram realizadas de acordo com a metodologia proposta por Matterson et al. (1965):

Energia Metabolizável Aparente (EMA):

$$\text{EMA (kcal kg}^{-1}\text{): } \frac{\text{EB ingerida} - \text{EB excretada}}{\text{Matéria seca ingerida}}$$

$$\text{EMA da microalga: } \frac{\text{EMA dieta referência} + \text{EMA dieta teste} - \text{EMA dieta referência}}{\text{Substituição (\%)}}$$

Energia Metabolizável Aparente corrigida para balanço de nitrogênio (EMAn):

$$\text{EMAn: } \frac{\text{EB ingerida} - (\text{EB excretada} + 8,22 * \text{Balanço de Nitrogênio (N ingerido} - \text{N excretado))}{\text{Matéria seca ingerida}}$$

$$\text{EMAn da microalga: } \frac{\text{EMAn} + \text{EMAn dieta teste} - \text{EMAn dieta referência}}{\text{Substituição (\%)}}$$

Para a determinação da EMA e EMAn com uso de indicador seguiu-se o modelo proposto por Sakomura e Rostagno (2016):

Fator de indigestibilidade (FI):  $\text{CIA dieta} / \text{CIA excreta}$

EMA dieta:  $\text{EB dieta} - (\text{EB excreta} \times \text{FI})$

EMAn dieta:  $\text{EB dieta} - (\text{EB excreta} \times \text{FI}) + 8,22 \times \text{Balanço de nitrogênio (N ingerido} - \text{N excretado} \times \text{FI})$

$$\text{EMA da microalga: } \frac{\text{EMA dieta referência} + \text{EMA dieta teste} - \text{EMA dieta referência}}{\text{g alimento} / \text{g dieta}}$$

Com uso de indicador de indigestibilidade CIA, fez-se a determinação dos coeficientes de digestibilidade íleal aparente (CDA) e estandardizada (CDE) dos aminoácidos. Os coeficientes de digestibilidade íleal standardizada foram calculados a partir da perda endógena de aminoácidos de frangos de corte em jejum (descritos em SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016).

Fator de Indigestibilidade (FI) = *indicador dieta / indicador digesta*

CDA =  $[(AA\ dieta - (AA\ digesta \times FI) / Aminoácido\ na\ dieta] \times 100$

CDE =  $[AA\ dieta - ((AA\ digesta \times FI) - (AA\ endógeno \times FI)) / AA\ dieta] \times 100$

#### *Análise estatística*

Os valores calculados de EMA e de EMAn dos diferentes métodos (coleta total de excretas e indicador CIA) foram comparados pelo teste F (5% de significância).

#### **Resultados e Discussão**

A composição bromatológica analisada da *S. platensis* (Tabela 2) revelou teores de proteína bruta de 51,47%, energia bruta 4399 kcal kg<sup>-1</sup>, cinzas 9,44%, cálcio (0,33%), fósforo (1,10%) e sódio (1,59%). O elevado teor de nutrientes, com destaque o teor de proteína bruta (51,47% MN), demonstra o potencial da microalga *S. platensis* como alimento proteico na nutrição de frangos, uma vez que este valor (%PB) supera o farelo de soja (principal fonte proteica utilizada na nutrição de frangos atualmente), o qual possui em sua composição média cerca de 45,22% de PB (ROSTAGNO et al., 2011). Além da PB, percentuais de matéria mineral, minerais como cálcio, fósforo total e sódio também superam matérias primas tradicionais como milho e farelo de soja (ROSTAGNO et al., 2011). Diferentemente dos valores citados na literatura (BECKER, 2004; MATA et al., 2010) na qual espécies de microalgas apresentam relevantes teores de lipídeos, a microalga analisada apresentou baixa quantidade de extrato etéreo (0,99%). Esta variabilidade pode se dar por diversos fatores, principalmente quando estas são expostas a condições de estresse como deficiência de nutrientes (principalmente nitrogênio), salinidade da água, pH, temperatura e intensidade de luminosa, além do próprio estágio de vida da cultura (HU et al., 2008).

Os valores de energia metabolizável (Tabela 3) determinada pelos métodos de coleta total (tradicional) e análise com indicador CIA apontou diferenças nos valores de EMA e de EMAn entre os métodos em todas as rações experimentais e da microalga. Os valores de energia calculados foram maiores (P<0,05) no método de coleta total de excretas. Também determinou-se os coeficientes de metabolizabilidade da energia, matéria seca, matéria mineral e nitrogênio das dietas (referência e teste) e da *S. platensis* (Tabela 4). A microalga apresentou 4.941 kcal kg<sup>-1</sup> de energia bruta na matéria seca (MS), contudo os resultados do presente ensaio de metabolismo demonstraram que o aproveitamento da energia foi de 65,15% na EMA (3.219 kcal kg<sup>-1</sup> MS) e 56,69% na EMAn

