

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**INIBIDORES DE PROTEASES EM DIETAS CONTENDO SOJA INTEGRAL
MICRONIZADA PARA LEITÕES DESMAMADOS**

Paula Gabriela Da Silva Pires
Médica Veterinária/UFPeI

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de
Mestre em Zootecnia
Área de Concentração Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil
Março de 2015

CIP - Catalogação na Publicação

da Silva Pires, Paula Gabriela
INIBIDORES DE PROTEASES EM DIETAS CONTENDO SOJA
INTEGRAL MICRONIZADA PARA LEITÕES DESMAMADOS / Paula
Gabriela da Silva Pires. -- 2015.
71 f.

Orientadora: Maitê de Moraes Vieira.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal
do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia,
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Porto
Alegre, BR-RS,
2015.

1. inibidores de tripsina. 2. soja micronizada.
3. suinocultura. 4. proteínas de soja. I. de Moraes
Vieira, Maitê , orient. II. Título.

PAULA GABRIELA DA SILVA PIRES
Médica Veterinária

DISSERTAÇÃO

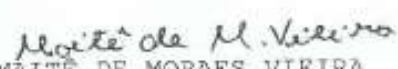
Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de


MESTRA EM ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 30.03.2015
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 20.05.2015
Por


MAÍTE DE MORAES VIEIRA
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientadora


JÚLIO OTÁVIO JARDIM BARCELLOS
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia


ALEXANDRE DE MELLO KESSLER
PPG ZOOTECNIA-UFRGS


EDUARDO GONÇALVES XAVIER
UFFel - Pelotas/RS

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia pela estrutura e qualidade de ensino.

A CAPES pela bolsa de estudos concedida.

À minha orientadora, professora Maitê de Moraes Vieira, pelos ensinamento e amizade.

Aos professores Alexandre Kessler, Luciano Trevizan e Andréa Ribeiro pela disposição em ajudar sempre que solicitado.

À empresa Perdigão e ao senhor Sioji pelo auxílio nas pesquisas.

Ao Laboratório Nutrianalysis - Bogotá, Colômbia pela oportunidade de aprendizado e atenção das pesquisadoras Fabíola de Belalcazar e Laura Camargo.

Aos colegas do Laboratório de Ensino Zootécnico;

Aos amigos do Laboratório de Nutrição Animal, principalmente a Aline Leuven, sem sua ajuda as análises realizadas durante o trabalho não seriam possíveis.

As amigas, Jennifer Mendes, Michelle Lopes e Gisele Dela Ricci.

Aos principalmente a minha família, Leni, Patricia, Eleú e Marcus por estarem sempre presentes em minha vida.

INIBIDORES DE PROTEASES EM DIETAS CONTENDO SOJA INTEGRAL MICRONIZADA PARA LEITÕES DESMAMADOS¹

Autor: Paula Gabriela da Silva Pires

Orientador: Maitê de Moraes Vieira

RESUMO

A soja é uma leguminosa de alto valor biológico, porém elevado conteúdo de fatores antinutricionais, como os inibidores de proteases, responsáveis pela redução de seu valor nutricional. Diferentes processamentos foram desenvolvidos com a finalidade de inativar esses fatores, como a micronização. O presente estudo foi realizado com a finalidade de avaliar o efeito da soja integral micronizada com diferentes níveis de inibidores de tripsina (TIA) nas respostas de desempenho e digestibilidade de leitões desmamados. Um total de 30 leitões com peso médio de $7,1 \pm 0,55$ kg foi distribuído em um delineamento experimental completamente casualizado durante 28 dias. Farelo de soja (FS) e soja integral micronizada (SIM) foram utilizadas como a maior fonte de proteína nas dietas. A SIM foi obtida através de diferentes temperaturas e times de procesamento: SIMa - 181°C, 5 - 6 minutos; SIMb - 178 °C, 3 - 4 minutos; SIMc - 175°C, 3 -4 minutos e SIMd -110°C, 4- 6 minutos. Os cinco tratamentos eram constituídos de FS ou SIM e diferentes níveis de TIA: FS com 0.5 mgTIA/g; SIMa e 1.0 mgTIA/g; SIMb e 1.9 mgTIA/g; SIMc e 2.25 mgTIA/g; SIMd e 5.5 mgTIA/g. Os animais alimentados com dietas contendo soja integral micronizada e níveis de inibidores de tripsina de até 2,25 mgTIA/g apresentaram resultados similares aos leitões que receberam a dieta com farelo de soja. O menor ganho de peso e os piores resultados de coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta dos animais alimentados com a dieta contendo 5,5 mgTIA/g pode ser atribuído a atividade de inibidores de tripsina presentes na dieta. Com relação à energia digestível a dieta contendo soja integral micronizada com 1,9 mgTIA/g foi superior a dieta contendo 2,25 mgTIA/g e a dieta com 5,5 mgTIA/g, apresentando resultados semelhantes à dieta contendo farelo de soja com 0,5 mgTIA/g e a soja integral micronizada com 1,0 mgTIA/g. O índice de inibidores de tripsina presente na dieta foi negativamente correlacionado com os parâmetros de desempenho na fase inicial (13 a 28 d). Pode-se verificar uma correlação positiva entre a TIA presente na dieta e o teor de TIA excretado nas fezes dos animais. Neste estudo pode-se concluir que dietas contendo soja integral micronizada com níveis TIA de até 2,25 mgTIA/g tornam-se uma alternativa a dieta de leitões.

¹Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (72 p.) Março, 2015.

PROTEASE INHIBITORS IN MICRONIZED SOYBEAN DIETS FOR PIGS WEANLING¹

Author: Paula Gabriela da Silva Pires

Adviser: Dra. Maitê de Moraes Vieira

ABSTRACT

Soybean is a leguminous of high biological value. However, it has high content of antinutritional factors, especially the inhibitors of proteases, responsible for the reduction fits nutritional value. As a consequence, different processes were developed for the purpose to inactivate these factors, as the micronization. This study was conducted to evaluate the effect of micronized whole soybean with different level of trypsin inhibitor activity (TIA) in performance and digestibility of weaned piglets. A total 30 weaned piglets, averaging initial body weight of $7,1 \pm 0.55$ kg were allotted to five treatments as a completely randomized design during 28 days. Soybean meal (SBM) and micronized whole soybean (MSB) were tested as major protein source in the diets. The MSB were obtained by different temperature and time processing: MSBa - 181°C, 5 - 6 minutes; MSBb - 178 °C, 3 - 4 minutes; MSBc - 175°C, 3 -4 minutes and MSBd -110°C, 4- 6 minutes. The five treatments consisted with SBM or MSB and TIA diet level: SBM with 0.5 mgTIA/g; MSBa and 1.0 mgTIA/g; MSBb and 1.9 mgTIA/g; MSBc and 2.25 mgTIA/g; MSBd and 5.5 mgTIA/g. All animals fed diets containing micronized whole soybean and levels of TIA until 2.25 mgTIA/g presented similar results of piglets fed soybean meal. The lower daily weight gain and the worst coefficient of total tract apparent digestibility of crude protein were in diet with MSBd and 5.5 mgTIA/g It can be attributed to the activity of trypsin inhibitors. The diet with MSBb and 1.9 mgTIA/g was higher digestible and metabolizable of energy in dry matter than MSBc and 2.25 mgTIA/g or MSBd and 5.5 mgTIA/g, with similar results to the diet SBM with 0.5 mgTIA/g and diet MSBa with 1.0 mgTIA/g. The TIA level present in the diet was negatively correlated with performance parameters in the initial phase (13 a 28 days). There was correlation between TIA on diet and TIA excreted in the animal faeces. The TIA level diet was high and negatively correlated to animal weight gain ($r = 0.79$; $P < 0.001$). It was significant linear regressions the increase of TIA unit in the diet led to loss of 39g in average daily gain of piglets. This study showed that diets containing micronized whole soybean with TIA level until 2.25 mgTIA/g could replaced soybean meal diets for weaned piglets without difference on animal performance and diet digestibility diets become an alternative diet to pigs.

¹Master of Science dissertation in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (72 p.) March, 2015.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	10
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1. Soja	12
2.2. Fatores antinutricionais presentes na soja	12
2.2.1. Fatores antinutricionais na soja crua.....	12
2.2.2. Inibidores de proteases	13
2.2.3. Lectinas	14
2.3. Inativação e determinação de fatores antinutricionais.....	15
2.4. Soja integral micronizada	17
2.5. Soja integral micronizada na alimentação de não ruminantes.	18
3 HIPÓTESES E OBJETIVOS	20
 CAPÍTULO II	 21
Inibidores de proteases em dietas contendo soja integral micronizada para leitões desmamados	 22
Abstract	22
Introdução	23
Material e Métodos	24
Resultados	29
Discussão	30
Conclusões	35
Agradecimentos	35
Referências Bibliográficas	36
 CAPÍTULO III	 42
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
6 APÊNDICES	51
7 VITA.....	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição das dietas experimentais para leitões desmamados	38
Tabela 2. Composição analisada dos ingredientes e dietas para leitões.....	39
Tabela 3. Índice de atividade de urease (IAU) e atividade de inibidores de tripsina (mgTIA/g) nos ingredientes e dieta	40
Tabela 4. Desempenho, coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) e coeficiente aparente de metabolizabilidade (CMA) de leitões alimentados com dietas contendo farelo de soja (FS) ou soja integral micronizada (SIM)	40
Tabela 5. Correlação entre atividade de inibidores de tripsina (mgTIA/g) na dieta inicial e índice de atividade de urease (IAU), desempenho, digestibilidade e metabolizabilidade da proteína e da energia em leitões desmamados alimentados com farelo de soja (FS) ou soja integral micronizada (SIM).....	41
Tabela 6. Análise de regressão linear entre mgTIA/g e o desempenho, a digestibilidade e a metabolizabilidade de leitões alimentados com soja integral micronizada na fase inicial (12 a 28 d).....	41

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

- Figura 1. Comparativo de produção, exportação, consumo e estoque final de soja no Brasil nas últimas dez safras (mil t)..... 12
- Figura 2. Fluxograma do processo industrial de produção da soja integral micronizada..... 17

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

λ	Comprimento de onda
Mm	Micrômetro
AACC	American Association of Cereal Chemists
AOCS	American Oil Chemists' Society
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
BBI	Bowman-Birk
CA	Conversão alimentar
CDAEB	Coeficiente de digestibilidade da energia bruta
CDAMS	Coeficiente de digestibilidade da matéria seca
CDAPB	Coeficiente de digestibilidade da proteína bruta
CMAEB	Coeficiente de metabolizabilidade aparente da energia bruta
CMAPB	Coeficiente de metabolizabilidade aparente da proteína bruta
COR	Correlação de Pearson
CR	Consumo de ração
CZ	Cinzas
EB	Energia bruta
ED	Energia digestível
EM	Energia metabolizável
EMAn	Energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio
FS	Farelo de soja
GP	Ganho de peso
IAU	Índice de atividade da uréase
KTI	Fator Kunitz
mgTIA/g	Miligramas de inibidores de tripsina por grama de amostra
MJ	Megajoules
MS	Matéria seca
PB	Proteína bruta
REG	Regressão
SAS	Statistical Analysis System
SIM	Soja integral micronizada
TIA	Atividade de inibidores de tripsina

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

O setor de alimentação animal, em especial de suínos e aves, apresenta uma grande demanda por fontes de proteína de alta digestibilidade e com alto padrão de qualidade. O farelo de soja apresenta-se como o principal ingrediente protéico na formulação de dietas para animais monogástricos. Em sua constituição, possui proteína de alta qualidade e elevada quantidade de energia (Bellaver & Snizek Jr, 1999). Entretanto, a soja crua contém fatores antinutricionais como o fator antitripsina, as lectinas e as saponinas, que limitam o seu uso nas dietas (Monari, 1996). Contudo, o tratamento térmico da soja pode inativar os inibidores de tripsina e lectinas (Sathe et al. 1984).

O fator Kunitz e o Bowman-Birk são os principais inibidores de tripsina presentes na soja e podem aumentar a secreção de enzimas, levando a um aumento do pâncreas (Liener, 1994). Estudos realizados com pintos (Zhang et al. 1993), galinhas poedeiras (Zhang et al. 1991) e suínos (Cook et al. 1988) demonstraram que a inclusão de uma variedade livre do fator Kunitz apresentou resultados favoráveis no crescimento dos animais quando comparada com a soja crua.

Diversos métodos são utilizados para o processamento do grão de soja, que incluem o calor úmido e o calor seco. Dentre os métodos utilizados estão tostagem por tambor rotativo, por vapor úmido, por vapor seco e por *jet sploder*, micronização, microondas e extrusão úmida ou seca (Jorge Neto, 1992).

No processo de micronização a soja é submetida a uma temperatura de 165°C e posteriormente passa por um processo de limpeza antes da entrada dos grãos em esteira onde ocorre a penetração de raios infravermelhos (λ 1,8 a 3,4 microns) nos grãos (Bellaver & Snizek Jr, 1999; Brito 2003). A soja integral micronizada apresenta uma composição bromatológica interessante, devido ao alto teor de óleo (21,5%), de proteína (39%) e baixo teor de fibra (1,36%) (Rostagno et al. 2011), e por isso apresenta resultados satisfatórios quando utilizada em dietas para suínos (Faber & Zimmerman, 1973; Owen, 1994), aves (Rodrigues, 2002; Zonta et al. 2006) e animais de companhia (Carciofi, 2009).

O índice de atividade de urease (IAU) é a principal análise empregada para verificar a qualidade do processamento térmico e baseia-se no princípio de que o calor desnatura a urease e os inibidores de tripsina na mesma proporção. A indústria americana de soja recomendou índice de atividade de urease entre 0,05 a 0,20, na tentativa de identificar os extremos do processamento (Bellaver & Snizek, 1999). Além de demonstrar o grau de processamento da soja, também são bons indicadores da eliminação dos fatores antinutricionais. Uma alta correlação entre o IAU e inibidores de tripsina foi verificada por Dale (1991), indicando que o IAU é um método indireto para avaliar a inativação de fatores antinutricionais presentes na soja.

Objetivou-se com a realização deste trabalho avaliar o desempenho e a digestibilidade de leitões alimentados com dietas contendo soja integral micronizada com diferentes índices de atividade de urease e de inibidores de tripsina.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Soja

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é a oleaginosa mais produzida no mundo, sendo os Estados Unidos e o Brasil os maiores produtores. É a principal fonte de proteína vegetal utilizada em dietas para animais e na alimentação humana. Em sua constituição, possui proteína de alta qualidade e elevada quantidade de energia (Bellaver & Snizek Junior, 1999).

A soja é a cultura agrícola brasileira que mais cresceu nas últimas três décadas e corresponde a 49% da área plantada em grãos do país. O aumento da produtividade está associado aos avanços tecnológicos, ao manejo e eficiência dos produtores (MAPA, 2014).

O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) projetou para o exercício 2014/15 uma safra próxima dos 104,0 milhões de toneladas. No Brasil, a safra de soja na última temporada (Figura 1), atingiu 86.120,8 mil toneladas, representando um incremento de 5,7% em relação à safra anterior (CONAB – 2015). Além disso, a soja e o farelo de soja brasileiros possuem alto teor de proteína e padrão de qualidade *Premium*, o que permite sua entrada em mercados extremamente exigentes como os da União Européia e do Japão (MAPA, 2014).

