



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA**  
**MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL NA**  
**AMAZÔNIA**

**MARCO ANTONIO DE OLIVEIRA VIANA**

**FARELO DE SOJA FERMENTADO EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE**  
**CORTE**

**BELÉM-PA**

**2015**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA**  
**MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL NA**  
**AMAZÔNIA**

**MARCO ANTONIO DE OLIVEIRA VIANA**

**FARELO DE SOJA FERMENTADO EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE**  
**CORTE**

**Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Saúde e Produção Animal na Amazônia: área de concentração – Produção Animal, para obtenção do título de Mestre.**

**Orientador: Prof. Dr. Kedson Raul de Souza Lima**

**BELÉM-PA**

**2015**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA**  
**MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL NA**  
**AMAZÔNIA**

**MARCO ANTONIO DE OLIVEIRA VIANA**

**FARELO DE SOJA FERMENTADO EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE**  
**CORTE**

**Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Saúde e Produção Animal na Amazônia: área de concentração – Produção Animal, para obtenção do título de Mestre.**

Aprovado em:

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Kedson Raul de Souza Lima (Orientador)**  
**Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA**

---

**1º Examinador: Prof. Dr. Cristian Faturi**  
**Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA**

---

**2º Examinador: Prof. Dr. César Augusto López Aguilar**  
**Universidade Federal do Pará – UFPA**

---

**3º Examinador: Profª Drª Elane Guerreiro Giese**  
**Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA**

**BELÉM-PA**

**2015**

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>5</b>
<b>2.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>6</b>
<b>2.1</b>	<b>PepSoyGen®</b>	<b>6</b>
<b>2.1.2</b>	<b>AÇÃO DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS</b>	<b>8</b>
<b>3.</b>	<b>HIPÓTESE</b>	<b>10</b>
<b>4.</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b>	<b>11</b>
<b>4.1</b>	<b>Objetivos específicos</b>	<b>11</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>12</b>
	<b>FARELO DE SOJA FERMENTADO EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE</b>	<b>16</b>
	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>17</b>
	<b>METODOLOGIA</b>	<b>18</b>
	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>23</b>
	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>29</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>30</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>33</b>

---

Viana, Marco Antonio de Oliveira

Farelo de soja fermentado em rações para frangos de corte. /  
Rosangela Souza Corrêa. - Belém, 2015.  
37 f.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Produção Animal na  
Amazônia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2015.  
Orientador: Prof. Kedson Raul de Souza Lima.

1. Rações – Farelo de soja 2. Frangos de corte – Alimentação –  
farelo de soja fermentado 3. Farelo de soja fermentado – Frango de  
corte – alimentação 4. Frango de corte – Morfometria intestinal. 5. I.  
Titulo.

## 1. INTRODUÇÃO

A avicultura de corte brasileira ocupa um papel significativo no cenário mundial, tendo se tornado nos últimos anos o terceiro maior produtor de carne de frango com 12,7 milhões de toneladas, apenas atrás de EUA e China com uma participação de 16,5 e 13,7 milhões de toneladas, respectivamente segundo a União Brasileira de Avicultura (UBABEF, 2014). Cerca de 30% dessa produção é destinada à exportação, fazendo com que a representatividade do país neste aspecto se torne ainda maior com aproximadamente 4 milhões de toneladas de carne de frango exportadas, entre cortes comerciais, produtos industrializados e frango inteiro, isolando o Brasil na liderança das exportações mundiais. O crescimento da atividade no Brasil impulsionou como consequência o consumo de carne de frango no país, sendo o consumo per capita em torno de 45 KG, tornando a carne de frango a mais consumida entre os brasileiros (UBABEF, 2014).