(2.801 kcal kg<sup>-1</sup> MS) determinada pelo método tradicional (coleta total). Por ser considerado um alimento com elevado teor de proteína, a microalga avaliada apresentou relevante conteúdo energético, sendo superior ao farelo de soja (2.540 kcal kg<sup>-1</sup> na MS), porém inferior ao milho (3.865 kcal kg<sup>-1</sup> na MS) que é um alimento energético (ROSTAGNO et al., 2011). Alvarenga et al. (2011) encontraram valores inferiores, sendo 2.906 kcal kg<sup>-1</sup> MS (2.560 kcal kg<sup>-1</sup> MN) de EMA e 2.502 kcal kg<sup>-1</sup> MS (2.204 kcal kg<sup>-1</sup> MN) de EMAN. Evans et al. (2015) determinaram EM verdadeira da *Spirulina sp.* e obtiveram o valor de 2.839 kcal kg<sup>-1</sup> (MN).

De modo geral, o aproveitamento da energia da microalga se deve pelo alto teor proteína do alimento, uma vez que a eficiência de utilização da energia metabolizável oriunda da proteína (60%) é menor quando comparada a carboidratos (75%) e gorduras (90%) (DE GROOTE, 1974). O valor calculado de EMA corrigido para o balanço de nitrogênio (EMAN) da microalga foi inferior à EMA, totalizando uma diferença de 372 kcal kg<sup>-1</sup>. Esta correção tem por objetivo proporcionar um balanço nulo de nitrogênio, uma vez que aves em crescimento tendem a reter mais nitrogênio (para deposição de proteína corporal) e aves adultas há maior excreção de nitrogênio oriundo do catabolismo de parte de compostos nitrogenados (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016; SIBBALD, 1982). Sendo assim, o valor de EMAN calculada inferior a EMA era esperado, uma vez que os animais utilizados no presente ensaio encontravam-se em fase de crescimento.

Os valores de EMA e de EMAN da microalga determinados pela análise com indicador foi de 1995 e 1763 kcal kg<sup>-1</sup>, respectivamente. De acordo com a Tabela 3, os valores de energia entre os métodos diferiram, sendo que o indicador CIA subestimou a EMA em 820 kcal kg<sup>-1</sup> e a EMAN em 730 kcal kg<sup>-1</sup>. Estes resultados divergem dos encontrados por Carvalho et al. (2013), o quais não encontraram diferenças entre os métodos ao avaliarem a EMA do milho. Contudo, observaram altos valores de desvio padrão com indicador CIA, fato também encontrado no presente estudo, sendo de 89 Kcal kg<sup>-1</sup> na coleta total e 140 Kcal kg<sup>-1</sup> com indicador. Estes resultados sugerem cautela na utilização de valores de EMA obtidos com indicador na avaliação de alimentos.

Ao comparar o valor da EMA do milho e do farelo de soja pelos métodos de coleta total e com indicador CIA, Dourado et al. (2010) não encontraram diferenças entre os métodos nos valores de EMA do farelo de soja, porém, a EMA do milho foi maior com indicador CIA. A composição da dieta pode influenciar os valores de EMA quando são utilizados indicadores, através da modificação da taxa de passagem da digesta e redução da recuperação do indicador (CORTÉS, 2008). Sendo assim, a taxa de recuperação dos indicadores (média±desvio padrão) na dieta referência foi maior (91,91±1,91%) que a dieta teste (81,88±2,64%), o que explica os menores valores de EMA e EMAN da microalga determinada pelo indicador e aponta a presença da microalga como principal causa deste efeito. A inclusão de 20% de microalga na dieta teste (percentual mínimo de acordo com a metodologia) proporcionou teores elevados de proteína bruta (28,32%) e sódio (0,486%), acima do recomendado para a fase de acordo com Rostagno et al. (2011) que é 21,25% PB e 0,21% sódio. Estes e outros fatores contribuíram para uma possível alteração na taxa de passagem e o teor matéria seca das excretas encontrados



sendo 28,58% de MS nas excretas da dieta referência (sem microalga) e 21,49% de MS na dieta teste (com microalga).

Com os avanços na nutrição de frangos, o conteúdo e perfil de aminoácidos dos alimentos são considerados de extrema importância. Na Tabela 5 observa-se que a *S. platensis* apresentou valores expressivos de aminoácidos totais, principalmente aminoácidos como metionina, treonina, arginina, valina, isoleucina e leucina. Os coeficientes de digestibilidade ileal estandardizados foram de  $79,99 \pm 3,53\%$  (média  $\pm$  desvio padrão) para os aminoácidos essenciais e  $78,52 \pm 4,26\%$  para os não essenciais. Os aminoácidos limitantes na nutrição de frangos de corte como a metionina (0,75%), treonina (2,31%), valina (2,32%), isoleucina (2,41%), arginina (3,41%) e leucina (3,79% na MS) apresentaram valores digestíveis estandardizados que superam os teores do farelo de soja 45% PB (ROSTAGNO et al., 2011), o que se reflete em menor utilização de aminoácidos sintéticos na formulação de rações contendo a microalga.