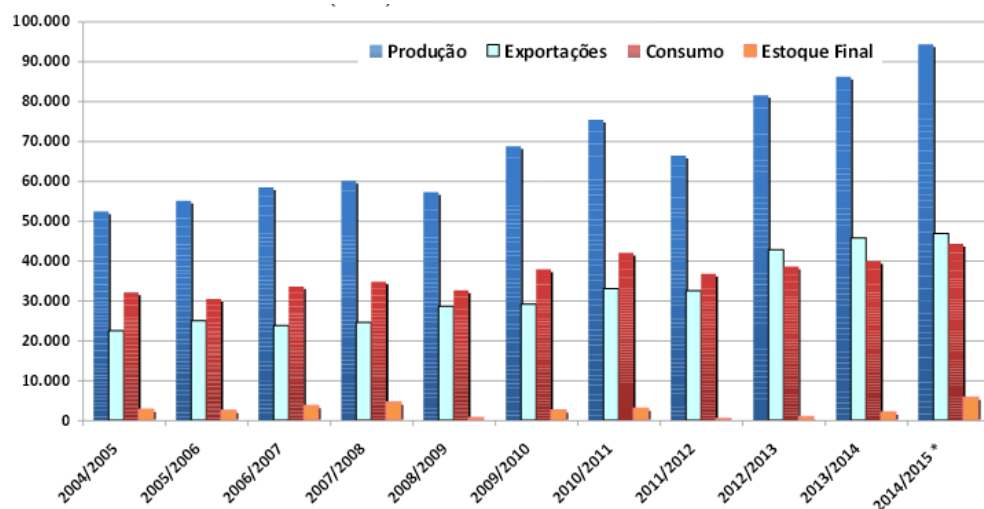


Figura 1. Comparativo de produção, exportação, consumo e estoque final de soja no Brasil nas últimas dez safras (mil t). (CONAB, 2015)

2.2. Fatores antinutricionais presentes na soja

2.2.1. Fatores antinutricionais na soja crua

Apesar de suas características nutricionais, a soja crua apresenta fatores antinutricionais que devem ser considerados. Segundo Liener (1981) os principais fatores termolábeis são os inibidores de proteases, hemaglutininas (lectina) e lipoxigenases. Já, os principais fatores termorresistentes são: oligossacarídeos, polissacarídeos não amiláceos (PNA), lisinoalaninas (formada por ligações de resíduos de lisina com cistina ou serina em meio

alcalino), fatores alergênicos (glicinina e β -conglucina) e fitato.

Os inibidores de proteases são geralmente considerados como os principais fatores antinutricionais presentes na soja e, por isso, receberam estudos mais intensivos (Bellaver & Snizek Junior, 1999).

2.2.2. Inibidores de proteases

Os inibidores de proteases se dividem em dois grupos principais: o fator Kunitz (KTI) e o Bowman-Birk (BBI). O fator Kunitz é constituído de 181 resíduos de aminoácidos com duas pontes dissulfeto possuindo 2% de cisteína na molécula, tem especificidade pela tripsina, seu centro de ligação com a enzima está localizado nos resíduos Arg 63 (arginina) e Ile 64 (isoleucina) (Liener, 1994). O fator Bowman-Birk possui 71 resíduos de aminoácidos e elevado número de resíduos de cisteína, formando de 8 a 9 pontes dissulfeto por molécula de inibidor (Liener, 1994). Conferindo ao inibidor maior resistência ao tratamento térmico. O fator BBI tem capacidade de inibir tanto a enzima tripsina quanto a quimiotripsina (Brito et al. 2006). Kakade et al. (1973) avaliaram 108 variedades de soja e observaram que o grão contém de 35 a 123 mg de inibidores de tripsina/g de proteína.

A descoberta dos inibidores de proteases estimulou diversas pesquisas sobre sua ação em animais experimentais, em consequência da sua interferência na nutrição animal (Rackis, 1974). Devido a presença de inibidores de tripsina na dieta, a hidrólise das proteínas é comprometida e as proteínas da dieta tornam-se nutricionalmente indisponíveis (Liener, 1994).

Ocorre ainda inibição da proteólise intestinal, resultado da formação de complexos de inibidores com a tripsina e a quimiotripsina no íleo, o que provoca o aumento de secreção enzimática (Liener, 1994). A contínua secreção do suco pancreático resulta em maior excreção de nitrogênio nas fezes, provocando assim uma perda endógena importante de aminoácidos sulfurados, nos quais as enzimas são ricas, provocando um maior impacto nutricional, já que há deficiência desses aminoácidos nas leguminosas (Liener, 1994). A redução do peso corporal é consequência do desbalanceamento dos aminoácidos visto que ocorre perda de enzimas digestivas secretadas pelo pâncreas como a quimiotripsina e tripsina, ricas em aminoácidos sulfurados, dentre eles a cistina, considerados essenciais na nutrição de aves (Nunes et al. 2001).

Animais monogástricos alimentados com leguminosas cruas apresentam principalmente alterações metabólicas no pâncreas como hipertrofia (aumento do tamanho das células) e hiperplasia (aumento do número de células) em consequência da presença de inibidores de tripsina. As alterações metabólicas no pâncreas (hipertrofia e hiperplasia) são consequência do mecanismo de inibição retroativa do órgão provocada pela presença dos inibidores de proteases. O mecanismo de inibição retroativa do controle da secreção do pâncreas, para a explicação da hipertrofia pancreática provocada em ratos com administração de altas doses de inibidor de tripsina é aceita em consequência de evidências experimentais (Silva & Silva, 2000).

Os níveis das enzimas tripsina e/ou quimiotripsina livres no intestino delgado determinam a quantidade de secreção pancreática, isto é, quando o nível da enzima diminui a um certo limiar o pâncreas é induzido através da

colecistoquinina a aumentar a secreção da tripsina (Rackis & Gumbmann, 1982). O inibidor da enzima bloqueia a ação da tripsina resultando em aumento excessivo da concentração plasmática de colecistoquinina, e conseqüentemente, o pâncreas é continuamente estimulado a liberar mais enzima, provocando a sua hipertrofia (Liddle et al. 1984). Mirghelenj et al. (2013) sugerem que em frangos o melhor teste biológico para avaliar a eficiência do tratamento térmico da soja é o peso relativo do pâncreas aos 42 dias.

Brito et al. (2006) atribuíram hipertrofia pancreática de frangos de corte à compensação das perdas provocadas pelos fatores antinutricionais como as lectinas. Pacheco et al. (2014), verificaram que o peso relativo do pâncreas em frangos de corte aumentou linearmente com o aumento nível de inibidores de tripsina. Diferentemente de ratos e aves, a ingestão de farinha de soja e feijão crus por suínos não provocou hipertrofia pancreática, contudo, observou-se hipersecreção das enzimas pancreáticas e diminuição do ganho de peso (Hasdai et al. 1989). Há discordâncias entre os pesquisadores sobre a hipertrofia do pâncreas em animais. Alguns autores observaram hipertrofia e outros hiperplasia ou ambos os fenômenos (Bender, 1987). Segundo Liener (1981) apenas espécies nas quais o pâncreas representa mais que 0,3% do peso corporal apresentam hiperplasia pancreática significativa em consequência da presença de inibidores de proteases na dieta.

2.2.3. Lectinas

Em um estudo realizado por Kakade et al. (1973), os autores verificaram que os inibidores de tripsina foram responsáveis por apenas 40% dos inibidores de crescimento presentes em um extrato de soja crua não tratada. Embora os inibidores de proteases sejam geralmente considerados como os principais fatores antinutricionais presentes na soja e, por isso, terem recebido estudos mais intensivos, existem ainda outros inibidores do crescimento observados na soja, como as lipoxigenases, as saponinas (Bellaver & Snizek Junior, 1999) e as lectinas (Liener, 1994).

Lectinas são proteínas distribuídas amplamente no reino vegetal, particularmente em grãos de leguminosas, e são frequentemente denominadas de hemaglutininas, devido a sua capacidade de aglutinação de hemácias em várias espécies animais (Liener, 1994). Outra importante característica da lectina é sua capacidade de ligar-se a carboidratos específicos localizados na superfície das células, principalmente nas células do duodeno e jejuno, causando danos à parede intestinal com diminuição da digestibilidade dos nutrientes (Fasina et al. 2004).

As alterações fisiológicas produzidas pela lectina no intestino decorrem da sua especificidade pelas células da mucosa intestinal em diferentes regiões (Brady et al. 1978; Nakata & Kimura, 1985). Essner et al. (1978) realizaram um estudo com seis tipos de lectinas fluorescentes em ratos e demonstraram que as lectinas reagem com três componentes da mucosa intestinal: muco da cripta luminal, citoplasma e superfície das células absorptivas.

Ryde et al. (1998) demonstraram em ensaios com ratos que as lectinas ingeridas apresentam vários efeitos biológicos que incluem a indução

de alterações nos padrões de proliferação e diferenciação de células intestinais. As lectinas também produzem efeitos sobre a microbiota intestinal, como a alteração do pH do meio (Grant et al. 1987), diminuição da altura das vilosidades, alterações na atividade das enzimas da borda em escova e hipersecreção de proteína endógena, induzindo o aumento do número de células caliciformes produtoras de muco, causando decréscimo na absorção dos nutrientes (Saad, 2005).

Para Liener (1981), o efeito tóxico das lectinas em animais se dá em decorrência da sua habilidade em ligar-se a sítios receptores específicos na superfície das células intestinais, acarretando interferência não específica na absorção de nutrientes, causando prejuízo ao crescimento dos animais.

A detecção e caracterização da lectina podem ser realizadas através da sua habilidade em aglutinar eritrócitos (Lis & Sharon, 1973; Askar, 1986). A soja crua contém aproximadamente 3600 µg de lectina/g, entretanto esta é destruída facilmente por temperaturas mais brandas do que a necessária para destruir os inibidores de proteases (Barca et al. 1991). Mancini Filho et al. (1979) verificaram inativação completa de lectina em uma solução a temperatura de 90°C durante 5 minutos.

2.3. Inativação e determinação de fatores antinutricionais

Desde a descoberta do valor nutricional da soja e a necessidade do tratamento térmico dos grãos (Osborne e Mendel, 1917) a redução de fatores antinutricionais tem desempenhado um papel importante na definição da qualidade dos produtos processados de soja, principalmente a farinha de soja. Desde então, várias pesquisas foram realizadas para determinar os fatores antinutricionais presentes na soja, entre eles, os inibidores de proteases ou antitripsina (Kunitz, 1947; Birk, 1963; Silva & Silva, 2000) e hemaglutininas ou lectinas (Jaffé, 1980).

Inúmeros processamentos foram desenvolvidos visando a inativação de fatores antinutricionais presentes na soja, dentre eles, a extrusão e a tostagem a seco (Waldroup, 1982) tostagem por tambor rotativo, por vapor úmido, por vapor seco e por *jet sploder*, micronização, microondas e extrusão úmida ou seca (Jorge Neto, 1992).

A intensidade do calor aplicado durante o tratamento térmico deve ser controlada, pois o subaquecimento ou superaquecimento podem reduzir o aproveitamento dos nutrientes pelos animais (Heidenreich, 1994). O excesso de calor causa a perda de vários nutrientes, principalmente aminoácidos, diminuindo assim o valor nutritivo da soja, além de diminuir a solubilidade das proteínas (Monteiro, 2000), sendo esse fato importante por que a lisina é o principal aminoácido limitante em dietas para suínos (Yen et al. 1986) e parte desse aminoácido é ligado irreversivelmente com uma carbonila durante o tratamento térmico, devido à reação de Maillard (Chang, 1987).

O processamento inadequado da soja resulta na presença de fatores antinutricionais no farelo. Diversos autores relataram níveis residuais de atividade de inibidores de proteínas evidenciando subprocessamento da soja e do farelo (Soto-Salanova et al. 1996; Rodrigues et al. 2002; Brito et al. 2006). Para avaliar se o processamento térmico do farelo de soja foi eficiente, vários métodos podem ser empregados, dentre eles o índice de atividade de urease

(IAU), a atividade inibidora de tripsina, a solubilidade da proteína em KOH (0,2%), a lisina disponível e o índice de proteína dispersível (PDI – Protein Dispersibility Index) (Butolo, 2002). Na prática o IAU tem sido relevante devido à facilidade de execução e ao baixo custo laboratorial.

O método recomendado para medir um sub ou super processamento da soja é a solubilidade protéica. O método é generalizado dentro da indústria de rações como forma de avaliar a qualidade do farelo de soja e envolve a determinação da solubilidade em KOH 0,20% (Bellaver & Snizek Jr, 1999). Uma solubilidade protéica próxima a 100% indica a soja crua sem processamento e valores de 73-85% são indicativos de farelo de soja adequadamente processado (Dale et al. 1987).

O método para determinar o índice de atividade de urease foi desenvolvido por Caskey & Knapp (1944) com a finalidade de avaliar a qualidade do processamento térmico aplicado a soja. É um método bastante simples e consistente e foi desenvolvido, padronizado e publicado pelas principais associações químicas profissionais (AACC, 1995; AOAC, 1997; AOCS, 2011).

De acordo com Ward (1996) a análise do índice de atividade de urease baseia-se na liberação de amônia da uréia pela ação da enzima urease presente na soja. Em consequência disso, há uma mudança no pH da solução o qual é expresso como um índice, onde a solução branco padrão não contém uréia. Uma soja sub-processada, resultará em uma grande mudança no pH enquanto uma super-processada, não registrará mudanças no pH. Segundo Butolo (2002), a análise de IAU avalia se houve inativação dos fatores antinutricionais presentes na soja, não tendo valor para determinar se o processamento prejudicou ou não a qualidade da proteína.

A indústria americana de soja recomendou valores do IAU entre 0,05 a 0,20, na tentativa de identificar os extremos do processamento (Bellaver & Snizek, 1999). A Comunidade Econômica Européia aceita valores de até 0,5 de IAU (Waldroup et al. 1982). De acordo com os critérios da Legislação Federal Brasileira (BRASIL, 1988) os valores do índice de atividade de urease aceitáveis no farelo de soja processado para uso na alimentação animal, devem estar dentro da faixa de variação de pH de 0,05 a 0,30. No entanto, não existe consenso quanto a índices ideais, além de que esses padrões não se aplicam a todo tipo de soja processada (Friesen et al. 1993).

A efetividade do tratamento térmico do farelo e do grão de soja é frequentemente estimada pelo IAU, uma vez que a urease e os inibidores de tripsina são desnaturados a temperaturas similares (Herkelman et al.1992). Uma alta correlação entre o IAU e inibidores de tripsina foi verificada por Dale (1991), indicando que o IAU é um método indireto para avaliar a inativação de fatores antinutricionais presentes na soja. A aplicação da técnica se baseia no fato de que o tratamento térmico, quando adequadamente realizado, indica que os inibidores de tripsina também foram desativados (Borges et al. 2003).