Este perfil de crescimento da atividade se deve em grande parte pela adaptabilidade aos sistemas de criação brasileiros e significantes melhorias nos aspectos genéticos das linhagens utilizadas, provendo aos criadores lotes que alcançam idade de abate em média em 40 dias e peso final significativamente maior. Porém, com o aumento das melhorias ocorre também o aumento das exigências por parte dos animais, que hoje demandam profunda acurácia na formulação de suas rações e utilização de aditivos e novos ingredientes para que sua eficiência digestiva seja maximizada. Um desses ingredientes é o farelo fermentado de soja, que é um produto oriundo da fermentação controlada por microrganismos, cuja vantagem é reduzir os fatores antinutricionais da soja, melhorar a disponibilidade dos aminoácidos da proteína vegetal, que são mais facilmente absorvidos na forma livre ou como dipeptídeos. Há diferentes variações do produto no mercado, mas se destaca o PepSoyGen® (NutraFerm, North Sioux City, SD) objeto de estudo deste trabalho, que propõe obter um aumento nos índices de desempenho através da promoção de uma melhor metabolizabilidade da ração fornecida e melhorias estruturais à porção intestinal no trato pela ação indireta dos microrganismos (*Bacillus subtilis* e o *Aspergillus oryzae*) resultantes do processo de fermentação e que continuam ativos no produto final.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Farelo de Soja Fermentado utilizado (PepSoyGen®)

O processo natural de fermentação e a hidrólise enzimática microbiana que ocorrem em sua fabricação são responsáveis pela redução dos fatores antinutricionais da soja, promovendo uma maior disponibilidade de nutrientes (FENG, *et al*, 2007). O produto final, testado no presente estudo é alcançado pela fermentação gerada pelas cepas de *Bacillus subtilis* e *Apergillus oryzae*, e estas cepas continuam viáveis, promovendo fonte de probióticos (STEIN *et al*, 2008).

Além dos fatores antinutricionais, antígenos e açúcares são removidos pelo processo fermentativo (HONG *et al*, 2004; YANG *et al*, 2007; PAHM, 2008). A proteína presente na soja é hidrolisada durante a fermentação, o que resulta numa redução no tamanho dos peptídeos no produto comparado com o encontrado no farelo de soja padrão (HONG *et al*, 2004), e, segundo os mesmos autores, o farelo de soja fermentado contém aproximadamente 10% mais proteína bruta que o farelo de soja, porém, sua sequência de aminoácidos não é alterada, ou seja, o teor proteico extra se dá como aprimoramento da matéria prima utilizada.

O fermentado de soja, PepSoyGen® (Nutraferma), é um ingrediente comercial de farelo de soja fermentado, que contém peptídeos e é produzido com o objetivo de obter melhoria nos índices de desempenho animal. É obtido através da fermentação de grãos desengordurados e seguem um fluxograma de fabricação que começa com o descasque dos grãos de soja, que posteriormente são esterilizados, são inoculados com cepas de microorganismos vivos (*Bacillus subtilis* e *Apergillus oryzae*) que promovem a fermentação controlada e geram a hidrólise enzimática microbiana. Após este processo, o produto é seco e posteriormente embalado. O produto final contém 91,3% de Matéria Seca (MS), 53,7% de Proteína Bruta (PB), 3,11% de lisina, 0,76% de metionina, 0,8% de extrato etéreo, 3,3% de fibra bruta (FB) e 0,29% de Ca e 0,82% de fósforo (ROJAS, *et al* 2013).

A metabolizabilidade padrão no PepSoyGen® é similar à metabolizabilidade do farelo de soja (PAHM, 2008), no entanto, a adição do produto na dieta contendo o farelo promove melhor desempenho, como comprovado em suínos recém desmamados em estudo proposto por Feng *et al* (2007). Além disso, segundo estudo proposto por Jones *et al* (2010), a adição do produto em rações reduz significativamente a produção de amônia em granjas devido ao melhor aproveitamento do nitrogênio da dieta.

Somadas as ações nutritivas e probióticas relacionadas ao fermentado de soja, outra premissa a ser considerada é a sua efetividade de interação com a qualidade intestinal das aves (JONES *et al*, 2008). Com sua ação sendo explorada nas porções absorptivas do trato e com a eliminação de fatores antinutricionais advindos do farelo de soja, pode-se defender o argumento de que a morfometria das estruturas presentes sejam positivamente afetadas, já que ocorreria a melhora da ação fisiológica. De acordo com Kim *et al* (2007), dietas com altos níveis de proteína provenientes de vegetais, tendem a conter fatores físicos e fisiológicos que interferem de forma marcante na altura de vilos e morfologia intestinal do trato de suínos, sendo tais fatores combatíveis por aditivos fermentados. Com esta premissa, há de se averiguar se o comportamento observado em suínos é transferível em termos de morfometria intestinal de aves.