Avaliando o aproveitamento dos nutrientes, observa-se que a microalga tem potencial como matéria prima, fonte de energia e de aminoácidos na alimentação de frangos de corte. Contudo, cabe ressaltar outras qualidades deste alimento, como a atuação como pigmentante natural da carne (TOYOMIZU et al., 2001) e ovos (LENG et al., 2012); enriquecimento de carne e ovos com ácidos graxos poliinsaturados (AO et al., 2015; PARK et al., 2015); melhoria da microflora intestinal de frangos (KANG et al., 2013) entre outros.

Conclui-se que o valor de EMAn da microalga *Spirulina platensis* é de 2493 Kcal kg<sup>-1</sup> MN. A utilização de indicador cinza insolúvel em ácido não promoveu valores semelhantes de energia ao método tradicional. O coeficiente de digestibilidade ileal estandardizado médio dos aminoácidos essenciais foi de 79,99% e não essenciais 78,52%.

### **Agradecimentos**

Agradecemos à Embrapa Suínos e Aves, Concórdia SC, por fornecer recursos, infraestrutura e corpo técnico para a realização da pesquisa. À empresa Spirulina Brasil G&F LTDA, em nome do biólogo Ivan Pinheiro Joventino pelo fornecimento da microalga. À Universidade do Estado de Santa Catarina pelo corpo docente que auxiliou no estudo.

### **Referências bibliográficas**

- AOAC, 1995. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 16th ed. Protein (crude) determination in animal feed: copper catalyst Kjeldahl method (AOAC 984.13). Washington, USA.
- AOAC. Approved Official Procedure Ba 6a-05. *ANKOM Technology Method*. Crude Fiber Analysis in Feeds - Filter Bag Technique (for A2000 and A2000I). [https://www.ankom.com/sites/default/files/document-files/Method\\_1\\_Crude\\_Fiber\\_A2000.pdf](https://www.ankom.com/sites/default/files/document-files/Method_1_Crude_Fiber_A2000.pdf) (Acessado 10.06.16).

- AOCS. Official Procedure Am 5-04. ANKOM Technology Method. Rapid Determination of Oil/Fat Utilizing High Temperature Solvent Extraction. [https://www.ankom.com/sites/default/files/document-files/ANKOM\\_XT15\\_XT10\\_Info.pdf](https://www.ankom.com/sites/default/files/document-files/ANKOM_XT15_XT10_Info.pdf) (Acessado 10.06.16)
- AO, T.; MACALINTAL, L. M.; PAUL, M. A.; PESCATORE, A. J.; CANTOR, A. H.; FORD, M. J.; TIMMONS, B.; DAWSON, K. A. Effects of supplementing microalgae in laying hen diets on productive performance, fatty-acid profile, and oxidative stability of eggs. *Journal Applied Poultry Research*, p. 1–7, 2015.
- AUSTIC, R. E.; MUSTAFA, A.; JUNG B.; GATRELL, S.; LEI, X. G. Potential and limitation of a new defatted diatom microalgal biomass in replacing soybean meal and corn in diets for broiler chickens. *Journal Agriculture Food Chemical*, v. 61, p. 7341–7348, 2013.
- ALVARENGA, R. R.; RODRIGUES, P. B.; CANTARELLI, V. S.; ZANGERONIMO, M. G.; SILVA JÚNIOR, J. W.; SILVA, L. R.; SANTOS, L. M.; PEREIRA, L. J. Energy values and chemical composition of *Spirulina* (*Spirulina platensis*) evaluated with broilers. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 40, p. 992-996, 2011.
- BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition. In Richmond, A. (ed.), *Handbook of microalgal culture*. Blackwell, Oxford, p. 312– 351, 2004.
- BRITO, C. O. *Desempenho e avaliação de carcaça de frangos de corte submetidos a dietas formuladas com base em aminoácidos totais e digestíveis e estimativas do crescimento e da deposição de tecido corporal utilizando equações matemáticas*. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 162p. 2007.
- CARVALHO, G. B.; DOURADO, L. R. B.; LOPES, J. B.; FERREIRA, A. H. C.; RIBEIRO, M. N.; SILVA, S. R. G.; MERVAL, R. R.; BIAGIOTTI, D.; SILVA, F. E. S. Métodos de análise da cinza insolúvel em ácido utilizada como indicador na determinação da energia metabolizável do milho para aves. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 14, p. 43-53, 2013.
- CBA - Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal. *Método nº 37 Matéria pré-seca*, 2009, 139p.
- CORTÉS, M. E. M.; RIBEIRO, A. M. L.; GIANFELICI, M. F.; KESSLER, A. M.; MORAES, M. L. Study of methodological variations in apparent nutrient metabolism determination in broiler chickens. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, p. 1921-1927, 2009.
- DANESI, E. D. G. *Spirulina platensis: potencial para desenvolvimento de alimentos*. 1 ed. Saarbrücken, Deutschland, 2016, 179p.
- DE GROOTE, G. *Utilisation of metabolisable energy*. In: Morris, R., Freeman, B.M. (Eds.), *Energy requirements of poultry*. Edinburgo, 1974.
- DOURADO, L. R. B.; SIQUEIRA, J. C.; SAKOMURA, N. K.; PINHEIRO, S. R. F.; MARCATO, S. M.; FERNANDES, J. B. K.; SILVA, J. H. V. Poultry Feed Metabolizable Energy determination using Total or Partial Excreta Collection Methods. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v. 12, p. 129–132, 2010.
- Evans, A.M.; Smith, D.L.; Moritz, J.S., 2015. Effects of algae incorporation into broiler starter diet formulations on nutrient digestibility and 3 to 21 d bird performance. *Journal Applied Poultry Research*, 24, 206–214.