O método para mensurar a atividade de inibidores de tripsina (TIA) em derivados de soja é essencialmente colorimétrico baseado na metodologia proposta por Kunitz (1947), procedimento original, em que a caseína foi utilizada como um substrato para a tripsina. Erlanger et al. (1961) introduziu um substrato sintético, Benzoyl-DL-arginina-p-nitroaldeido hidrocloreto (BAPA), no

ensaio da tripsina. Kakade et al (1969) recomendou BAPA como um substrato para TIA depois de avaliar caseína e BAPA. A quantificação dos inibidores de tripsina é acompanhada pela medida da atividade residual da enzima após a adição de um extrato de soja que contém inibidor e uma fonte purificada da enzima. O grau de inibição da enzima é calculado e expresso como atividade inibitória de tripsina (Kakade et al. 1974).

Para que um farelo de soja seja adequado para o consumo de leitões, sem causar prejuízos ao desempenho dos animais, deve possuir valores de solubilidade protéica de 73-85% (Dale et al. 1987), índice de atividade de urease com Δ pH de 0,05 a 0,30 (BRASIL, 1988) e níveis máximos de atividade de inibidores de tripsina de 4,0 mgTIA/g (Clarke & Wiseman, 2007).

2.4. Soja integral micronizada

Dentre os tipos de processamento para a redução dos fatores antinutricionais da soja há o processo de micronização (Figura 2). Neste método o grão de soja passa por um processo de limpeza e classificação e é então submetido durante cinco minutos a uma temperatura gerada por raios infravermelhos (λ 1,8 a 3,4 μ m). Os raios infravermelhos penetram no grão movimentando as moléculas que vibram de 60 a 150 mil megaciclos por segundo, aquecendo-o e vaporizando a água. Durante esta etapa há o inchaço e a formação de fissuras internas no grão, que passa a um cilindro que lamina o produto, após a passagem por um tanque com agitador onde ocorre o resfriamento do produto (Figura 1). O produto laminado deve ainda ser moído para posterior uso em dietas (Bellaver & Snizek Jr, 1999).



Figura 2. Fluxograma do processo industrial de produção da soja integral micronizada

A micronização caracteriza-se pela redução em nível de partículas quase no estado coloidal, elevando a solubilidade da farinha e facilitando a assimilação de seus ingredientes nutricionais, através de uma granulometria da

faixa de 30 μm , ou seja, 0,03 mm. Dependendo da eficiência do tratamento térmico, podem-se produzir três tipos de farinhas, distintas pela atividade enzimática (ativa ou inativa). O controle da atividade enzimática é realizado através da atividade da enzima urease (Biasi, 2006).

A avaliação adequada do processamento da soja integral e do farelo de soja é de fundamental importância, pois, dentro dos padrões de qualidade, o processamento auxilia a redução dos fatores antinutricionais e a disponibilização de nutrientes preservando a qualidade da proteína da soja (Café et al. 2000).

2.5. Soja integral micronizada na alimentação de não ruminantes

A soja integral micronizada apresenta-se como uma alternativa interessante na dieta de animais não ruminantes. De interesse especial é a sua utilização na alimentação de leitões, face a sua granulometria reduzida (30 μm) (Penz & Brugalli, 2001) e suas características nutricionais (Branco, 2003). Embora os leitões desmamados possuam capacidade de utilizar carboidratos e proteínas do leite de forma mais eficiente do que nutrientes vegetais, a soja integral micronizada, desde que adequadamente processada, está sendo utilizada como uma alternativa aos produtos lácteos (Turlington et al. 1990).

Possui em sua composição valores de matéria seca, proteína bruta, gordura bruta, matéria mineral, fibra bruta e energia metabolizável para suínos da soja integral micronizada de: 92,62%, 39,14%, 21,50%, 4,47%, 1,36% e 4330 kcal/kg EM, respectivamente (Rostagno et al. 2011).

Em um experimento com leitões Faber e Zimmerman (1973) observaram melhora na conversão alimentar e no ganho de peso dos animais quando utilizaram soja integral micronizada em substituição ao farelo de soja. Berrocoso (2013) observou melhora na conversão alimentar e no consumo de ração na primeira semana pós desmame de leitões e atribuiu este fato a menor granulometria do ingrediente (60 μm) quando comparada a granulometria do farelo de soja (990 μm). Moreira et al. (1993) concluíram que a soja integral micronizada foi tão viável quanto o farelo de soja em dietas para os leitões desmamados aos 21 dias. Entretanto, Trindade Neto et al. (2002) verificaram que leitões alimentados com farelo de soja apresentaram maior ganho de peso e consumo de ração, em relação aos que foram alimentados com dieta contendo soja integral micronizada e atribuiu essas prováveis diferenças as formas físicas da dieta e aos níveis de inclusão de produtos lácteos.

Em um experimento avaliando a digestibilidade em suínos em crescimento, Mendes et al. (2004) verificaram que os coeficientes de digestibilidade de matéria seca, proteína bruta, gordura bruta e energia bruta foram maiores em animais alimentados com soja integral micronizada, quando comparado a animais que receberam dietas contendo farelo de soja. Os autores atribuíram a maior digestibilidade da soja integral micronizada ao baixo teor de fibra bruta do ingrediente (2,4%) e provavelmente à eficiência do processo de micronização, tornando os nutrientes mais acessíveis à digestão enzimática. Entretanto, Marty et al. (1993) verificaram que a digestibilidade ileal aparente da proteína bruta foi maior em suínos alimentados com farelo de soja do que aqueles alimentados com diferentes tipos de soja integral tratadas

termicamente.

A soja integral micronizada também apresenta resultados satisfatórios em dietas para aves. Zonta et al. (2006) realizaram um experimento com pintos na fase de crescimento e verificaram maior energia metabolizável da soja integral micronizada (4296 kcal/kg) quando comparada a soja extrusada e tostada (3674 e 3609 kcal/kg respectivamente). Os autores atribuíram esse resultado à remoção da casca da soja durante o processo de micronização e ao valor da energia bruta da soja integral micronizada (5411 kcal/kg). Em um experimento com galos adultos, Rodrigues et al. (2002) verificaram que a energia metabolizável verdadeira em soja integral micronizada foi 24% superior em relação a soja processada em *jet-sploder*. Longo et al. (2003) realizaram um estudo para avaliar a EMn do farelo de soja e da soja integral micronizada para frangos na fase pré-inicial e verificaram que EMn da soja integral micronizada foi cerca de 49% superior à do farelo.

E em animais de companhia Félix et al. (2010) concluiu que a soja micronizada apresenta bom perfil nutricional para utilização em alimentos para cães como fonte protéica e energética, ponderando as necessidades nutricionais de proteínas e lipídeos reportadas pelo NRC (2006) para esses animais. Para Carciofi et al. (2009) a micronização pode apresentar oportunidade para aumentar a porcentagem de proteína de soja em dietas de animais de companhia, com digestibilidade e demais características fecais comparáveis aos animais que consomem dietas à base de co-produtos de proteína animal.

2. HIPÓTESES E OBJETIVOS

As hipóteses sustentadas no presente estudo são: (1) Existe correlação positiva entre índice de atividade de urease e a atividade de inibidores de tripsina em soja integral micronizada; (2) A digestibilidade da dieta de suínos é correlacionada negativamente com os maiores índices de atividade de urease e de atividade de inibidores de tripsina.

Os objetivos deste trabalho foram:

1. Aplicar a metodologia de quantificação de índice de atividade de urease e atividade de inibidores de tripsina para soja integral micronizada
2. Avaliar a inclusão de soja integral micronizada com diferentes índices de atividade de urease e de inibidores de tripsina na dieta leitões desmamados sobre as respostas de desempenho e digestibilidade de nutrientes.
3. Correlacionar os diferentes índices de atividade de urease e de atividade de inibidores de tripsina presentes na soja integral micronizada com o desempenho e digestibilidade de suínos.

CAPÍTULO II¹

⁽¹⁾Artigo escrito conforme as normas da Revista Animal Feed Science and Technology

Inibidores de proteases em dietas contendo soja integral micronizada para leitões desmamados

Paula Gabriela da Silva Pires*, Maitê de Moraes Vieira, Jennifer Veiga Mendes, Rafael Dal Forno Gianluppi, Aline Fernanda Rodrigues Leuven, Alexandre de Mello Kessler

Soybean is a leguminous of high biological value. However, it has high content of antinutritional factors, especially the inhibitors of proteases, responsible for the reduction fits nutritional value. As a consequence, different processes were developed for the purpose to inactivate these factors, as the micronization. This study was conducted to evaluate the effect of micronized whole soybean with different level of trypsin inhibitor activity (TIA) in performance and digestibility of weaned piglets. A total 30 weaned piglets, averaging initial body weight of $7,1 \pm 0.55$ kg were allotted to five treatments as a completely randomized design during 28 days. Soybean meal (SBM) and micronized whole soybean (MSB) were tested as major protein source in the diets. The MSB were obtained by different temperature and time processing: MSBa - 181°C, 5 - 6 minutes; MSBb - 178 °C, 3 - 4 minutes; MSBc - 175°C, 3 -4 minutes and MSBd -110°C, 4- 6 minutes. The five treatments consisted with SBM or MSB and TIA diet level: SBM with 0.5 mgTIA/g; MSBa and 1.0 mgTIA/g; MSBb and 1.9 mgTIA/g; MSBc and 2.25 mgTIA/g; MSBd and 5.5 mgTIA/g. All animals fed diets containing micronized whole soybean and levels of TIA until 2.25 mgTIA/g presented similar results of piglets fed soybean meal. The lower daily weight gain and the worst coefficient of total tract apparent digestibility of crude protein were in diet with MSBd and 5.5 mgTIA/g It can be attributed to the activity of trypsin inhibitors. The diet with MSBb and 1.9 mgTIA/g was higher digestible and metabolizable of energy in dry matter than MSBc and 2.25 mgTIA/g or MSBd and 5.5 mgTIA/g, with similar results to the diet SBM with 0.5 mgTIA/g and diet MSBa with 1.0 mgTIA/g. The TIA level present in the diet was negatively correlated with performance parameters in the initial phase (13 a 28 days). There was correlation between TIA on diet and TIA excreted in the animal faeces. The TIA level diet was high and negatively correlated to animal weight gain ($r = 0.79$; $P < 0.001$). It was significant linear regressions the increase of TIA unit in the diet led to loss of 39g in average daily gain of piglets. This study showed that diets containing micronized whole soybean with TIA level until 2.25 mgTIA/g could replaced soybean meal diets for weaned piglets without difference on animal performance and diet digestibility diets become an alternative diet to pigs.

Keywords: Animal diets, soybean proteins, trypsin inhibitor

Abbreviations: AACC, American Association of Cereal Chemists; AOCS, [American Oil Chemists' Society](#), AOAC, Association of Official Analytical Chemistry; BW, body weight; CP, crude protein; DM, dry matter; GE, gross energy; ME, metabolizable energy; SWM, micronized whole soybean; SAS, Statistical Analysis System; SBM, soybean meal; SEM, standard error means; SNK, Student Newman Keuls; TIA: trypsin inhibitor activity

Corresponding author. Tel.: +55 51 82187035;

E-mail address: paulagabrielapires@yahoo.com.br (P.G. S. Pires).

1. Introdução

Desde a descoberta do valor nutricional da soja e a necessidade do tratamento térmico dos grãos (Osborne e Mendel, 1917) a redução de fatores antinutricionais tem desempenhado um papel importante na definição da qualidade dos produtos processados, principalmente a farinha de soja. Várias pesquisas foram realizadas para determinar os fatores antinutricionais presentes na soja, entre eles, os inibidores de proteases ou antitripsina (Kunitz, 1947; Birk, 1963; Kakade et al. 1973) e hemaglutininas (Jaffé, 1980).

Os principais fatores antinutricionais presentes na soja crua são os inibidores de proteases, os quais são deletérios a digestão proteica, mas podem ser inativados com um adequado processamento térmico do grão (Liener, 1994). Inúmeros processamentos foram desenvolvidos visando a inativação desses, dentre eles a micronização. Este método caracteriza-se pela redução do grão em nível de partículas quase no estado coloidal, elevando a solubilidade da farinha e facilitando a assimilação de seus ingredientes nutricionais, através de uma granulometria da faixa de 0.03 mm.

A soja integral micronizada apresenta em sua composição alto teor de óleo (0,251 g/kg) de proteína (0.391 g/kg) e energia metabolizável de 18.13 MJ/kg (Rostagno et al. 2011), sua utilização é de interesse especial na alimentação de leitões face a sua qualidade nutricional, além da sua reduzida granulometria (30 μ m) (Penz & Brugalli, 2001). Embora os leitões desmamados possuam capacidade de utilizar carboidratos e proteínas do leite de forma mais eficiente do que nutrientes vegetais, a soja integral micronizada, desde que adequadamente processada, está sendo utilizada como uma alternativa aos produtos lácteos (Turlington et al. 1990).

Dentre os testes mais comuns empregados para avaliar a qualidade do processamento da soja cita-se o índice de atividade de urease (Monari, 1996). A

determinação do índice de atividade de urease é um método bastante simples, indireto e consistente. Foi desenvolvido, padronizado e publicado pelas principais associações químicas profissionais (AACC, 1995; AOAC, 1997; AOCS, 2011). Uma alta correlação entre o índice de atividade de urease e inibidores de tripsina foi verificada por Dale (1991), indicando que a atividade de urease é um método indireto para avaliar a inativação de fatores antinutricionais presentes na soja. De acordo com os critérios da Legislação Federal Brasileira (BRASIL, 1988) os valores do índice de atividade de urease aceitáveis no farelo de soja processado para uso na alimentação animal, devem estar dentro da faixa de variação de pH de 0.05 a 0.30 enquanto que a recomendação de níveis máximos de inibidores de tripsina na dieta para suínos é de 2.0 mgTIA/g (Webster, et al. 2003)

O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho, digestibilidade e metabolizabilidade e a presença de inibidores de tripsina nas fezes de leitões desmamados alimentados com dietas contendo soja integral micronizada e correlacionar esses resultados com o teor de inibidores de tripsina nas dietas.

2. Material e Métodos

A Comissão de ética no uso de animais da Universidade Federal do Rio Grandedo Sul (CEUA-UFRGS) aprovou todos os procedimentos experimentais sob o protocolo nº 25977.

2.1. Animais

Foram utilizados 30 leitões machos de linhagem comercial, com 26 dias de idade e peso médio de 7.1 ± 0.55 kg. Os animais foram mantidos no Laboratório de Ensino Zootécnico da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Porto Alegre, Brasil). Para avaliar o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes os animais foram individualmente alojados em gaiolas metabólicas com as seguintes dimensões $19,5\text{cm} \times 32\text{cm} \times 20\text{cm}$. A água estava disponível *ad libitum* durante toda a duração do experimento e o fornecimento das dietas diário, em dois horários, às 8h30 e às 16h30.