As características inerentes ao PepSoyGen® trazem à tona a possibilidade de sua utilização como um melhorador de desempenho pela proposição de um produto rico em peptídeos e com presença de organismos ainda vivos que podem exercer ação adicional como probiótico, quando consumidos pelas aves.

O potencial de melhora no desempenho se estabelece na facilitação digestiva ao animal, pois as proteínas, nas suas condições naturais, apresentam uma estrutura tridimensional que oferece poucas ligações susceptíveis ao ataque das enzimas proteolíticas, além de estarem em uma forma que não é apropriada para atravessar as membranas da mucosa do trato intestinal (WEBB, *et al*, 1992). Conseqüentemente, precisam se submeter a um processo que vise que seus constituintes mais simples possam ser liberados e absorvidos, por exemplos dipetídeos.

A digestão da proteína nas aves tem início somente após a chegada do alimento no proventrículo, onde ocorre a secreção de HCl e pepsinogênio. O baixo pH do meio leva a ativação do pepsinogênio à pepsina, que inicia a hidrólise das proteínas no proventrículo e na moela (RUTZ, 2002). Alcançando o duodeno, as proteínas ingeridas sofrem a ação de enzimas secretadas pelo pâncreas e pelo próprio intestino (RUTZ, 2002). Todo esse processo tem como objetivo a degradação das moléculas protéicas até o tamanho em que a absorção seja possível, no trato intestinal. (WEBB, *et al*, 1992). Três são os mecanismos pelos quais os aminoácidos são absorvidos (FRENHANI & BURINI, 1999): transferência passiva por difusão simples, transferência passiva por difusão facilitada e transferência ativa por co-transporte. Ambos os meios de transferência passiva ocorrem sempre a favor de um gradiente de concentração e envolvem, principalmente, aminoácidos livres. Já a absorção ativa ocorre mesmo em situações em que exista uma saturação dos aminoácidos, com o mecanismo

“bombeando” estes aminoácidos para o interior do enterócito. O transporte ativo é mais eficiente, ocorre em maior escala e é o principal mecanismo para a absorção de di e tri-peptídeos, que são absorvidos mais eficientemente que os aminoácidos livres. Alguns fatores poderiam explicar tal fenômeno (FRENHANI & BURINI, 1999): a) aminoácidos livres são bem absorvidos no intestino delgado proximal, sendo que os di e tri-peptídeos são absorvidos em todo o intestino delgado; b) os di e tri-peptídeos são absorvidos 10 vezes mais rapidamente que os aminoácidos livres; c) alguns aminoácidos livres competem pelo mesmo carreador, fazendo com que haja inibição da absorção; d) os di e tri-peptídeos apresentam uma maior absorção do que os tetrapeptídeos (ou moléculas maiores), uma vez que estes precisam ser hidrolisados primeiramente, a fim de serem absorvidos; e e) o transporte de peptídeos possibilita uma maior conservação da energia metabólica, visto que o gasto para se transportar um ou mais aminoácidos através da membrana é idêntico.

O PepSoyGen® sendo fonte de dipeptídeos poderá fornecer uma concentração extra de aminoácidos prontamente disponíveis o que poderia melhorar o desempenho dos animais. Além disso, as fontes de aminoácidos, em suas diversas formas, oriundas de alimentos como o farelo de soja, podem acompanhar elementos antinutricionais produzidos pelo vegetal e que prejudicam a eficiência da digestão da proteína. A produção do fermentado de soja acaba por desativar estes fatores fornecendo uma fonte de aminoácidos livre de agentes inibidores da digestão, como os inibidores de proteases, lectinas ou hemaglutininas, saponinas e proteínas alergênicas, e os oligossacarídeos (BELLAVAR & SNIZEK, 1999).