- GATRELL, S.; LUM, K.; KIM, J.; LEI, X. G. Nonruminant Nutrition Symposium: Potential of defatted microalgae from the biofuel industry as an ingredient to replace corn and soybean meal in swine and poultry diets. *Journal Animal Science*, v. 92, p. 1306-1314, 2014.
- HU, Q.; SOMMERFELD, M.; JARVIS, E.; GHIRARDI, M.; POSEWITZ, M.; SEIBERT, M.; DARZINS, A. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuels production: Perspectives and Advances. *The Plant Journal*, v. 54, p. 621-639, 2008.
- LUTZ, I. A. *Método IAL 012/IV*. In: Zenebon, O., Pascuet, N.S., Tiglea, P. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo, 2008, p. 98.
- JJ Científica. Manual de instrução básica. *Liofilizadores série LJI0XX*. Disponível em: <http://www.jjcientifica.com.br/25023.swf>. Acesso em 12 mai. 2016.
- KANG, H.K., SALIM, H.M., AKTER, N., KIM, D.W., KIM, J.H., BANG, H.T., KIM, M.J., NA, J.C., HWANGBO, J.; CHOI, H. C.; SUH, O. S. Effect of various forms of dietary *Chlorella* supplementation on growth performance, immune characteristics, and intestinal microflora population of broiler chickens. *Journal Applied Poultry Research*, v. 22, p. 100–108, 2013.
- Leco Corporation. *AC500 Automatic Calorimeter Instruction Manual*. Version 1.2x. Disponível em: <http://www.leco.com/products/analytical-sciences/calorific-value/ac500-isoperibol-calorimeter>. Acesso em 20 set. 2016.
- LENG, X. J.; HSU, H. N.; AUSTIC, R. E.; LEI, X. G. Defatted algae biomass may replace one-third of soybean meal in diets for laying hens [abstract]. *Journal Animal Science*, v.90, p.701, 2012.
- LUM, K. K.; KIM, K.; LEI, X. G. Dual potential of microalgae as a sustainable biofuel feedstock and animal feed. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, v. 4, p. 1-7, 2013
- MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 14, p. 217–232, 2010.
- MATTERSON, L. D.; POTTER, L. M.; STUTZ, M. W.; SINGSEN, E. P. *The metabolizable energy of feeds ingredients for chickens*. Connecticut: The university of Connecticut, Agricultural Experiment Station, p.11-14, 1965.
- PARK, J. H.; UPADHAYA, S. D.; KIM, I. H. Effect of Dietary Marine Microalgae (Schizochytrium) Powder on Egg Production, Blood Lipid Profiles, Egg Quality, and Fatty Acid Composition of Egg Yolk in Layers. *Journal Animal Science*, v. 28, p. 391-397, 2015.
- PURDUM, S.; HANFORD, K.; KREIFELS, B. Short-term effects of lower oil dried distillers grains with solubles in laying hen rations, *Poultry Science*, v. 93, p. 2592–2595, 2014
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L.T.; EUCLIDES, R. F. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*, 3 ed. Viçosa, Minas Gerais, 2011, 252p.

- SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. *Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos*, 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2016.
- SIBBALD, I. R.; SLINGER, S. J. A biological assay for metabolizable energy in poultry feed ingredients together with findings which demonstrate some of the problems associated with the evaluation of fats. *Poultry Science*, v. 54, p. 448-456, 1963.
- SIBBALD, I. R. Measurement of bioavailable energy in poultry feedingstuffs: a review. *Canadian Journal of Animal Science*, v. 62, p. 983-1048, 1982.
- STEFANELLO, C.; VIEIRA, S. L.; RIOS, H. V.; SIMÕES, C. T.; SORBARA, J. O. B. Energy and nutrient utilisation of broilers fed soybean meal from two different Brazilian production areas with an exogenous protease. *Animal Feed Science and Technology*, v. 221, p. 267–273, 2016
- TOYOMIZU, M.; SATO, K.; TARODA, H.; KATO, T.; AKIBA, Y. Effects of dietary *Spirulina* on meat colour in muscle of broiler chickens. *British Poultry Science*, v. 42, p. 197–202, 2001.
- VAN KEULEN, J.; YOUNG, B. A. Evaluation of acid-insoluble ash as natural marker ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, v. 44, p. 282-287, 1977.

**Tabela 1.** Composição da dieta referência (13-22 dias).

<b>Ingredientes</b>	<b>Composição (%)</b>
Milho	55,51
Farelo de soja (45%)	36,59
Óleo de soja	3,16
Fosfato bicálcico	1,50
Calcário calcítico	0,92
Sal comum	0,48
DL-Metionina (99%)	0,27
L-Lisina HCl (78%)	0,16
L-Treonina (98%)	0,04
Suplemento vitamínico <sup>1</sup>	0,10
Suplemento mineral <sup>2</sup>	0,05
Cloreto de colina (60%)	0,10
Monensina sódica <sup>3</sup>	0,10
BHT <sup>4</sup>	0,01
Celite®	1,0
<b>Composição calculada</b>	
Proteína bruta (%)	21,25
Energia Metabolizável (Kcal kg-1)	3000
Extrato Etéreo (%)	5,79
Lisina, digestível (%)	1,17
Sódio (%)	0,21
Cálcio (%)	0,82
Fósforo disponível (%)	0,39
Fibra bruta (%)	2,90

<sup>1</sup>Níveis de garantia por Kg do produto: Vit. A: 9000000 UI; Vit. D3: 2500000 UI; Vit. E: 20000 mg; Vit. K3 – 2500 mg; Vit. B1 – 1500 mg; Vit. B2 – 6000 mg; Vit. B6 – 3000 mg; Vit. B12 – 12000 mg; Ác. Pântotenico – 12 g; Niacina 25 g; Ác. Fólico – 800 mg; Biotina – 60 mg; Se – 250 mg.

<sup>2</sup> Níveis de garantia por Kg do produto: Cu – 20 g; Fe – 100 g; Mn – 160 g; Co – 2000 mg; I – 2000 mg; Zn – 100 g.

<sup>3</sup>Elancoban – 0,1% equivale à 20 ppm.

<sup>4</sup>Beta-hidroxi-tolueno.

**Tabela 2.** Composição bromatológica analisada da microalga (*Spirulina platensis*) na matéria natural (MN).

<b>Composição</b>	<b><i>Spirulina platensis</i></b>
Matéria seca (%)	88,80
Energia bruta (kcal kg <sup>-1</sup> )	4.399
Proteína bruta (%)	51,47
Fibra bruta (%)	1,06
Extrato etéreo (%)	0,99
Cinzas (%)	9,44
Cálcio (%)	0,33
Fósforo (%)	1,10
Sódio (%)	1,59
DGM <sup>1</sup> (µm)	460
DPG <sup>1</sup> (µm)	1,97

<sup>1</sup>DGM – Diâmetro Geométrico Médio.

<sup>2</sup>DPG – Desvio Padrão Geométrico.

**Tabela 3.** Valores de energia metabolizável aparente (EMA) e corrigida para balanço de nitrogênio (EMAn) das rações referência, teste e da microalga *Spirulina platensis* para frangos de corte.

Rações	Método	EMA (Kcal kg <sup>-1</sup> )		EMAn (Kcal kg <sup>-1</sup> )	
		Base seca	Base Natural	Base seca	Base Natural
<b>Ração Referência</b>	Coleta Total	3538a	3181a	3318 <sup>a</sup>	2984a
	CIA	3452b	3105b	3242b	2916b
	CV (%)	<b>0,51</b>	<b>0,51</b>	<b>0,52</b>	<b>0,52</b>
	EP	<b>5,68</b>	<b>5,10</b>	<b>5,38</b>	<b>4,84</b>
	<i>P - value</i>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>
<b>Ração Teste</b>	Coleta Total	3482a	3129a	3227a	2900a
	CIA	3239b	2911b	3020b	2714b
	CV (%)	<b>0,79</b>	<b>0,79</b>	<b>0,75</b>	<b>0,75</b>
	EP	<b>8,36</b>	<b>7,52</b>	<b>7,38</b>	<b>6,63</b>
	<i>P - value</i>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>
<b><i>S. platensis</i></b>	Coleta Total	3219a	2865a	2800a	2493a
	CIA	2242b	1995b	1980b	1763b
	CV (%)	<b>5,50</b>	<b>5,50</b>	<b>5,54</b>	<b>5,54</b>
	EP	<b>47,48</b>	<b>42,26</b>	<b>41,87</b>	<b>37,27</b>
	<i>P - value</i>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>