2.2. Dietas

As dietas foram formuladas para serem isonutricionais (Rostagno et al. 2011) e atender as necessidades de manutenção nas fases pré-inicial (1 a 12 dias pós-desmame) e inicial (13 a 28 dias pós-desmame). As dietas foram preparadas na fábrica de rações do Laboratório de Ensino Zootécnico da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Foram testadas dietas contendo farelo de soja ou soja integral micronizada (Tabela 1 e 2), todas as dietas apresentavam os mesmos teores de proteína e energia, sendo a energia bruta da dieta contendo farelo de soja suprida através da inclusão de óleo vegetal (Tabela 1).

O processo de micronização de soja incluiu seleção de grãos e limpeza, seguida por tratamento térmico, a remoção das cascas, refrigeração, moagem (até 0,03mm) e micronização. Os grãos de soja foram expostos à radiação infravermelha e ao vapor direto com variação da intensidade de temperatura (176 a 186°C – 5 a 6 minutos: SIMa; 175 a 178°C – 3 a 4 minutos: SIMb e SIMc ou 110°C – 4 a 6 minutos: SIMd) e pressão de 13 kgf/cm^2 , seguido por retirada da casca, floculação e moagem ultrafina por moinho de rolos, constituindo diferentes tipos de soja integral micronizada, distintas pela

atividade enzimática e umidade final, que foram utilizadas para compor as dietas experimentais (Tabela 1). Os cinco tratamentos foram compostos com 4 diferentes fontes de soja integral micronizada além do tratamento com farelo de soja com diferentes índices de atividade de inibidores de tripsina e urease (Tabela 3) .

2.3. Desempenho

Na avaliação de desempenho, foi avaliado o consumo de ração (CR), o ganho de peso (GP) e a conversão alimentar (CA) por fase (pré-inicial e inicial). O consumo diário de ração foi determinado de acordo com o total de ração fornecido menos as sobras diárias presentes nos comedouros. O ganho de peso diário foi medido através de pesagens no início e no final de cada período estudado (1º dia, 12º dia e 28º dia de experimento). A conversão alimentar foi estimada através variáveis anteriores: consumo de ração no período/ganho de peso no período.

2.4. Ensaio de digestibilidade

A digestibilidade foi determinada de acordo com Sakomura e Rostagno (2007) sendo avaliados seis leitões por dieta. A fase de adaptação teve duração de sete dias e o período de coleta total de fezes e a coleta de urina foi de seis dias. O início e o término das coletas de fezes foram definidos pelo aparecimento de fezes marcadas pelo óxido de Fe_2O_3 (0.3%) fornecido durante as refeições. As amostras foram armazenadas em freezer a -4°C e ao final da coleta as fezes foram descongeladas, homogeneizadas, e reunidas por animal. As fezes foram secas em estufa de ar forçado, a 60°C , durante 72 h e moídas em moinho de facas com uma peneira de 1 mm. A urina foi coletada duas vezes por dia em recipientes contendo 20 ml de H_2SO_4 com concentração de 1M. Uma

alíquota de 10% do total produzido de urina em cada coleta foi armazenada sob congelamento à -4°C. A liofilização da urina foi realizada em amostras pré-congeladas a -86°C e liofilizadas à -55°C utilizando bomba de alto vácuo até peso constante.

As análises de matéria seca - MS (método 930.15), cinzas - CZ (método 942.05), e gordura bruta - GB (método 920.39) nos ingredientes, nas dietas e fezes e o nitrogênio - N (método 984.13) nas dietas, fezes e urinas foram realizadas de acordo com a AOAC (1997). A análise de energia bruta nos ingredientes, dietas, fezes e urina foi realizada através de bomba calorimétrica isoperibólica, modelo C2000, marca IKA Werke GmbH & Co. KG, fabricado em Staufen - Alemanha. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

Os coeficientes de digestibilidade aparente de matéria seca (CDAMS), proteína bruta (CDAPB) e energia bruta (CDAEB) e metabolizabilidade aparente de proteína bruta (CMAPB) e energia bruta (CMAEB), energia digestível (ED) e a energia metabolizável (EM) foram calculadas de acordo com Sakomura & Rostagno (2007) e expressas na matéria seca.

A digestibilidade dos nutrientes foi calculada através da fórmula:

$$(\text{nutriente consumido} - \text{nutriente excretado} / \text{nutriente consumido}) \times 100$$

E a metabolizabilidade através da fórmula:

$$(\text{consumo} \times \text{nutriente da dieta}) - (\text{nutriente nas fezes} \times \text{fezes na matéria seca}) - (\text{nutriente na urina} \times \text{urina na matéria seca}) / (\text{consumo} \times \text{nutriente da dieta}) \times 100$$

2.5 Análise do índice de atividade de urease

A determinação do índice de atividade de urease (IAU) dos ingredientes e das dietas foi realizada através de potenciometria, baseado na variação do potencial de hidrogênio (pH) que ocorre em função da liberação de amônia pela ação enzimática da

urease, conforme o método 22-90.01 descrito pela AACC (1969).

2.6 Análise de atividade de inibidores de tripsina

A determinação da atividade de inibidores de tripsina (trypsin inhibitor activity - TIA) dos ingredientes, das rações e das fezes foi realizada conforme a metodologia descrita pela ISO 14902 (2001). A atividade dos inibidores de tripsina resulta tanto do inibidor do tipo Kunitz como do Bowman-Birk, determinada contra a tripsina bovina (Genovese and Lajolo, 1998). O método baseia-se na reação da tripsina com um substrato sintético N- α -benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida. Como resultado dessa reação é formado amarelo p-nitroanilina, e a sua absorbância máxima a 410 nm, é proporcional a sua concentração (Szmigielski et al. 2010). Os valores foram expressos em miligrama de inibição de tripsina / grama de extrato de amostra, conforme Genovese e Lajolo (1998).

2.7 Análise estatística

O delineamento experimental foi completamente casualizado com cinco tratamentos, e 6 repetições, sendo cada leitão a unidade experimental. As variáveis de desempenho e digestibilidade foram submetidas à análise de variância pelo procedimento GLM. As médias foram comparadas pelo teste SNK a 5% de probabilidade. A análise de correlação de Pearson foi realizada através do procedimento CORR entre a atividade de inibidores de tripsina na dieta e as respostas de desempenho e metabolismo. A análise de regressão foi realizada através do procedimento REG utilizando a atividade de inibidores de tripsina na dieta como variável regressora. Todas as análises foram realizadas no programa estatístico SAS 9.3 (2011).

3. Resultados

3.1. Desempenho dos animais

No período pré-inicial os animais alimentados com as dietas contendo SIMa e SIMb apresentaram resultados semelhantes aos alimentados com dietas a base de farelo de soja (Tabela 4). Os leitões que receberam a dieta contendo SIMc apresentaram ganho de peso inferior aos alimentados com as dietas contendo soja integral micronizada (SIMa e SIMc).

No período inicial os animais alimentados com as dietas contendo soja integral micronizada SIMa, SIMb e SIMc apresentaram resultados de desempenho semelhante ao farelo de soja. Os que receberam dieta contendo SIMd apresentaram os piores resultados de desempenho ($P < 0.001$) em ambas as fases quando comparado às outras dietas.

3.2. Digestibilidade

Na Tabela 4 pode-se verificar que não houve diferença na digestibilidade da matéria seca (CDAMS), na metabolizabilidade da proteína bruta (CMAEB) e na energia metabolizável (EM). A soja integral micronizada SIMd apresentou a pior digestibilidade da proteína (CDAPB) em relação ao farelo de soja e às outras dietas contendo soja integral micronizada ($P < 0.003$). Em relação a ED ($P < 0.015$) a dieta SIMb foi superior a dieta SIMc e a dieta SIMd, apresentando resultados semelhantes a dieta FS e SIMa.

Pode-se verificar diferença significativa na atividade de inibidores de tripsina presente nas fezes sendo maior nas dietas SIMc e SIMd ($P < 0.0001$).

De acordo com os resultados da Tabela 5 houve alta correlação significativa e positiva entre a mgTIA/g na dieta inicial e o IAU do ingrediente e da dieta e mgTIA/g

no ingrediente e nas fezes. A mgTIA/g da dieta apresentou alta correlação negativa significativa com o consumo de ração e ganho de peso e alta correlação positiva com a conversão alimentar na fase inicial. Houve ainda, uma baixa correlação negativa e significativa entre mgTIA/g da dieta e a digestibilidade e metabolizabilidade da proteína e da energia (CDAPB, ED, CMAPB, EM) respectivamente.

Na Tabela 6 pode-se verificar efeito linear decrescente significativo, à medida que houve aumento do nível de TIA na dieta houve piora no desempenho, na digestibilidade e na metabolizabilidade de proteína e energia. Pode-se observar alto coeficiente de determinação ($R^2 = 0,79$) na análise de regressão entre os valores de atividade de inibidores de tripsina na dieta (mgTIA/g) e o ganho de peso dos leitões verificou-se uma regressão linear conforme a equação: $Y = 0,475 - 0,039x$ ($P < 0,001$), demonstrando que conforme há o aumento de uma unidade de atividade de inibidores de tripsina na dieta há perda de 39 gramas no ganho de peso diário do leitão.

Houve ainda, efeito linear decrescente significativo para as respostas de digestibilidade e metabolizabilidade da proteína bruta, energia digestível e energia metabolizável com menores valores de R^2 .

4. Discussão

Os resultados demonstram que os leitões desmamados foram suscetíveis a variação dos níveis de inibidores de tripsina presente na dieta, o que pode ser verificado pela alta correlação entre as variáveis de desempenho e os valores de TIA na dieta.

4.1 Desempenho dos animais

Os animais alimentados com dietas contendo soja integral micronizada e níveis

de inibidores de tripsina de até 2.25 mgTIA/g apresentaram resultados similares aos leitões alimentados com farelo de soja. Berrocosso et al. (2013) verificaram que a granulometria mais fina (60µm) da soja integral micronizada proporcionou melhora na conversão alimentar e no consumo de ração de leitões desmamados aos 28 dias. Outros autores já haviam demonstrado melhora no desempenho de leitões alimentados com dietas contendo soja integral micronizada em substituição ao farelo de soja (Faber & Zimmerman, 1973), à soja tostada (Turlington, 1990) e a produtos lácteos (Owen, 1994).

O menor ganho de peso dos animais alimentados com a dieta SIMd pode ser atribuído ao IAU de 0.33 e atividade de inibidores de tripsina presente na dieta (5.5 mgTIA/g), quando comparada as dietas SIMa (0.00 IAU – 1.00 mgTIA/g) e SIMb (0,10 IAU – 1.9 mgTIA/g). De acordo com os critérios da Legislação Federal Brasileira (portaria nº7, de 09 de novembro de 1988) o índice de atividade de urease presente na SIMd não encontra-se dentro dos valores aceitáveis para utilização na alimentação animal (0.05 – 0.30). Webster et al. (2003) relataram que o desempenho de suínos não foi comprometido quando as dietas apresentaram níveis máximos de inibidores de tripsina de 2.0 mgTIA/g. Posteriormente, Clarke & Wiseman (2007) recomendaram valores de até 4.0 mgTIA/g no ingrediente.

Os inibidores de tripsina atuam sobre enzimas proteolíticas, provocando assim uma perda endógena importante de aminoácidos sulfurados, nos quais as enzimas são ricas, provocando um maior impacto nutricional, já que há deficiência desses aminoácidos nas leguminosas (Liener, 1994). Em consequência disso haverá grandes prejuízos para o animal (Whitaker, 1994).

Esse prejuízo pode ser verificado em um estudo realizado por Palacios et al. (2004), em que os autores observaram melhora no desempenho de pintos e leitões

quando forneceram dietas livres de fatores antinutricionais presentes na soja, como o Fator Kunitz e lectinas, quando comparado com dietas que tiveram remoção de cada fator antinutricional separadamente. Cook et al. (1988) realizaram três experimentos para avaliar o desempenho, a digestibilidade e a retenção do nitrogênio e verificaram que a dieta contendo baixos níveis de inibidor de tripsina (Fator Kunitz) foi utilizada de forma mais eficiente do que dietas contendo altos índices para suínos nas fases de crescimento e terminação.

4.2 Digestibilidade

Os animais alimentados com as dietas contendo soja integral micronizada SIMa, SIMb e SIMc apresentaram CDAPB semelhantes aos animais alimentados com farelo de soja. Carciofi et al. (2009) testaram diferentes fontes protéicas na dieta de animais de companhia e verificaram que a soja integral micronizada apresentou valores de digestibilidade comparáveis em animais que consomem dietas à base de co-produtos de proteína animal.

A dieta SIMd apresentou os piores resultados de CDAPB devido ao alto índice de inibidores de tripsina (5.5 mgTIA/g). A maior secreção das enzimas pancreáticas provocada pela presença de inibidores de tripsina associada à baixa concentração de cistina e metionina na soja induzem à perda endógena de aminoácidos (Clarke & Wiseman, 2007). Isso ocorre devido ao fato dos inibidores formarem um complexo extremamente estável com as enzimas, aumentando o teor de nitrogênio fecal (Liener, 1994). Assim, perde-se grande quantidade de aminoácidos sulfurados, importantes do ponto de vista nutricional (Holm et al. 1992).

Herkelman et al. (1992) observaram que a digestibilidade de aminoácidos

essenciais e do nitrogênio foi superior na soja crua com baixo nível de inibidores de tripsina do que para soja crua com alto nível de inibidores de tripsina, enquanto o tratamento térmico promoveu um aumento na digestibilidade de aminoácidos essenciais e do nitrogênio para as duas variedades de soja estudadas.

Com relação à ED a dieta SIMb foi superior à dieta SIMc e à dieta SIMd, apresentando resultados semelhantes à dieta FS e SIMa. Diferentemente desse trabalho, Cook et al. (1988) observaram que a energia digestível e metabolizável do farelo de soja foi superior quando comparada a cultivares de soja contendo baixo ou alto teor de inibidores de tripsina.

A alta correlação entre a TIA na dieta e IAU da soja integral micronizada era esperada, pois a efetividade do tratamento térmico do farelo e do grão de soja é frequentemente estimada pela atividade de urease, pois a urease e os inibidores de tripsina são desnaturados por temperaturas similares (Herkelman, et al. 1992).

A TIA na dieta foi significativamente correlacionada com os parâmetros de desempenho na fase inicial (13 a 28 d). A TIA foi negativamente correlacionada com o ganho de peso e o consumo de ração e positivamente correlacionada com a taxa de conversão alimentar. Ruiz et al. (2004) também observaram alta correlação entre a TIA e a IAU e as variáveis de desempenho de frangos. Estes valores de correlação sugerem que estes parâmetros são indicadores precisos da qualidade da soja integral micronizada. Verificou-se ainda, valores de correlação mais baixos entre a TIA na dieta e alguns parâmetros de digestibilidade avaliados (CDAPB, CMAPB, ED, EM).

No presente estudo também foi possível verificar a correlação entre a TIA presente na dieta e o teor de TIA excretada nas fezes dos animais. Isso ocorre pelo fato dos inibidores formarem um complexo extremamente estável com as enzimas, sendo então excretado nas fezes, o que aumenta a excreção de nitrogênio fecal (Burns, 1987).