### 2.1.1 AÇÃO DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS

Os probióticos são definidos como aditivos alimentares que contêm microorganismos vivos e são capazes de promover efeitos benéficos ao hospedeiro por favorecer o equilíbrio da microbiota intestinal (FULLER, 1989). O termo probiótico advém do grego e significa “em favor da vida”, sendo antônimo ao significado de antibiótico, “contra a vida” (COPOLLA & TURNES, 2004). A ação do probiótico no organismo animal, segundo Menten (2002), se estabelece através de seis processos: (1) aderência aos sítios de ligação do epitélio intestinal, gerando competição com bactérias patogênicas; (2) antagonismo direto através da produção de substâncias bactericidas; (3) estímulos ao sistema imunológico; (4) facilitação do processo digestivo e absorptivo; (5) supressão da produção de amônia, que em grande escala pode ser tóxica às células intestinais; e (6) neutralização de enterotoxinas. Ohh (2011) também cita que seus benefícios são observados no aumento da resistência do hospedeiro a patogenias

intestinais, na melhoria de morfologia e função intestinais e, conseqüentemente, na melhoria dos índices de conversão alimentar, ganho de peso e desempenho geral. Por tais características inerentes, a utilização de aditivos probióticos na dieta de frangos de corte vem aumentando, segundo Rekiel *et al* (2007), que postulam o probiótico como sendo um promotor de crescimento natural.

Uma grande variedade de microorganismos vem sendo utilizada como probióticos, incluindo membros dos gêneros *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Enterococcus* (KOENEN *et al*, 2004). Membros do gênero *Bacillus* ocupam uma posição privilegiada nesta relação pela sua forma de proliferação, dada em esporos. Esporos bacterianos são altamente resistentes a uma gama de fatores de estresse físico, como o calor, radiação ultravioleta, pressão e ação química (HOOGE, 2003) e isto torna as bactérias do gênero *Bacillus* particularmente interessantes do ponto de vista industrial, em virtude da menor perecibilidade de produtos associados com sua adição e também pela maior facilidade de acondicionamento, tanto para armazenagem quanto transporte (OGGIONI *et al*, 2003). Cartman *et al* (2008) postulam que a espécie *Bacillus subtilis* apresenta uma vantagem adicional por serem microorganismos comensais, ou seja, fazem parte da população bacteriana natural do frango e auxiliam no processo digestivo. Além disso, os mesmos autores comprovaram que os esporos de *Bacillus subtilis*, administrados oralmente, germinam no trato gastrointestinal, promovendo assim um aumento da carga de ação do aditivo probiótico em questão. Huang *et al* (2008) discorrem sobre a importância do *Bacillus subtilis* comensal no desenvolvimento do tecido linfóide associado ao trato gastrointestinal e na imunidade própria e adaptativa, e, de acordo com os autores, a adição de um aditivo contendo esporos de *Bacillus subtilis* apenas tende a favorecer a resposta imune da ave. Segundo Earl *et al* (2008) a utilização de *Bacillus subtilis* se tornou popular pelas excelentes propriedades fermentativas, alto rendimento do produto e pela total ausência de subprodutos tóxicos. Outras ações benéficas ligadas ao fornecimento de um probiótico a base de *Bacillus subtilis* são: um maior consumo de oxigênio, criando assim um ambiente mais favorável a microorganismos benéficos anaeróbicos; exclusão competitiva de *Escherichia coli*, *Salmonella entérica* e *Clostridium perfringens* e aumento da produção enzimática (BORCHERS *et al*, 2009).

Além das bactérias, outros microorganismos são frequentemente utilizados na nutrição animal por terem ação probiótica, sendo um dos exemplos o *Aspergillus oryzae* (LEE *et al*, 2006). *Aspergillus oryzae* é um fungo filamentoso comumente utilizado no processo fermentativo de grãos. Esse processo é responsável pela produção de enzimas consideradas

benéficas à alimentação animal, em especial a enzima amilase, importante para a saúde intestinal e no processo digestivo.