CV: Coeficiente de variação (%); EP: Erro padrão;

**a,b:** Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste F (P<0,05)

**Tabela 4.** Coeficientes de metabolizabilidade da matéria seca, matéria mineral, nitrogênio e energia.

<b>Dietas</b>	<b>Matéria seca</b>	<b>Matéria mineral</b>	<b>Nitrogênio</b>	<b>Energia</b>
Dieta referência (%)	74,53	35,64	67,21	73,66
Dieta teste (%)	72,78	40,88	61,45	70,53
Microalga (%)	64,58	65,34	34,53	56,69



**Tabela 5.** Aminoácidos totais, digestíveis (aparente e estandardizado) e os coeficientes de digestibilidade ileal (aparente e estandardizado) dos aminoácidos da microalga *Spirulina platensis* (% MN).

Aminoácido	AA total (%)	CD Ap (%)	CD Es (%)	AAD Ap (%) <sup>1</sup>	AAD Es (%) <sup>2</sup>
<b>Aminoácidos essenciais</b>					
Metionina	0,81	77,24	82,41	0,63	0,67
Lisina	2,18	76,83	81,27	1,67	1,77
Treonina	2,49	72,47	83,44	1,80	2,08
Valina	2,61	72,54	79,77	1,89	2,08
Isoleucina	2,71	74,79	79,69	2,03	2,16
Arginina	3,92	74,78	77,89	2,93	3,05
Leucina	4,40	72,41	77,10	3,19	3,39
Histidina	0,73	72,02	80,03	0,53	0,58
Fenilalanina	2,23	76,19	85,38	1,70	1,90
Glicina	2,89	66,97	72,88	1,94	2,11
<b>Aminoácidos não essenciais</b>					
Ác. Aspártico	5,06	68,75	74,09	3,48	3,75
Ác. Glutâmico	7,17	74,57	79,05	5,35	5,67
Serina	2,61	68,21	75,85	1,78	1,98
Alanina	4,14	73,68	77,83	3,05	3,22
Prolina	2,18	74,23	86,43	1,62	1,88
Tirosina	2,66	70,54	-	1,88	
Cistina	1,31	68,75	77,84	0,90	1,02

**AA Total:** Aminoácidos totais; **CD Ap:** Coeficiente de digestibilidade ileal aparente; **CD Es:** Coeficiente de digestibilidade ileal estandardizada; **AA Ap:** Aminoácidos digestíveis aparente; **AA Vd:** Aminoácidos digestíveis estandardizados.

<sup>1</sup>Aminoácidos digestíveis calculados no presente estudo.

<sup>2</sup>Aminoácidos digestíveis estandardizados corrigidos através de perda endógena de frangos em jejum baseados em SAKOMURA & ROSTAGNO (2016).

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os ensaios de metabolismo aqui realizados apontam a importância de considerar a metodologia de avaliação do valor energético de dietas/alimento e a forma física de rações para frangos de corte, uma vez que diferenças foram encontradas entre o método de coleta total (considerado método tradicional) e com uso de indicadores. A utilização de indicadores demonstrou certa inconsistência e variabilidade de resultados, tendo mesmo assim a CIA como o indicador mais confiável (menor erro padrão, coeficiente de variação e maior recuperação nas excretas). Diante disso, apesar da CIA ter sido considerada apropriada para avaliar a EMAn de dietas fareladas, demonstrou-se não apropriado para avaliar a EMAn (MN) de dietas peletizadas (Exp. 1) e da microalga *S. platensis* (Exp. 2), tendo em ambos os casos subestimado os valores de energia, explicado pela baixa recuperação dos indicadores nas excretas. Assim, a utilização de indicadores para avaliar EMAn necessita de maior entendimento sobre o dinamismo destes no trato gastrointestinal das aves e de padronização de procedimentos/técnicas analíticas que maximizem a recuperação dos indicadores, uma vez que percebeu-se nos ensaios que quando altas taxa de recuperação são encontradas aumenta a confiabilidade dos resultados.

## Referências

ABPA – Associação brasileira de proteína animal. Relatório anual. 2016.

ABDOLLAHI, M.R., et al. Influence of grain type and feed form on performance, apparent metabolisable energy and ileal digestibility of nitrogen, starch, fat, calcium and phosphorus in broiler starters. **Animal Feed Science and Technology**, v. 186, p. 193–203, 2013.