Este complexo resultante se ajusta tão firmemente que a água é excluída do sitio ativo da enzima impedindo a hidrólise e liberação do inibidor (Rackis et al. 1986). Não foram encontrados resultados na literatura sobre a presença e quantificação de inibidores de tripsina nas fezes de suínos. Sendo assim, supõe-se que os inibidores de tripsina não foram metabolizados pelos microorganismos presentes no intestino grosso e possivelmente foram excretados complexados com a enzima tripsina e assim detectados pela análise de inibidores de tripsina.

O efeito linear dos níveis de inibidores de tripsina sobre o ganho de peso consumo de ração, conversão alimentar ($P < 0.05$), CDAPB, energia digestível, CMAPB e energia metabolizável indicou que altos índices de inibidores de tripsina presentes na dieta prejudica o desempenho dos leitões, a digestibilidade e a metabolizabilidade. A diminuição do desempenho e piora na digestibilidade, concordando com Cook et al. (1988), estaria relacionada com a diminuição do aproveitamento da proteína da dieta e a perda de aminoácidos sulfurados que são utilizados para a síntese da enzima tripsina (Liener, 1994).

Através da correlação entre o índice de atividade de inibidores de tripsina nos ingredientes utilizados nas dietas ($r = 0,94$), pode-se concluir que conforme há o aumento dos níveis de atividade de inibidores de tripsina nos ingredientes há também aumento desses fatores na dieta confirmando a necessidade de um tratamento térmico eficiente. Assim, uma vez que os animais alimentados com dietas contendo soja integral micronizada com níveis de 2.25 mgTIA/g e com base nas respostas de desempenho (ganho de peso diário e conversão alimentar) e respeitando a interpretação biológica e o coeficiente de determinação obtido pelo modelo de regressão linear, esse ingrediente apresenta-se como uma alternativa interessante para dietas de leitões até 28 dias após o

desmame.

O nível de mgTIA/g utilizado neste estudo nas dietas contendo soja integral micronizada sem causar prejuízo ao desempenho e a digestibilidade (2.25 mgTIA/g) foi superior às recomendações feitas por Webster et al. (2003) que foi de 2.0 mgTIA/g.

O presente estudo confirma que os inibidores de tripsina quando em níveis superiores aos recomendados afetam o desempenho dos animais e a digestibilidade da proteína. Tecnologias de processamento de soja, como micronização apresentam-se como uma alternativa na dieta de leitões desmamados, com características de desempenho e digestibilidade comparáveis ao farelo de soja.

5. Conclusões

A metodologia de quantificação do índice de atividade de urease e a de atividade de inibidores de tripsina podem ser aplicadas a soja integral micronizada.

Dietas contendo soja integral micronizada em níveis de até 2.25 mgTIA/g pode substituir dietas com farelo de soja para leitões desmamados sem alterar o desempenho e a digestibilidade dos animais.

A dieta contendo soja integral micronizada com 5.5 mgTIA/g não foi adequada para alimentação de leitões desmamados pois afetou as respostas de desempenho e CDAPB dos animais.

Agradecimentos

À empresa Perdigão e ao Laboratório Nutrianalysis, Colômbia e a CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Referências Bibliográficas

- AACC International. Method 22-90.01. Measurement of urease activity. En Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Aprobado 1969. AACC International, St.Paul, MN, USA.
- Animal Feed Stuffs: Determination of trypsin inhibitor activity of soya products. 2001. ISO 14902. International Organization for Standardization, Geneva (Switzerland), 1 ed. p.11.
- AOAC Association of Official Analytical Chemists, 1997. Official Methods of Analysis, 16th ed., Washington, DC, USA.
- AOCS American Oil Chemists' Society, 2011. Urease Activity. Official Method 9-58. Official methods and recommended Practices of the, Second Printing, Urbana, IL.
- Berrocoso, J. D., Serrano, M. P., Cámara, L., López, A., Mateos, G. G., 2013. Influence of source and micronization of soybean meal on nutrient digestibility and growth performance of weanling pigs. *J. Anim. Sci.* v. 91, p.309–317.
- Birk, Y., Geltler, A., and Khalef, S., 1963 A pure trypsin inhibitor from soya beans. *Biochem. J.* v.87, p.281.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria n° 07, de 09 de novembro de 1988. Diário Oficial da União. Brasília, 2005.
- Burns, R. A., 1987. Protease inhibitors in processes plant foods. *J. Food Prot.* v. 50, n.2, p. 161-166.
- Clarke, E., Wiseman, J., 2007. Effects of extrusion conditions on trypsin inhibitor activity of full fat soybeans and subsequent effects on their nutritional value for young broilers. *Brit. Poultry. Sci.* v. 48, n. 6, p.703-712.
- Carciofi, A. C., Oliveira, L. D., Valério, A. G., Borges, L. L., Carvalho, F. M., Brunetto, M. A., Vasconcellos, R. S. 2009. Comparison of micronized whole soybeans to common protein sources in dry dog and cat diets. *Animal Feed Science and Technology*, v.151, p.251-260.
- Cook, D. A., Jensen, A. H., Fraley, J. R., Hymowitz, T., J. 1988. Utilization by growing and finishing pigs of raw soybeans of low kunitz trypsin inhibitor content. *Anim. Sci.* v. 66, p.1686-1691.
- Dale, N., 1991. Solubilidade de la proteína: Indicador del procesado de la harina (pasta) de soya. *Asociacion Americana de Soya*, v.89, p.11.
- Faber, J. L.; Zimmerman, R. 1973. Evaluation of infrared-roasted and extruder-processed soybeans in baby pig diets. *J. Anim. Sci. Champaign*, v.36, n.5, p.902-907, 1973.
- Genovese, M. I., Lajolo, F. M., 1998. Atividade inibitória de tripsina em produtos derivados de soja (*Glycine max*) consumidos no Brasil. *Food Sci. Technol (Campinas)*. v.18, n.3, p.309-312.
- Herkelman, K. L.; Cromwell, G. L., Stahly, T. S., Pfeiffer, T. W., Knabe, D. A., et al. 1992. Apparent digestibility of amino acids in raw and heated conventional and low-trypsin-inhibitor soybeans for pigs. *J. Anim. Sci.* v.70, p.818-826.
- Holm, H., Reseland, J. E., Thorsen, L. I., Flatmark, A., Hanssen, L. E., 1992. Raw soybeans human pancreatic proteinases secretion. *J. Nutr.* v.122 p. 1407-1415.
- Jaffe, W. G., Hemagglutinins., 1980. In: Liener, I.E. Toxic constituents of plant foodstuffs, New York: Academic Press, 2 ed. p.73-102.
- Kakade, M. L., Hoffa D. E., Liener, I. E., 1973. Contribution of trypsin inhibitors to the deleterious effects of unheated soybeans fed to rats. *J. Nutr.* v.103, p.1772-1778.

- Kunitz, M., Crystalline soybean trypsin inhibitor. 1947. II. General properties. *J. Gen. Physiol.* v.30, p. 291.
- Liener, I. E., 1994. Implications of antinutritional components in soybean foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, v. 1, n. 34, p. 31-67.
- Monari, S., 1996. *Fullfat Soya Handbook*. American Soybean Association, Brussels, Belgium. ed. 2, p.44.
- Osborne, T. B., Mendel, L.B., 1917. The use soybean as food. *J. Biol. Chem.* v.32, p.369-376.
- Owen, K. Q.; Saldana, C.I.; Knabe, D. A.; Burgoon, K. G.; Gregg, E. J., 1994. The effects of dietary soy protein source fed to the early weaned pig on subsequent growth performance. *J. Anim. Sci.* v.72, p-70, 1994.
- Palacios, M. F., Easter, R. A; Soltwedel, K. T., Parsons, C. M., Douglas, M. W., Hymowitz, T., Pettigrew, J. E., 2004. Effect of soybean variety and processing on growth performance of young chicks and pigs. *J. Anim. Sci.* v.82, p.1108-1114.
- Penz, JR. A. M, Brugalli, I., 2001. Soja e seus derivados na alimentação de aves. In: *Simpósio sobre ingredientes na alimentação animal*, Campinas. Anais... CBNA, p.167-190.
- Rackis, J. J.; Wolf, W. J.; Baker, E. C., 1986. Protease inhibitor in plant foods: content and inactivation. In: *Nutritional and toxicological significance of enzyme inhibitors in foods* Ed:Mendel Friedman Plenum Publishing Corporation
- Rostagno H. S., 2011. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, DZO, p. 252.
- Ruiz, N., Belalcazar, F., Diaz, J. G., 2004. Quality control parameters for comercial full-fat soybeans processed by two different methods and fed to broilers. *J. Appl. Poultry. Res.* v.13, p.443-450.
- Sakomura, N. K.; Rostagno, H. S., 2007. *Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos*. Jaboticabal: FUNEP, p.283.
- SAS Institute. *SAS/STAT 9.3 user's guide*.SAS Institute, 2011.
- Szmigielski, M., Wesolowska-Janczarek, M., Szczepanik, M., 2010. Determination of trypsin inhibitor activity of microwave-heated bean seeds using bromocresole purple index (BCPI). *Pol. J. Food. Nutr. Sci.* v. 60, n.4, p.329-333.
- Turlington, W. H.; Pollman, D. S.; Coalson, J. A.; Endres, J. G. 1990. Nutritive value of soy protein concentrate in starter pigs diets. *Journal of Animal Science Champaign*, v. 68, p. 357, (Abstracts).
- Webster, M. J., Goodband, R. D., Tokach, M., D, Nelssen., J. L., Dritz, S., Woodworth, J. C., La- Llata, M. D., Said, N. W., 2003. Evaluating processing temperature and feeding value of extruded-expelled soybean meal on nursery and finishing pig growth performance. *J. Anim. Sci.* v.81, p.2032-2040.
- Whitaker, J. R. 1994. *Principles of enzymology for the food sciences*. New York: M. dekker, p.625.

Tabela 1. Composição analisada, índice de atividade de urease (IAU) e atividade de inibidores de tripsina (mgTIA/g) nos ingredientes

Temperatura do processamento	SBM	MSBa	MSBb	MSBc	MSBd	
	105°C	181°C	178°C	175°C	110°C	
Ingredientes	UAI	0.12	0.00	0.10	0.00	1.55
	TIA	2.9	3.1	3.8	3.0	5.9
	Umidade	10.7	39.1	36.1	53.5	85.8
	ASH	66.5	50.5	50.4	50.0	53.8
	CB	483.8	379.1	392.5	395.4	375.4
	FG	12.5	233.8	235.8	206.8	236.6
	GE (MJ/kg)	19.72	24.32	23.40	24.38	24.77

FS: farelo de soja; SIM: soja integral micronizada; Matéria Seca (MS), Cinzas (CZ), Proteína Bruta (PB), Gordura Bruta (GB), Energia Bruta (EB); ¹Expressos na matéria seca (g/kg)

Tabela 2. Composição das dietas em mg/g para leitões desmamados

g/kg	Dieta Pré-Inicial		Dieta Inicial	
	Farelo de Soja	Soja Integral Micronizada	Farelo de Soja	Soja Integral Micronizada
Milho	432.2	449.0	459.5	475.0
Soro de leite	189.2	189.2	135.1	135.1
Soja ¹	169.0	200.0	169.0	200.0
Glúten de milho 60	50.5	50.5	100.0	100.0
Óleo de soja	46.9	-	45.8	-
Açúcar	30.0	30.0	30.0	30.0
Plasma suíno	40.0	40.0	20.0	20.0
Fosfato monobicálcico	15.4	15.7	14.8	15.1
Calcário	7.2	6.9	8.8	8.4
L-Lisina HCL	5.9	5.6	6.0	5.8
Acidificante ²	3.0	3.0	3.0	3.0
Sal Comum	0.8	0.5	2.2	1.9
l-treonina	1.5	1.4	1.1	1.0
Cloreto de colina 60%	0.7	0.6	0.9	0.9
Premix Mineral ³	0.9	0.9	0.9	0.9
DL-Metionina	1.8	1.7	0.7	0.7
Promotor de crescimento ⁴	0.6	0.6	0.6	0.6
Premix vitamínico ⁵	0.5	0.5	0.5	0.5
L-triptofano	0.6	0.6	0.5	0.5
Sulfato de Cobre	0.4	0.4	0.4	0.4
Antioxidante ⁶	0.2	0.2	0.2	0.2
Oxido de zinco	2.7	2.7	-	-
Composição calculada das dietas				
Energia (MJ/kg)	14.8	14.77	14.85	14.74
Proteína bruta	200.0	200.0	210.0	210.0
Amido	298.0	309.0	327.0	327.0
Lactose	140.0	140.0	100.0	100.0
Gordura	70.0	70.1	73.4	73.0
Cálcio	8.0	8.0	8.0	8.0
Fósforo Disponível	5.0	5.0	4.5	4.5
Fósforo Total	6.4	6.5	6.2	6.2
Sódio	2.8	2.8	2.4	2.4
Cloro	2.5	2.5	1.9	1.9
Potássio	8.5	8.4	7.3	7.3
Arginina	10.5	11.0	11.0	11.0
Lisina	15.4	15.3	14.1	14.1
Lisina digestível	14.5	14.5	13.3	13.3
Met + cist digestível	8.1	8.1	7.4	7.4
Metionina digestível	4.7	4.7	4.1	4.1
Triptofano digestível	2.6	2.6	2.3	2.3
Treonina digestível	9.0	9.0	8.3	8.3
Zinco (ppm)	2000	2000	-	-
Cobre (ppm)	150	150	150	150

¹Índices de atividade de inibidores de tripsina presente nos ingredientes (Farelo de soja: 2.9 mgTIA/g; Soja integral micronizada: 3.0, 3.1, 3.8 e 5.9 mgTIA/g).