O *Aspergillus oryzae*, de acordo com Kim *et al* (2003), apresenta características simbióticas com a microbiota natural do trato, em especial com *Lactobacillus*, o que subsequentemente proporciona uma diminuição das concentrações de *Salmonella* e *Escherichia coli*. Também há de se considerar seu efeito na metabolizabilidade de macronutrientes. Han *et al* (1993) constataram que a ação de enzimas amilolíticas e proteolíticas no trato de aves é maximizada na presença do *Aspergillus oryzae*, o que, possivelmente, pode acarretar em uma significativa melhora na digestibilidade nutritiva.

O foco de sua utilização em frangos de corte se dá em parâmetros de desempenho e redução da produção de amônia em galpões. Kim *et al* (2003) reportaram que frangos alimentados com rações adicionadas de *Aspergillus oryzae* apresentaram um aumento em ganho de peso e consumo de ração, além de diminuir significativamente a produção de amônia.

Tais constatações remetem à necessidade de uma avaliação como importância nutritiva e como probiótico do farelo de soja fermentado. Portanto, foi proposto este trabalho, com o intuito de avaliar o uso do farelo de soja fermentado, produto comercial PepSoyGen®, em pequena concentração, no desempenho de frangos de corte, considerando o possível efeito nutritivo (peptídeos livres) e o efeito remanescente do *Bacillus subtilis* e do *Aspergillus oryzae* como ações probióticas.

### **3. HIPÓTESE**

- A utilização do farelo de soja fermentado (PepSoyGen® - Nutraferma) promoverá uma melhora nos índices de desempenho, qualidade da carcaça, morfometria intestinal e metabolizabilidade dos nutrientes.

#### **4. OBJETIVO GERAL**

- Avaliar a utilização do farelo de soja fermentado em diferentes concentrações na alimentação de frangos de corte e sua influência no desempenho das aves, metabolizabilidade do alimento e morfometria do trato intestinal.

##### **4.1 Objetivos específicos**

- Observar se as diferentes concentrações do farelo de soja fermentado (FSF) adicionado em rações de frango de corte afetarão o desempenho produtivo, rendimento de carcaça e rendimento de órgãos.
- Verificar a ação do farelo de soja fermentado (FSF) sobre a metabolizabilidade de nutrientes e da energia metabolizável das rações para frango de corte.
- Avaliar o efeito do farelo de soja fermentado (FSF) nos parâmetros morfométricos das porções intestinais do trato digestivo de frangos de corte.

## REFERÊNCIAS

- Bellaver, C.; Snizek Jr, P. N. 1999. Processamento da soja e suas implicações na alimentação de suínos e aves. In: Congresso Brasileiro da Soja, Londrina, *Anais do Congresso Brasileiro da Soja* Londrina. Embrapa Soja, p.183-199
- Borchers, A. T., Selmi, C., Meyers, F. J., Keen, C. L., Gershwin, M.E., 2009. Probiotics and immunity. *Journal of Gastroenterology*, 44(1), pp.26–46.
- Cartman, S. T., La Ragione, R. M., Woodward, M.J., 2008. *Bacillus subtilis* spores germinate in the chicken gastrointestinal tract. *Applied and environmental microbiology*, 74(16), pp.5254–8.
- Coppola, M.D.M. & Turnes, C., 2004. Probióticos e resposta imune. *Ciência Rural*, pp.1297–1303.
- Earl, A. M., Losick, R., Kolter, R., 2008. Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *Trends in Microbiology*, 16(6), pp.269–275.
- Feng, J., Liu, X., Xu, Z. R., Wang, Y.Z., 2007. Effects of fermented soybean meal on digestive enzyme activities and intestinal morphology in broilers. *Poultry science*, 86(6), pp.1149–1154.
- Frenhani, P.B. & Burini, R.C., 1999. Mechanisms of absorption of amino acids and oligopeptides. Control and implications in human diet therapy. *Arq Gastroenterol*, 36(4), pp.227–237.
- Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. *The Journal of applied bacteriology*, 66(5), pp.365–378.
- Han, S.W., K.W. Lee, B.D. Lee and C.G. Sung, 1999. Effect of feeding *Aspergillus oryzae* culture on fecal microflora, egg qualities, and nutrient metabolizabilities in laying hens. *Asian - Australasian Journal of Animal Sciences*.12: 417-421.
- Hong, K.-J., Lee, C.-H. & Kim, S.W., 2004. *Aspergillus oryzae* GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals. *Journal of medicinal food*, 7(4), pp.430–435.
- Hooge, D., 2003. THE WEEKLY NEWSPAPER FOR AGRIBUSINESS. , 75(3), pp.1–5.