Abdollahi, M.R., Ravindran, V., Wester, T.J., Ravindran, G., Thomas, D.V. Influence of feed form and conditioning temperature on performance, apparent metabolisable energy and ileal digestibility of starch and nitrogen in broiler starters fed wheat-based diet. **Animal Feed Science and Technology**, v. 168, p. 88–99, 2011.

AO, T. et al. Effects of supplementing microalgae in laying hen diets on productive performance, fatty-acid profile, and oxidative stability of eggs. **Journal Applied Poultry Research**, p.1–7, 2015.

AUSTIC, R. E. et al. Potential and limitation of a new defatted diatom microalgal biomass in replacing soybean meal and corn in diets for broiler chickens. **Journal Agriculture Food Chemical**, v.61, p.7341–7348, 2013.

ALVARENGA, R. R. et al. Energy values and chemical composition of spirulina (*Spirulina platensis*) evaluated with broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.5, p.992-996, 2011.

BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition, In: RICHMOND, A. (ed.), **Handbook of microalgal culture**. Oxford: Blackwell, 2004. p.312-351.

BIAGI, J. D. Tecnologia da peletização da ração. In: Simpósio do colégio brasileiro de nutrição animal, 1990, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p.37-59, 1990.

BELLAVER, C.; NONES, K. A importância da granulometria, da mistura e da peletização da ração avícola. In: SIMPOSIO GOIANO DE AVICULTURA, 4, 2000, Goiânia. **Anais...** Goiânia. **Anais...** Goiânia : AGA, 2000. p. 59-78

CARVALHO, G. B. et al. Métodos de análise da cinza insolúvel em ácido utilizada como indicador na determinação da energia metabolizável do milho para aves. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v.14, n.1, p.43-53 jan./mar., 2013.

CORTÉS, M. E. M. et al. Study of methodological variations in apparent nutrient metabolism determination in broiler chickens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.10, p.1921-1927, 2009.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnol Adv**, v.25, p.294–306, 2007.

DOURADO, L. R. B. et al. Poultry Feed Metabolizable Energy determination using Total or Partial Excreta Collection Methods. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.12, n.2, p.129–132, 2010.


- EVANS, A. M. et al. Effects of algae incorporation into broiler starter diet formulations on nutrient digestibility and 3 to 21 d bird performance. **Journal Applied Poultry Research**. v.24, p. 206–214, 2015.
- ENGBERG, R. M. et al. The influence of grinding and pelleting of feed on the microbial composition and activity in the digestive tract of broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 43, p. 569-579, 2002.
- FURST, P. T. Spirulina – a nutritious alga, once a staple of Aztec diet, could feed many of the world hungry people. **Human Nature**, v.3, p.60, 1978.
- GATRELL, S., K. et al. Nonruminant Nutrition Symposium: Potential of defatted microalgae from the biofuel industry as an ingredient to replace corn and soybean meal in swine and poultry diets. **Journal Animal Science**, v.92, p.1306-1314, 2014.
- GINZBERG, A. et al. Chickens fed with biomass of the red microalga *Porphyridium* sp have reduced blood cholesterol level and modified fatty acid composition in egg yolk. **Journal Applied Phycology**, v.12, p.325–330, 2000.
- HAJKHODADADI, I.; MORAVEJ, H. Determination of Energy Value of Corn with Different Methods for Japanese Quails (*Coturnix Coturnix Japonica*). **Journal of Animal Science Advances**, v.4, p.855-861, 2014.
- KANG, H. K. et al. Effect of various forms of dietary *Chlorella* supplementation on growth performance, immune characteristics, and intestinal microflora population of broiler chickens. **Journal Applied Poultry Research**, v.22, p.100–108, 2013.
- KLEIN, C. H. **Efeito da forma física e do nível de energia da ração sobre o desempenho, a composição de carcaça e a eficiência de utilização da energia metabolizável consumida por frangos de corte**. 1996. 97 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- KOBT, A. R.; LUCKEY, T. D. Markers in nutrition. **Nutrition abstracts and reviews**, v.42, p.813-845, 1972.
- LENG, X. J. et al. Defatted algae biomass may replace one-third of soybean meal in diets for laying hens [abstract]. **Journal Animal Science**, v.90 (Suppl 3), p.701, 2012.
- LENG, X.J. et al. Effect of dietary defatted diatom biomass on egg production and quality of laying hens. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. v.5, 2014.
- LEMME, A.; WIJTEN, P. J. A.; VAN WICHEN, J. Responses of male growing broilers to increasing levels of balanced protein offered as coarse or pellets of varying quality. **Poultry Science**, Champaign, v. 85, n. 4, p. 721-730, 2006.
- LIPSTEIN, B.; HURWITZ, S. The Nutritional Value of Sewage-Grown Samples of *Chlorella* and *Micractinium* in Broiler Diets. **Poultry Science**, v. 62, p.1254-1260, 1983.