²Ultradid; ³Adição por kg de dieta: Selênio 0.39 mg; Iodo 0.46 mg; Ferro 52 mg; Cobre 10.4 mg; Zinco 104 mg e Manganês 39 mg; ⁴Halquinol 60%; ⁵Adição por kg de dieta : vit. A 11200 UI; vit. D3 2100 UI; vit. E 25.2 mg; vit. K 2.8 mg; vit. B1 2.24; mg; vit. B2 7.14mg; vit. B6 2.17 mg; vit. B12 26.6 mg; ácido pantotênico 18.2 mg; niacina 36.4 mg; ácido fólico 0.63 mg e biotina 126 mcg; ⁶Etoxiqum 66%;

Tabela 3 Composição analisada, índice de atividade de urease (IAU) e atividade de inibidores de tripsina (mgTIA/g) nas dietas

Temperatura processamento		FS	SIMa	SIMb	SIMc	SIMd
		105°C	181°C	178°C	175°C	110°C
Dieta Pré Inicial (1 a 12 d)	IAU	0.19	0.06	0.10	0.10	0.33
	mgTIA/g	0.5	1.1	1,15	1.9	5.12
	MS	902.1	915.5	920.7	915.8	911.8
	CZ	60.4	58.3	59.5	61.0	60.6
	PB	248.4	233.8	235.8	236.8	236.6
	EB (MJ/kg)	19.67	19.23	19.13	19.48	19.10
Dieta Inicial (12 a 28 d)	IAU	0.16	0.00	0.10	0.17	0.33
	mgTIA/g	0.5	1.0	1,9	2,25	5.5
	MS	909.2	917.7	918.8	917.7	907.4
	CZ	53.2	53.1	52.4	54.4	52.5
	PB	235.1	247.5	236.9	239.5	236.0
	EB (MJ/kg)	18.74	19.87	19.55	20.16	19.72

FS: farelo de soja; SIM: soja integral micronizada; Matéria Seca (MS), Cinzas (CZ), Proteína Bruta (PB), Gordura Bruta (GB), Energia Bruta (EB); ¹Expressos na matéria seca (g/kg)

Tabela 4. Desempenho, coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) e coeficiente aparente de metabolizabilidade (CMA) de leitões alimentados com dietas contendo farelo de soja (FS) ou soja integral micronizada (SIM)

Soybean		FS	SIMa	SIMb	SIMc	SIMd	EP	P
TIA		0.5	1.0	1.9	2.25	5.5	(n=6)	
Fase Pré- inicial (1-12 d)	Consumo diário (g)	0.463 ^a	0.459 ^a	0.492 ^a	0.361 ^a	0.234 ^b	0.053	0.004
	Ganho de peso diário(g)	0.458 ^a	0.451 ^a	0.449 ^a	0.375 ^b	0.158 ^c	0.051	0.001
	Conversão alimentar	1.01 ^b	1.00 ^b	1.09 ^b	0.94 ^b	1.52 ^a	0.062	0.011
Fase Inicial (13-28 d)	Consumo diário (g)	0.700 ^a	0.681 ^a	0.647 ^a	0.687 ^a	0.581 ^b	0.023	0.001
	Ganho de peso diário(g)	0.456 ^a	0.425 ^a	0.400 ^a	0.399 ^a	0.252 ^b	0.033	0.001
	Conversão alimentar	1.53 ^b	1.60 ^b	1.65 ^b	1.72 ^b	2.34 ^a	0.069	0.001
Digestibilidade	CDAMS	0.920 ^a	0.929 ^a	0.927 ^a	0.933 ^a	0.921 ^a	0.009	0.858
	CDAPB	0.906 ^a	0.927 ^a	0.926 ^a	0.911 ^a	0.866 ^b	0.014	0.003
	EB	0.923 ^a	0.932 ^a	0.931 ^a	0.934 ^a	0.919 ^a	0.008	0.715
	ED (MJ/kg)	18.95 ^{ab}	18.91 ^{ab}	19.18 ^a	18.67 ^b	18.61 ^b	0.06	0.015
Metabolizabilidade	CMA PB	0.828 ^a	0.850 ^a	0.851 ^a	0.778 ^{ab}	0.745 ^b	0.009	0.002
	CMA EB	0.914 ^a	0.921 ^a	0.916 ^a	0.923 ^a	0.906 ^a	0.008	0.699
	EM (MJ/kg)	18.28 ^a	18.29 ^a	18.47 ^a	18.04 ^a	17.67 ^a	0.08	0.152

FS: farelo de soja; SIM: soja integral micronizada; CDA: coeficiente de digestibilidade aparente; CMA: coeficiente de metabolizabilidade aparente; MS: matéria seca; PB: proteína bruta; EB: energia bruta; ED: energia digestível; EM: energia metabolizável; EP: erro padrão; *Médias seguidas de letras distintas na linha, diferem entre si a P<0.05 pelo teste de SNK.

Tabela 5. Correlação entre a atividade de inibidores de tripsina (mgTIA/g) na dieta inicial e índice de atividade de urease (IAU), desempenho, digestibilidade e metabolizabilidade da proteína e da energia em leitões alimentados com farelo de soja (FS) ou soja integral micronizada (SIM).

Variáveis	TIA Dieta Inicial	
	r	P
IAU – Ingrediente	0.920	0.001
IAU – Dieta Inicial	0.821	0.001
mgTIA/g no Ingrediente	0.941	0.001
mgTIA/g nas Fezes	0.780	0.001
Ganho de Peso – Inicial	-0.891	0.001
Consumo de Ração – Inicial	-0.724	0.001
Conversão Alimentar – Inicial	0.780	0.001
CDAPB ¹	-0.570	0.006
Energia Digestível	-0.392	0.032
CMAPB ²	-0.489	0.006
Energia Metabolizável	-0.368	0.016

¹Coefficiente de Digestibilidade Aparente na Proteína Bruta (EDAPB), ²Coefficiente Metabolizabilidade Aparente da Proteína Bruta (CMAPB).

Tabela 6. Análise de regressão linear entre mgTIA/g da dieta e o desempenho, a digestibilidade e a metabolizabilidade de leitões alimentados com dietas contendo soja integral micronizada na fase inicial (13 a 28 dias).

		Equação de Regressão	R ²	P
Desempenho	Consumo de Ração	$Y=0.710-0.022x$	0.52	0.001
	Ganho de Peso	$Y=0.475-0.04x$	0.79	0.001
	Conversão Alimentar	$Y=1.406+0.166x$	0.60	0.001
Digestibilidade	CDAPB ¹	$Y=0.931-0.010x$	0.30	0.001
	Energia Digestível	$Y=19.03-0.08x$	0.12	0.001
	CMAPB ²	$Y=0.854-0.019x$	0.23	0.006
Metabolizabilidade	Energia Metabolizável	$Y=18.04-0.08x$	0.10	0.001

¹Coefficiente de Digestibilidade Aparente na Proteína Bruta (EDAPB), ²Coefficiente Metabolizabilidade Aparente da Proteína Bruta (CMAPB).

CAPÍTULO III

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O alto teor de proteína bruta aliado ao alto teor de lipídeos e energia metabolizável da soja integral micronizada demonstra que este ingrediente é bem aproveitado pelos animais. Neste estudo a utilização deste ingrediente em dietas para leitões desmamados se mostrou interessante por apresentar resultados semelhantes ao farelo de soja no desempenho dos animais e digestibilidade da proteína.

Outras pesquisas mostram resultados conflitantes, que vão desde a melhora até a perda considerável da digestibilidade da proteína em animais alimentados com dietas contendo soja integral micronizada. Isso pode ser atribuído as diferenças metodológicas adotadas entre os estudos, como espécie animal testada, idade e nível de inclusão da soja integral micronizada.

Entretanto, a qualidade do processamento térmico deve ser observada e os níveis de inibidores de tripsina precisam ser controlados. O presente estudo confirma que a metodologia padrão adotada para avaliar o índice de atividade de urease continua sendo o método mais prático e acessível para avaliar a qualidade do processamento do grão de soja, pois apresenta alta correlação com os resultados obtidos pela análise de inibidores de tripsina, metodologia laboriosa e com maior custo para realização. Através do estudo verificou-se que as dietas com níveis de inibidores de tripsina de até 2,25 mgTIA/g não causam prejuízos ao desempenho e a digestibilidade, valor este superior às recomendações encontradas em outros estudos.

No estudo foi possível observar a presença de inibidores de tripsina nas fezes dos leitões, indicando que estes não são metabolizados no intestino dos animais e que possivelmente também poderão ser encontrados nas fezes de outros animais monogástricos.

Não obstante, é importante ressaltar que apesar da metodologia para quantificar a presença de inibidores de proteases nas dietas e ingredientes ser conhecida, ainda pode-se verificar a dificuldade de realização da técnica em instituições de ensino e empresas privadas em todo país. Considerando a importância da avaliação dos inibidores de tripsina presentes nos alimentos, as metodologias de avaliação dos ingredientes devem aprimoradas com o objetivo de proporcionar praticidade e precisão na realização da técnica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC. **Urease Activity Method 22-90**. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists, AACC. 9 ed.. St. Paul: MN, 1995.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the AOAC International**. 16. ed. Maryland, 1997.

AOCS. **Urease Activity. Official Methods 9-58**. Official methods and recommended Practices of the AOCS, AOCS. Urbana, IL, 2011.

ASKAR, A. Faba beans (*Vicia faba* L.) and their role in the human diet. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v.8, n.3, p.15-24, 1986.

BARCA, A.M.C., VÁZQUEZ-MORENO, L., ROBLES-BURGUEÑO, M.R. Active soybean lectin in foods: isolation and quantification. **Food Chemistry**, Barking, v.39, n.3, p.321-327, 1991.

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

BENDER, A.E. Effects on nutritional balance: antinutrients. In: NATURAL toxicants in food: progress and prospects. London: Ellis Horwood International Publishers. 1987. p.110-124

BERROCOSO, J. D., et al. Influence of source and micronization of soybean meal on nutrient digestibility and growth performance of weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 91, p.309–317, 2013.

BIASI, C. R. **Farinha integral de soja micronizada: processamento e valor nutricional para suínos e aves**. Chapecó: ARCUS Indústria Grafica, 2006. p. 29

BIRK, Y.; GELTLER, A.; KHALEF, S., A pure trypsin inhibitor from soya beans. **Biochemical Journal**, Liverpool, v.87, p.281, 1963.

BRADY, P.G., VANNIER, A.M., BANWELL, J.G. Identification of the dietary lectin, wheat germ agglutinin, in human intestinal contents. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.75, n.2, p.236-239, 1978.

BRANCO, P. A. C. **Milho e soja processados em rações de leitões dos 21 aos 56 dias de idade (desempenho e parâmetros morfológicos)**. 2003. 43f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria nº 07, de 09 de novembro de 1988.

Diário Oficial da União, Seção I, p.21.968, **Brasília**, 2005.

BRITO, A. B. **Processo de desativação da soja**. 2006. Disponível em <http://www.poli-nutri.com.br/conteudo dicas fevereiro 06 1.htm>. Acesso em 21 set. 2013.

BRITO, C.L. et al. Adição de complexo multienzimático em dietas a base de soja extrusada e desempenho de pintos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.35, n.2, p.457-461, 2006.

BRITO, C.O. **Adição de multienzimático em dietas com diferentes sojas extrusadas para pintos de corte**. 2003. 48 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003.

BORGES, S. A. et al. Utilização da soja desativada na dieta de monogástricos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS - CBNA, 2003, Cascavel. **Anais...** Cascavel, PR, 2003. p. 21-59

BUTOLO, J.E.; **Qualidade de Ingredientes na Alimentação Animal**. **Colégio Brasileiro de Nutrição Animal**, 1 ed. Campinas, SP, p.430, 2002.

CAFÉ, M. B. et al. Determinação do valor nutricional de sojas integrais processadas para aves. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. Campinas, SP, v. 2, n. 1, p. 67-74, 2000.

CARCIOFI, A.C., et al. Comparison of micronized whole soybeans to common protein sources in dry dog and cat diets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.151, p.251-260, 2009.

CASKEY, C.D. Jr.; KNAPP, FRANCES C., **Industrial and Engineering Chemistry, Analytical Edition**, Ed. 16, p.640-641. 1944.

CHANG, C. J. et al. Effects of different heat treatments during processing on nutrient digestibility of soybean meal in growing swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.65, n.5, p.1273-1282, 1987.

COMPANHIA BRASILEIRA DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, quarto levantamento**, Brasília, abril 2015. Disponível em: <http://www.conab.gov.br> Acesso em: 7 abr. 2015.

COOK, D. A. et al. Utilization by growing and finishing pigs of raw soybeans of low kunitz trypsin inhibitor content. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, p.1686-1691, 1988.

DALE, N. Solubilidad de la proteina: Indicador del procesado de la harina

(pasta) de soya. **Asociacion Americana de Soya, Boletim Técnico**, Barcelona, v. 89, p.11, 1991.

ERLANGER, B. F.; KOKOWSKY, N.; COHEN, W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. **Archives of Biochemistry Biophysics**, New York, v. 95, p. 271-278, 1961.

ESSNER, E., SCHREIBER, J., GRIEWSKI, R.A. Localization of carbohydrate components in rat colon with fluoresceinated lectins. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, New York, v.26, n.6, p.452-458, 1978.

FABER, J. L.; ZIMMERMAN, R. Evaluation of infrared-roasted and extruder-processed soybeans in baby pig diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.36, n.5, p.902-907, 1973.

FASINA, Y.O. et al. Response of turkey poult to soybean lectin levels typically encountered in commercial diets. Effect on growth and nutrient digestibility. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.1559-1571, 2004.

FÉLIX, A. P. et al. Características físico-químicas de derivados protéicos de soja em dietas extrusadas para Cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.12, p.2568-2573, 2010.

FÉLIX, A. P. et al. Digestibility and metabolizable energy of raw soybeans manufactured with different processing treatments and fed to adult dogs and puppies. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 91, p. 2794-2801, 2013.

FRIEDMAN, M. et al. Comparison of a commercial soybean cultivar and an isoline lacking the Kunitz trypsin inhibitor: composition, nutritional value, and effects of heating. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v.39, n.2, p. 27–335, 1991.

FRIESEN, K.G. et al. The effects of moist extrusion of soy products on growth performance and nutrient utilization in the early-weaned pig. **Journal Animal Science**, Champaign, v.71, n.8, p.2099-2109, 1993.

GRANT, G. et al. Effects of dietary soybean (*Glycine max*) lectin and trypsin inhibitors upon the pancreas of rats. **International Journal of Research in Medical Sciences**, Gujarat, v.15, p.1197-1198, 1987.

HASDAI, A., NITSAN, Z., VOLCANI, R. Growth, digestibility, and enzyme activities in the pancreas and intestines of guinea-pigs fed on raw and heated soya-bean flour. **British Journal of Nutrition**, London, v.62, n.3, p.529-537, 1989.

HEIDENREICH, E. Operation strategies for expansion cooking. **Feed Mix**,

Doetinchem, v.2, p.32-34, 1994.

HERKELMAN, K. L. et al. Apparent digestibility of amino acids in raw and heated conventional and low-trypsin-inhibitor soybeans for pigs. **Journal Animal Science**, Champaign, v.70, p.818-826, 1992.

JAFFE, W. G. HEMAGGLUTININS. In: TOXIC constituents of plant foodstuffs, 2. ed. New York: Academic Press, 1980. p. 73-102

JORGE NETO, G.J. Soja integral na alimentação de aves e suínos. **Avicultura & Suinocultura Industrial**, São Paulo, SP, n.988, p.4-15, 1992.

KAKADE, M. L.; SIMONS, N.; LIENER, I. E. An evaluation of natural versus synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. **Cereal Chemistry**, St. Paul, Minn v.46, p.518-526, 1969.

KAKADE, M., et al. Contribution of trypsin inhibitors to the deleterious effects of unheated soybeans fed to rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, MD, v.103, p.1772-1778, 1973.

KAKADE, M. L et al. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: A collaborative analysis of an improved procedure. **Cereal Chemistry**. Manhattan, v.51, p.376-382, 1974.

KUNITZ, M. Crystalline soybean trypsin inhibitor. II. General properties. **The Journal of General Physiology**, New York, v.30. p.291-310, 1947.

LIDDLE, R.A., GOLDFINE, I.D., WILLIAMS, J.A. Biossay of plasma cholecystokinin in rats: effects of food, trypsin inhibitor, and alcohol. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.87, n.3, p.542-549, 1984.

LIENER, I.E. The nutritional significance of the plant lectins. In: ANTINUTRIENTS and natural toxicants in foods. Westport: Food & Nutrition Press, 1981. p.143-157

LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton v.1, n. 34, p. 31-67, 1994.