- Huang, Jen-Min, La Ragione, R. M., Nunez, A., Cutting, S.M., 2008. Immunostimulatory activity of *Bacillus* spores. *FEMS immunology and medical microbiology*, 53(2), pp.195–203.
- Jones, C. K., DeRouchey, J. M., Nelssen, J. L., Tokach, M. D., Dritz, S. S., Goodband, R.D., 2010. Effects of fermented soybean meal and specialty animal protein sources on nursery pig performance. *Journal of Animal Science*, 88(5), pp.1725–1732.
- Kim, S.H., S.Y. Park, D.J. Yu, S.J. Lee, K.S. Ryu and D.G. Lee, 2003. Effects of feeding *Aspergillus oryzae* ferments on performance, intestinal microflora, blood serum components and environmental factors in broiler. *Korean Journal Poultry Science*, 30: 151-159.
- Kim, Y. G., Lohakare, J. D., Yun, J. H., Heo, S., Chae, B.J., 2007. Effect of Feeding Levels of Microbial Fermented Soy Protein on the Growth Performance, Nutrient Digestibility and Intestinal Morphology in Weaned Piglets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 20(3), pp.399–404.
- Koenen, M. E., Kramer, J., van der Hulst, R., Heres, L., Jeurissen, S. H. M., Boersma, W.J.A., 2004. Immunomodulation by probiotic lactobacilli in layer- and meat-type chickens. *British poultry science*, 45(3), pp.355–366.
- Lee, K., Lee, S. K., Lee, B.D., 2006. *Aspergillus oryzae* as probiotic in poultry-A review. *International Journal of Poultry Science*, 5(1), pp.1–3.
- Menten JFM. 2002. Probióticos, prebióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. In: 2º Simpósio sobre Ingredientes na Alimentação Animal. Uberlândia, Minas Gerais. Brasil. p. 251-276.
- Oggioni, M. R., Ciabattini, A., Cuppone, A. M., Pozzi, G., 2003. *Bacillus* spores for vaccine delivery. *Vaccine*, 21(SUPPL. 2).
- Ohh, S.J., 2011. Meta analysis to draw the appropriate regimen of enzyme and probiotic supplementation to pigs and chicken diets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(4), pp.573–586.
- Pahm, S. C. F. 2008. Amino acid digestibility of soybean meal fed to pigs. Masters thesis, University of Illinois, Urbana.

- Rekiel A., Wiecek J., Bielecki W., Gajewska J., Cichowicz M., Kulisiewicz J., Batorska M., Roszkowski T., Beyga K. 2007. Effect of addition of feed antibiotic flavomycin, or prebiotic BIO-MOS on production results of fatteners, blood biochemical parameters, morphometric indices of intestine and composition of microflora. *Arch Tierz* 50 Special Issue, 172-80
- Rojas, O. & Stein, H., 2013. Concentration of digestible, metabolizable, and net energy and digestibility of energy and nutrients in fermented soybean meal, conventional soybean meal, and fish. *Journal of animal science*, pp.4397–4405.
- Stein, H. H., L. L. Berger, J. K. Drackley, G. C. Fahey, Jr., D. C. Hernot, C. M. Parsons. 2008. Nutritional properties and feeding values of soybeans and their co-products. pp 613 - 660 in *Soybeans: Chemistry, Production, Processing, and Utilization*. Johnson, L. A., P. J. White, and R. Galloway, ed. AOCS Press, Urbana IL.
- União Brasileira de Avicultura (Brazilian Poultry Association). Relatório Anual, 2014
- Webb, K.E., Matthews, J.C. & DiRienzo, D.B., 1992. Peptide absorption: a review of current concepts and future perspectives. *Journal of animal science*, 70(10), pp.3248–3257.
- Yang, Y.X., Kim, Y.G., Lohakare, J.D., Yun, J.H., 2007. Comparative efficacy of different soy protein sources on growth performance, nutrient digestibility and intestinal morphology in weaned pigs. *Asian - Australasian Journal of Animal Sciences.*, 20(5), pp.775–783.