- LUM, K. K. et al. Dual potential of microalgae as a sustainable biofuel feedstock and animal feed. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.4, p.1-7, 2013.
- MASSUQUETTO, A., MAIORKA, A. **Atualização sobre o efeito da peletização em linhagens modernas de frango de corte**. 29ª Reunião – Congresso sobre Nutrição de Aves e Suínos. Palestra. São Pedro, SP, 2015.
- MEURER, R. P. et al. Avaliação de rações peletizadas para frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 13, n. 3, p. 229-240, 2008.
- MORAN, E. T. Pelleting: affects feed and its consumption. **World's Poultry Science**, Cambridge, v. 5, p. 30-31, 1987.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) – **Nutrients requirements of swine**. 10<sup>th</sup> Rev. Edition Natl. Acad. Press, Washington, DC., 1998, 189p.
- PARK, J. H. et al. Effect of Dietary Marine Microalgae (*Schizochytrium*) Powder on Egg Production, Blood Lipid Profiles, Egg Quality, and Fatty Acid Composition of Egg Yolk in Layers. **Journal Animal Science**, v.28, p.391-397, 2015.
- PUCCI, L. E. A. et al. Forma física, suplementação enzimática e nível nutricional de rações para frangos de corte na fase inicial: desempenho e digestibilidade dos nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.1272-1279, 2010.
- ROSS, E.; DOMINY, W. The nutritional value of dehydrated, blue-green algae (*Spirulina platensis*) for poultry. **Poultry Science**, v.69, p.794–800, 1990.
- SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: Funep, 2007, 283p.
- RYMER, C. et al. Comparison of algal and fish sources on the oxidative stability of poultry meat and its enrichment with omega-3 polyunsaturated fatty acids. **Poultry Science**, v.89, p.150–159, 2010.
- SIBBALD, I. R.; SLINGER, S. J. A biological assay for metabolizable energy in poultry feed ingredients together with findings which demonstrate some of the problems associated with the evaluation of fats. **Poultry Science**, v.54, p. 448-456, 1963.
- SILVEIRA, M. H. D. et al. Efeito da peletização em dietas contendo complexo enzimático para frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 326-333, 2010.
- SUJATHA, T.; NARAHARI, D. Effect of designer diets on egg yolk composition of ‘White Leghorn’ hens. **Journal of Food Science and Technology**, v.48, p.494–497, 2011.
- TOYOMIZU, M. et al. AKIBA, Y. Effects of dietary *Spirulina* on meat colour in muscle of broiler chickens. **British Poultry Science**, v.42, p.197–202, 2001.

VENKATARAMAN, L. V. et al. Replacement value of blue-green alga (*Spirulina platensis*) for fishmeal and a vitamin-mineral premix for broiler chicks. **British Poultry Science**, v.35, p.373–381, 1994.

## CARTA DE APROVAÇÃO DO CETEA

### Experimento 1

	Certificado de Conduta Ética	ETICA 1/1
---	------------------------------	--------------

#### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº (000/AAAA): 009/2015, sob título “Diferentes metodologias de avaliação nutricional de microalgas para frangos de corte”, sob responsabilidade de Marcio Luis Busy da Silva está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), **TENDO SIDO CONSIDERADO APROVADO PELA** Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/CNPSA) em reunião realizada em 26/ 08/ 2015.

#### CERTIFICATE


We certify that the Protocol nº (000/YYYY): 009/2015, under the following title “Different methods of nutritional assessment of microalgae for broilers” is in agreement with the Ethical Principles in Animal Research adopted by Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) and was approved by the Embrapa Swines and Poultry Ethical Committee for Animals utilization in experimentation (CEUA/CNPSA) in 26/08/2015.

Concórdia, 26/08/2015.



\_\_\_\_\_  
Presidente CEUA/CNPSA

## Experimento 2

	Identificação De Projeto	ETICA
---	--------------------------	-------

# CEUA/ CNPSA ACESSO RESTRITO

Segundo a Comissão de Ética no Uso de Animais da Embrapa Suínos e Aves (CEUA/CNPSA) o projeto intitulado "Diferentes metodologias para avaliação de energia metabolizável de rações processadas para frangos de corte", cadastrado com o protocolo Nº005/2016 foi submetido a apreciação, tendo sido o mesmo considerado APROVADO, estando desta forma, liberada a execução do projeto desde que respeitada a descrição da metodologia apresentada ao CEUA.

Período de vigência do projeto

Início 13/05/2016

Término 09/06/2069

Pesquisador Responsável: Fernando de Castro Tavernari

Telefone para Contato: 3441-0401

Presidente do CEUA: Paulo Augusto Esteves

Telefone para Contato: 3441-0416

Concórdia, 06/05/2016.



Dr. Paulo Esteves  
Presidente CEUA/CNPSA

É obrigatório que esta identificação seja fixada em local visível durante a realização do(s) experimento(s)