LIS, H., SHARON, N. The biochemistry of plant lectins (phytohemagglutinins). **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v.42, p.541-574, 1973.

LONGO, F. A. **Avaliação de fontes de carboidrato e proteína e sua utilização na dieta pré-inicial de frangos de corte**. 2003. 98f. (Tese de Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP 2003.

MANCINI FILHO, J., LAJOLO, F.M., VIZEU, D.M. Lectins from red kidney beans: radiation effect on agglutinating and mitogenic activity. **Journal of Food**

Science, Chicago, v.44, n.4, p.1194-1196, 1979.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Soja**. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja> Acesso em: 18 set. de 2014.

MARTY, B. J.; CHAVEZ, E. R. Effects of heat processing on digestible energy and other nutrient digestibilities of full-fat soybeans fed to weaner, grower and finisher pigs. **Canadian Journal Animal Science**, Ottawa, v. 73, p.411, 1993.

MENDES, W. S., et al. Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v.56, p.207-213, 2004.

MIRGHELENJ S.A; GOLIAN A.; KERMANSHAHI H. Determination of processing quality tests of full fat soybean extruded at three temperatures and correlation with growth performance of broiler chickens. **Iranian Journal of Animal Science Research**. Rasht, v. 4, n.3, p. 209-215, 2012.

MIRGHELENJ, S. A et al., Correlation between urease activity index (UI) of full fat soybean extruded at three temperatures and biological performance of broiler chickens. **Poultry Science**, San Diego, v. 92, n.1, p. 133-144, 2013.

MONARI, S. Full fat soya handbook. **American Soybean Association**, Brussels, Belgium, p. 22-28, 1996.

MONTEIRO, M. R. P. **Avaliação bioquímica e nutricional de farinhas obtidas de variedades de soja com ausência e presença do inibidor de tripsina “Kunitz” e lipoxigenases**. 2000. 67f. Tese (Doutorado em Zootecnia)- Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.

MOREIRA, I. **Valor nutritivo e utilização do milho e soja integral processados a calor na alimentação de leitões**. 145f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1993.

NAKATA, S., KIMURA, T. Effect of ingested toxic bean lectins on the gastrointestinal tract in the rat. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.115, n.12, p.1621-1629, 1985.

NRC. **Nutrient requirements of dogs and cats**. Washington, DC: National Academy, 2006. 426 p.

NUNES, R. V. et al. Fatores antinutricionais dos ingredientes destinados à alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, Campinas. **Anais...** Campinas, 2001. p.235-269

OSBORNE, T. B.; L.B. MENDEL. The use soybean as food. **Journal Biological Chemistry**, Rockville v.32, p.369-376, 1917.

OWEN, K. Q. et al. The effects of dietary soy protein source fed to the early weaned pig on subsequent growth performance. **Journal of Animal Science**. Champaign, v.72, p.58-61, 1994.

PACHECO, W. J. et al. Effects of trypsin inhibitor and particle size of expeller-extracted soybean meal on broiler live performance and weight of gizzard and pancreas. **Poultry Science**. Champaign, v. 93 p.2245-2252, 2014.

PENZ, JR. A. M, BRUGALLI, I. Soja e seus derivados na alimentação de aves. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2001. p.167-190.

RACKIS, J.J. Biological and physiological factors in soybeans. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, Champaign, v.51, n.1, p.161A-174A, 1974.

RACKIS, J.J., GUMBMAN, M.R. Protease inhibitors: physiological properties and nutritional significance. In: ANTINUTRITIONAL and natural toxicants in foods. Westport : Food & Nutrition Press, 1982. p.203-237

RODRIGUES, P. B. et al. Aminoácidos digestíveis verdadeiros da soja e subprodutos, determinados com galos cecectomizados. **Brazilian Journal of Animal Science**, Viçosa, MG, v. 31, n.02, p. 970-981, 2002.

RODRIGUES, P. B. et al. Valores energéticos da soja e subprodutos da soja, determinados com frangos de corte e galos adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 1771-1782, 2002.

ROSTAGNO H.S., et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, DZO, 2011. 252 p.

RYDER, S. D. et al. Peanut ingestion increases rectal proliferation in individuals with mucosal expression of peanut lectin receptor. **Gastroenterology**, Quebec, v.114 p.44-49, 1998.

SAAD, F.M.O.B., et al. Curso de Pos-graduação "Lato Sensu" (Especialização) Distância: **Nutrição e Alimentação de Cães e Gatos**. 1 ed. UFLA/FAEPE, Lavras, p.129, 2005.

SATHE, S. K; DESHPANDE, S. S; SALUNKHE, D.K. Dry beans of Phaseolus: A review: Part 1.chemical Compsotion: Proteins. CRC, **Critical Reviews in Food Science Nutrition**, Philadelphia v.20, p. 1-46, 1984.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. D. Fatores antinutricionais: Inibidores de proteases lectinas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 13, n. 1, p. 3-9, 2000.

SOTO-SALANOVA, M. F. et al. Uso de enzimas em dietas de milho e soja para frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 1996. p.71-76

TRINDADE NETO et al. Farelo de Soja, Soja Integral Macerada e Soja Micronizada na Alimentação de Leitões Desmamados aos 21 Dias de Idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa. v.31, n.1, p.104-111, 2002.

TURLINGTON, W. H. et al. Nutritive value of soy protein concentrate in starter pigs diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 357, 1990. (Abstracts).

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA, 2009. **National Nutrient Database for Standard Reference**. Disponível em: http://www.nass.usda.gov/Newsroom/2014/06_30_2014.asp. Acesso em: 18 set. 2014.

ZHANG, Y; PARSONS, C. M; HYMOWITZ, T. Research Note: Effect of soybeans varying in trypsin inhibitor content on performance of laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v.70, p. 2210–2213, 1991.

ZHANG, Y.E.; PARSONS, C.M. Effect of extrusion and expelling on the nutritional quality of conventional and kunitz trypsin inhibitor-free soybeans. **Poultry Science**, Champaign, v.72, p.2299-2308, 1993.

ZONTA, M. C. D. M. et al. Energia metabolizável de farinhas de soja ou produtos de soja, determinada pelo método de coleta total e por equações de predição. **Arquivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 55, n. 209, p. 21-30, 2006.

WALDROUP, P. W. Soybean meal in poultry nutrition. In: Soybean Meal Info Source, 2002. Disponível em: <http://www.soymeal.org/pdf/Infomay2002.pdf>. Acesso em: 16 set. 2014.

WARD, N.E. Quality considerations for soybean meal. **American Soybean Association**. Singapura, v.1, cap. 11, p.195-204, 1996.

YEN, H.T., COLE, D.J.A., LEWIS, D. Amino acid requirements of growing pigs. The response of pigs from 25 to 55 kg live weight to dietary ideal protein. **Journal Animal Production**, Bornova-IZMIR, v.43, n.2, p.141-154, 1986.

APÊNDICE

APÊNDICE 1. Dados brutos: Consumo de ração dos leitões na fase pré-inicial (0 a 12 dias), período inicial (13 a 28 dias) e no período total (0 a 28 dias)

Tratamento	Repetição	Consumo 0a12	Consumo 13a28	Consumo 0a28
Farelo de soja	1	5,92	11,39	17,31
Farelo de soja	2	5,20	11,24	16,44
Farelo de soja	3	5,96	10,42	16,37
Farelo de soja	4	6,04	11,39	17,43
Farelo de soja	5	4,68	11,57	16,26
Farelo de soja	6	5,58	11,27	16,85
SIMa	1	4,05	10,79	14,84
SIMa	2	3,83	10,90	14,73
SIMa	3	5,87	10,96	16,83
SIMa	4	6,07	10,54	16,60
SIMa	5	6,69	11,24	17,93
SIMa	6	6,17	10,92	17,09
SIMb	1	3,13	10,78	13,91
SIMb	2	5,23	11,04	16,27
SIMb	3	5,97	11,29	17,26
SIMb	4	5,91	11,16	17,06
SIMb	5	2,49	10,86	13,35
SIMb	6	3,28	10,85	14,13
SIMc	1	5,85	9,27	15,13
SIMc	2	7,72	10,96	18,68
SIMc	3	6,19	10,94	17,13
SIMc	4	4,35	10,11	14,46
SIMc	5	5,87	9,95	15,81
SIMc	6	5,44	10,88	16,32
SIMd	1	4,19	7,85	12,04
SIMd	2	3,71	9,74	13,46
SIMd	3	2,03	10,64	12,67
SIMd	4	2,33	9,72	12,04
SIMd	5	1,45	8,26	9,71
SIMd	6	3,14	9,60	12,74

APÊNDICE 2. Dados brutos: Peso dos leitões na fase pré-inicial (0 a 12 dias), período inicial (13 a 28 dias) e no período total (0 a 28 dias)

Tratamento	Repetição	Peso Inicial	Peso aos 12 dias	Peso aos 28 dias
Farelo de soja	1	7,50	13,87	20,94
Farelo de soja	2	7,18	11,90	19,38
Farelo de soja	3	6,74	12,21	19,04
Farelo de soja	4	7,02	12,33	19,50
Farelo de soja	5	7,20	12,64	20,62
Farelo de soja	6	7,10	12,77	20,05
SIMa	1	7,42	12,07	18,30
SIMa	2	6,34	11,26	18,22
SIMa	3	7,26	13,51	20,26
SIMa	4	7,76	12,93	19,94
SIMa	5	7,32	13,53	20,38
SIMa	6	6,96	12,22	19,24
SIMb	1	6,46	10,82	16,90
SIMb	2	7,52	12,36	18,76
SIMb	3	8,20	13,07	19,16
SIMb	4	7,44	12,82	19,54
SIMb	5	6,92	9,98	16,30
SIMb	6	6,24	10,69	17,42
SIMc	1	7,40	12,72	19,24
SIMc	2	8,02	14,17	21,56
SIMc	3	7,48	12,82	20,00
SIMc	4	6,36	12,16	16,60
SIMc	5	6,20	11,12	17,82
SIMc	6	7,20	12,01	18,18
SIMd	1	6,84	8,89	13,48
SIMd	2	8,26	10,72	15,60
SIMd	3	6,36	8,59	12,26
SIMd	4	7,32	9,45	13,34
SIMd	5	6,76	7,85	11,00
SIMd	6	7,30	8,69	12,76

APÊNDICE 3. Dados brutos: Ganho de peso dos leitões na fase pré-inicial (0 a 12 dias), período inicial (13 a 28 dias)

Tratamento	Repetição	Ganho de Peso 0a12	Ganho de Peso 13a28
Farelo de soja	1	6,38	7,07
Farelo de soja	2	4,73	7,48
Farelo de soja	3	5,48	6,83
Farelo de soja	4	5,31	7,17
Farelo de soja	5	5,45	7,98
Farelo de soja	6	5,67	7,28
SIMa	1	4,65	6,23
SIMa	2	4,92	6,96
SIMa	3	6,26	6,75
SIMa	4	5,18	7,01
SIMa	5	6,21	6,85
SIMa	6	5,27	7,02
SIMb	1	4,37	6,08
SIMb	2	4,85	6,40
SIMb	3	4,88	6,09
SIMb	4	5,39	6,72
SIMb	5	3,06	6,32
SIMb	6	4,46	6,73
SIMc	1	5,33	6,52
SIMc	2	6,15	7,39
SIMc	3	5,34	7,18
SIMc	4	5,81	4,44
SIMc	5	4,92	6,70
SIMc	6	4,82	6,17
SIMd	1	2,06	4,59
SIMd	2	2,46	4,88
SIMd	3	2,24	3,67
SIMd	4	2,13	3,89
SIMd	5	1,10	3,15
SIMd	6	1,40	4,07

APÊNDICE 4. Dados brutos: Conversão alimentar na fase pré-inicial (0 a 12 dias), período inicial (13 a 28 dias)

Tratamento	Repetição	Conversão Alimentar 0 a 12	Conversão Alimentar 13 a 28
Farelo de soja	1	0,928	1,612
Farelo de soja	2	1,100	1,504
Farelo de soja	3	1,088	1,526
Farelo de soja	4	1,137	1,588
Farelo de soja	5	0,860	1,451
Farelo de soja	6	0,983	1,549
SIMa	1	0,872	1,731
SIMa	2	0,778	1,566
SIMa	3	0,939	1,625
SIMa	4	1,172	1,504
SIMa	5	1,077	1,641
SIMa	6	1,172	1,557
SIMb	1	0,718	1,775
SIMb	2	1,079	1,727
SIMb	3	1,225	1,855
SIMb	4	1,097	1,661
SIMb	5	0,813	1,719
SIMb	6	0,736	1,613
SIMc	1	1,099	1,424
SIMc	2	1,256	1,483
SIMc	3	1,160	1,523
SIMc	4	0,749	2,280
SIMc	5	1,192	1,485
SIMc	6	1,130	1,765
SIMd	1	2,040	1,711
SIMd	2	1,510	1,996
SIMd	3	0,907	2,903
SIMd	4	1,093	2,498
SIMd	5	1,327	2,625
SIMd	6	2,254	2,361

APÊNDICE 5. Dados brutos: Coeficiente de digestibilidade da MS, CZ e PB

Tratamento	Repetição	CDAMS	CDAPB	EDAEB	ED
Farelo de soja	1	93,88	93,97	94,18	4583
Farelo de soja	2	94,92	94,22	95,10	4608
Farelo de soja	3	90,17	86,79	90,35	4447
Farelo de soja	4	88,65	88,03	89,29	4478
Farelo de soja	5	90,30	90,45	90,82	4463
Farelo de soja	6	94,20	90,42	94,20	4583
SIMa	1	89,60	89,65	90,36	4420
SIMa	2	93,40	92,74	93,57	4526
SIMa	3	94,46	94,20	94,65	4567
SIMa	4	94,34	93,38	94,51	4564
SIMa	5	90,69	90,80	90,88	4441
SIMa	6	94,80	95,37	95,16	4584
SIMb	1	88,41	89,08	89,25	4446
SIMb	2	94,44	94,72	94,78	4633
SIMb	3	91,94	91,85	92,38	4560
SIMb	4	93,62	93,49	94,13	4615
SIMb	5	92,13	91,42	92,56	4559
SIMb	6	95,47	95,28	95,72	4681
SIMc	1	93,24	90,02	93,14	4478
SIMc	2	91,06	84,25	91,13	4413
SIMc	3	93,14	86,98	92,75	4467
SIMc	4	91,99	86,93	91,72	4431
SIMc	5	91,79	87,12	91,78	4451
SIMc	6	91,17	84,24	90,97	4425
SIMd	1	91,29	89,47	91,83	4405
SIMd	2	94,59	92,92	94,72	4499
SIMd	3	95,36	90,21	95,60	4525
SIMd	4	96,58	96,18	96,80	4564
SIMd	5	89,48	86,01	89,47	4332
SIMd	6	92,21	91,61	92,19	4435

APÊNDICE 6. Dados brutos: Energia metabolizável aparente e energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio

Tratamento	Repetição	CMAEPB	CMAEB	EM
Farelo de soja	1	83,13	93,55	4467
Farelo de soja	2	79,11	94,19	4497
Farelo de soja	3	72,17	89,27	4263
Farelo de soja	4	90,49	88,67	4234
Farelo de soja	5	79,24	90,54	4323
Farelo de soja	6	83,43	92,37	4411
SIMa	1	88,11	89,30	4237
SIMa	2	85,12	92,19	4374
SIMa	3	76,35	93,63	4443
SIMa	4	87,17	92,97	4412
SIMa	5	87,24	90,14	4277
SIMa	6	71,36	94,29	4474
SIMb	1	82,78	88,33	4252
SIMb	2	75,50	94,38	4544
SIMb	3	79,00	90,40	4352
SIMb	4	78,15	93,48	4500
SIMb	5	87,36	90,58	4361
SIMb	6	92,60	92,72	4464
SIMc	1	79,06	91,92	4329
SIMc	2	88,83	89,58	4219
SIMc	3	84,06	91,32	4301
SIMc	4	82,77	90,64	4269
SIMc	5	65,73	89,63	4222
SIMc	6	80,77	90,60	4267
SIMd	1	74,81	90,36	4220
SIMd	2	81,12	93,57	4370
SIMd	3	89,06	94,65	4420
SIMd	4	68,20	95,65	4467
SIMd	5	90,82	88,26	4122
SIMd	6	67,37	91,18	4258

APÊNDICE 7. Dados brutos: Determinação de atividade de inibidores de tripsina (mgTIA/g) presente nas fezes

Tratamento	Repetição	mgTIA/g
Farelo de soja	1	0,20
Farelo de soja	2	*
Farelo de soja	3	*
Farelo de soja	4	*
Farelo de soja	5	*
Farelo de soja	6	*
SIMa	1	0,40
SIMa	2	0,60
SIMa	3	*
SIMa	4	0,4
SIMa	5	*
SIMa	6	*
SIMb	1	1,81
SIMb	2	0,97
SIMb	3	1,28
SIMb	4	1,48
SIMb	5	1,50
SIMb	6	1,39
SIMc	1	0,17
SIMc	2	0,10
SIMc	3	0,34
SIMc	4	0,55
SIMc	5	0,65
SIMc	6	0,60
SIMd	1	1,23
SIMd	2	1,68
SIMd	3	1,85
SIMd	4	1,54
SIMd	5	1,39
SIMd	6	1,23

*: não detectado

APÉNDICE 8. Normas utilizadas para redigir o Capítulo II à revista *Animal Feed Science Technology*



ELSEVIER ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY

An International Scientific Journal Covering Research on Animal Nutrition,
Feeding and
Technology

AUTHOR INFORMATION PACK

ISSN: 0377-8401

DESCRIPTION

Animal Feed Science and Technology is a unique journal publishing scientific papers of international interest focusing on **animal feeds** and their **feeding**.

Papers describing research on feed for ruminants and non-ruminants, including **poultry, horses, companion animals** and **aquatic animals**, are welcome.

The journal covers the following areas: **Nutritive value** of feeds (e.g., assessment, improvement) Methods of **conserving** and **processing** feeds that affect their nutritional value **Agronomic** and **climatic** factors influencing the nutritive value of feeds **Utilization** of feeds and the improvement of such Metabolic, production, reproduction and **health responses**, as well as potential environmental impacts, of diet inputs and feed technologies(e.g., feeds, feed additives, feed components, mycotoxins) Mathematical models relating directly to **animal-feed interactions** Analytical and experimental methods for **feed evaluation** Environmental impacts of feed technologies in animal production. The journal does not encourage papers with emphasis on animal products, molecular biology, genetics for management, or the regulatory or legal aspects of feeds as well as animal production studies with a focus on animal nutrition that do not have a direct link to a feed or feed technology. Manuscripts must be prepared in accordance with the journal's Guide for Authors.

Before preparing their manuscript, it is suggested that authors examine the following editorials by the Editors-in-Chief: Editorial on terminology and analytical methods (*Anim. Feed Sci. Technol.* 118 (2005) Editorial on experimental design and statistical criteria (*Anim. Feed Sci. Technol.* 129 (2006)

Editorial on general suggestions and guidelines (*Anim. Feed Sci. Technol.* 134 (2007) 181-188)

Editors' comments on plagiarism (*Anim. Feed Sci. Technol.* 154 (2009) 292-293)

Editorial on review techniques and responding on editorial comments (*Anim. Feed Sci. Technol.* 155 (2010) 81-85)

Editorial on use of replicates in statistical analyses in papers submitted for publication in *Animal Feed Science and Technology* (Anim. Feed Sci. Technol. 171 (2012) 1-5)

AUDIENCE

Animal Scientists, Crop Scientists, Feed Manufacturers, Feed Additive Producers.

IMPACT FACTOR

2012: 1.608 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2013

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Types of article

1. Original Research Papers (Regular Papers)
2. Review Articles
3. Short Communications
4. Book Reviews

Original Research Papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review Articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest.

A *Short Communication* is a concise but complete description of a limited investigation, which will not be included in a later paper. Short Communications should be as completely documented, both by reference to the literature and description of the experimental procedures employed, as a regular paper. They should not occupy more than six printed pages (about 12 manuscript pages, including figures, tables and references).

Book Reviews will be included in the journal on a range of relevant books which are not more than two years old. Book reviews will be solicited by the Book Review Editor. Unsolicited reviews will not usually be accepted, but suggestions for appropriate books for review may be sent to the Book Review Editor:

Professor G. Flachowsky
Federal Research Centre of Agriculture
Institute of Animal Nutrition
Bundesallee 50
D-38116 Braunschweig
Germany

Manuscripts describing the use of commercial feed products are welcome, but should include the following information: major components, contents of active ingredients (for example enzyme activities). Independent verification, as opposed to a manufacturers guarantee, is always desirable and often avoids difficulties in the review process, especially where there are no, or few, treatment impacts. The Editors reserve the right to reject any manuscript employing such products, where in this information is not disclosed.

Submissions concerning feedstuff composition are welcome when published and/or accepted analytical procedures have been employed. However, unusual

feedstuffs and/or a wide range of data are pre-requisites.

Submissions concerning NIRS may be suitable when more accurate, precise or robust equations are presented. Mathematical, technical and statistical advancement, may constitute the foundation for acceptance. For more details see the editorial in Vol. 118/3-4.

Contact details for submission

Authors should send queries concerning the submission process or journal procedures to AuthorSupport@elsevier.com. Authors can determine the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Human and animal rights

If the work involves the use of animal or human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans

AUTHOR INFORMATION PACK 26 Feb 2014
www.elsevier.com/locate/anifeedsci 5

<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>; EU Directive 2010/63/EU for animal experiments –

http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm; Uniform

Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals
<http://www.icmje.org>.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a Conflict of Interest form can be found at: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/286/p/7923.

Submission declaration

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere including electronically in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

Changes to authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts: *Before the accepted manuscript is published in an online issue*: Requests to add or remove an author or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author

of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our access programs (<http://www.elsevier.com/access>)
- No Open Access publication fee

All articles published Open Access will be immediately and permanently free for everyone to read and download. Permitted reuse is defined by your choice of one of the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution-Non Commercial-Share Alike (CC BY-NC-SA): for noncommercial

purposes, lets others distribute and copy the article, to create extracts, abstracts and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), to include in a collective work (such as an anthology), to text and data mine the article, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation, and license their new adaptations or creations under identical terms (CC BY-NC-SA).

Creative Commons Attribution-Non Commercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND): for non commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work(such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

Elsevier has established agreements with funding bodies, <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

This ensures authors can comply with funding body Open Access requirements, including specific user

licenses, such as CC BY. Some authors may also be reimbursed for associated publication fees. If you need to comply with your funding body policy, you can apply for the CC BY license after your manuscript is accepted for publication.

To provide Open Access, this journal has a publication fee which needs to be met by the authors or their research funders for each article published Open Access.

Your publication choice will have no effect on the peer review process or acceptance of submitted articles.

The publication fee for this journal is **\$2500**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's Web Shop (<http://webshop.elsevier.com/languageediting/>) or visit our customer support site(<http://support.elsevier.com>) for more information.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

Poorly written and/or presented manuscripts (relative to the journal's guidelines) may be returned to authors for upgrading by the editorial office, prior to a review for scientific merit.

Before preparing their manuscript, it is suggested that authors examine the editorial by the Editors-in-Chief in Vol. 134/3-4, which outlines several practices and strategies of manuscript preparation that the Editors-in-Chief have found to be successful. This editorial also outlines practices that can lead to difficulties with reviewers and/or rejection of the manuscript for publication.

Submit your article: Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/anifee/>

Refereces

Please submit, with the manuscript, the names, addresses and e-mail addresses of three potential referees. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

PREPARATION

Use past tense for current findings, and the present tense for "truths" and hypotheses.

Article Structure

Manuscripts should have **numbered lines**, with wide margins and **double spacing** throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. **Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered continuously.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary, one may refer to sections. Avoid excessive use of italics to emphasize part of the text.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

If reference is made to AOAC, ISO or similar analytical procedure(s), the specific procedure identification number(s) must be cited. A number of references for neutral and acid detergent fibre (NDF, ADF) assays exist, and an alternative reference to the now out-of-print USDA Agriculture Handbook 379 must be used. There are many options for NDF and ADF assays (e.g. sodium sulfite, alpha amylase, residual ash), which must be specified in the text. For more details see the editorial in Vol. 118/3-4.

The following definitions should be used, as appropriate:

- a. aNDFom-NDF assayed with a heat stable amylase and expressed exclusive of residual ash.
- b. NDFom-NDF not assayed with a heat stable amylase and expressed exclusive of residual ash.
- c. aNDF-NDF assayed with a heat stable amylase and expressed inclusive of residual ash.
- d. NDF-NDF assayed without a heat stable amylase and expressed inclusive of residual ash.
- e. ADFom-ADF expressed exclusive of residual ash.
- f. ADF-ADF expressed inclusive of residual ash.
- g. Lignin (sa)-Lignin determined by solubilization of cellulose with sulphuric acid.
- h. Lignin (pm)-Lignin determined by oxidation of lignin with permanganate.

While expressions of NDF and ADF inclusive of residual ash will continue to be acceptable (i.e., the terms aNDF, NDF and ADF above), the Editors-in-Chief highly recommend reporting all fibre values, including digestibilities, on an OM

AUTHOR INFORMATION PACK 26 Feb 2014

www.elsevier.com/locate/anifeedsci 8

basis. Silica is partially soluble in ND, is quantitatively recovered in AD, and so may contribute to the 'fibre' values and to subsequent digestibility coefficients. Reporting 'hemicellulose' values as the difference between NDF and ADF is generally only acceptable if the analyses have been sequential on the same sample. Crude fibre (CF), nitrogen-free extract (NFE) and total digestible nutrients (TDN) are not acceptable terms for describing feeds and should only be referred to in a historical context.

Results: Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. Avoid extensive citations and discussion of published literature. Combined 'Results and Discussion' sections are only acceptable for 'Short Communications', except under compelling circumstances.

Conclusions: The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Essential title page information

- ***Title.*** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

- ***Author names and affiliations.*** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- ***Corresponding author.*** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with country and areacode) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.**

- ***Present/permanent address.*** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

The abstract should be clear, descriptive and not longer than 400 words. It should contain the following specific information: purpose of study; experimental treatments used; results obtained, preferably with quantitative data; significance of findings; conclusions; implications of results if appropriate.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts

(avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

AUTHOR INFORMATION PACK 26 Feb 2014
www.elsevier.com/locate/anifeedsci 9

Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult IUB: Biochemical Nomenclature and Related Documents: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/> for further information.

Authors and Editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*. All biotic (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

SI or SI-derived units should be used throughout (e.g. MJ and not Kcal for energy concentrations).

Concentrations should be expressed on a 'per kg' basis (w/w); however, w/v, v/v, mol/mol or M maybe accepted depending on the circumstances. In addition, 'units' and 'equivalents' are acceptable. Normality should be avoided, as it may be ambiguous for certain acids. If analytical standards have been used, they should be specified by name (e.g. yeast RNA) and form (e.g. lactose monohydrate). Percents should only be used when describing a relative increase or decrease in a response. Proportions should be maximum 1.0 or ≤ 1.0 . For more details see the editorial in Vol. 118/3-4. Percent is *only* used to indicate relative changes. For composition, both w/w (often solids composition g/kg) and w/v (e.g. g/L), v/v (e.g. mL), mol/mol or M can be accepted depending on the circumstances. Specify units (e.g. g/L) and never as percent.

Digestibility/metabolisability and degradability should always be expressed as a

coefficient (not %), and the content of, for example, the digestible component should be expressed as g/kg: thus, the coefficient of digestibility of dry matter is 0.8, while the content of digestible dry matter is 800g/kg. A distinction between true and apparent digestibility should be made, as well as between fecal and ileal (e.g. coefficient of total tract apparent digestibility - CTTAD). The terms 'availability' and 'bioavailability' should be avoided without definition in context.

In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca²⁺, not as Ca⁺⁺. Isotope numbers should precede the symbols e.g. ¹⁸O. The repeated use of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full.

Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as P₂O₅).

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of authors' names and dates are exactly the same in the text as in the reference list. The accuracy of the references is the responsibility of the author(s). References published in other than the English language should be avoided, but are acceptable if they include an English language 'Abstract' and the number of non-English language references cited are reasonable (in the view of the handling Editor) relative to the total number of references cited. In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed - if necessary

- by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that..." "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1989, pp. 12-16)".

If reference is made in the text to a publication written by more than two authors, the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.

References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on authors' names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates - publications of the same author with one coauthor - publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 2001a, 2001b, etc.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication. Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your

article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), Introduction to the Electronic Age. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations: <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Phone numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

Additional Information

Authors should use the 'Track Changes' option when revising their manuscripts, so that any changes made to the original submission are easily visible to the Editors. Those revised manuscripts upon which the changes are not clear may be returned to the author. Specific comments made in the Author Comments in response to referees' comments must be organized clearly. For example, use the same numbering system as the referee, or use 2 columns of which one states the comment and the other the response.

AFTER ACCEPTANCE***Use of the Digital Object Identifier***

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*): <http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059> When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

AUTHOR INQUIRIES

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission) please visit this journal's homepage. For detailed instructions on the preparation of electronic art work, please visit <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You can also check our Author FAQs at <http://www.elsevier.com/authorFAQ> and/or contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.

© Copyright 2012 Elsevier | <http://www.elsevier.com>

7 VITA

Paula Gabriela da Silva Pires, filha de Heron Vlademir da Rosa Pires e Leni da Silva Pires, nasceu na cidade de Livramento, RS, em 14 de novembro. Ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) em agosto de 2007 e formou-se em 25 de agosto de 2012. Durante a graduação foi estagiária do Grupo de Estudos em Aves e Suínos (GEASPEL) e realizou estágio curricular na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Emprapa Suínos e Aves (Concórdia, SC). Em abril de 2013, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, área de concentração em Produção Animal e linha de pesquisa em Nutrição e Alimentação de Não-Ruminantes, sob orientação da Dra. Maitê de Moraes Vieira, com término em março de 2015.