**Artigo apresentado conforme normas da Revista Brasileira de Ciência Avícola (Brazilian Journal of Poultry Science). ISSN 1516-635X (versão impressa) - ISSN 1806-9061 (versão on-line) (ANEXO A).**

# FARELO DE SOJA FERMENTADO EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE

RESUMO - O presente estudo teve como objetivo avaliar o uso do farelo de soja fermentado (FSF) no desempenho produtivo, metabolizabilidade de nutrientes e na morfometria intestinal de frangos de corte. O produto comercial utilizado foi o PepSoyGen® (Nutraferma). No teste de desempenho, foram utilizados 960 pintos de 1 dia em 40 boxes, sendo 12 machos e 12 fêmeas por box, num delineamento inteiramente casualizado, dispostos em oito repetições de cinco tratamentos: T1 - controle sem adição de PepSoyGen®; T2 - adição de 0,5% de PepSoyGen®; T3 - adição de 1,0% de PepSoyGen®; T4: adição de 1,5% de PepSoyGen®; T5 - adição de 2,0% de PepSoyGen®. Para o teste de metabolizabilidade foi utilizado um total de 400 pintos machos de corte de 14 dias de idade, distribuídos de forma inteiramente casualizada em 40 gaiolas metabólicas. O experimento consistiu dos mesmos cinco tratamentos, com oito repetições e 10 aves/repetição (gaiola). Não foi observado efeito dos níveis de inclusão para as variáveis de desempenho e morfometria intestinal ao final do primeiro experimento. Para a metabolizabilidade, também não foi constatado efeito dos níveis de inclusão do produto. Conclui-se que farelo de soja fermentado (PepSoyGen®) em rações para frangos de corte não interferiu no desempenho produtivo, rendimento da carcaça e suas características, no peso relativo dos órgãos, na metabolizabilidade nutritiva e na morfometria do trato intestinal.

**Palavras-chaves:** Ganho de Peso, Metabolizabilidade, Morfometria Intestinal, Probiótico.

## INTRODUÇÃO

A avicultura industrial está exigindo uma maior acurácia na preparação de rações que resultem em melhoras no desempenho das aves, na redução de custos e na qualidade do produto final para o consumidor. Uma gama de produtos está sendo usada na atividade avícola em substituição a ingredientes brutos ou que foram banidos pela legislação atual. Por exemplo, os aditivos promotores de crescimento possuem restrições em seu uso e uma desconfiança presente na comunidade consumidora, o que levou a indústria a buscar ingredientes substitutos como óleos essenciais, prebióticos e probióticos, mantendo o desempenho competitivo da atividade. Nesta mesma linha surgem outros ingredientes industriais contendo fatores específicos melhoradores de ações digestivas ou mesmo fornecedores de nutrientes diretos que englobam características de alimentos funcionais. Propriedade funcional é o termo empregado ao papel metabólico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo. Portanto, alimentos funcionais são aqueles que além de disponibilizar ao animal a quantidade de nutrientes que lhe é necessária, também fornecem a possibilidade de melhorar outra característica à parte (Souza *et al* 2003). Dentre estes, podemos citar o farelo de soja fermentado (PepSoyGen® - Nutraferma), que é um ingrediente resultante da fermentação do farelo de soja utilizando como organismos fermentadores o *Bacillus subtilis* e o *Aspergillus oryzae* e que vem sendo utilizado com relativo sucesso para suínos. Este produto contém 91,3% de Matéria Seca (MS), 53,7% de Proteína Bruta (PB), 3,11% de lisina, 0,76% de metionina, 0,8% de extrato etéreo, 3,3% de fibra bruta (FB) e 0,29% de Ca e 0,82% de fósforo (ROJAS, *et al* 2013). O produto resultante é rico em peptídeos, livre de fatores antinutricionais, comuns no farelo de soja, e possui a presença de organismos ainda vivos que podem exercer ação como probiótico quando consumidos pelas aves. Portanto, foi proposto este trabalho, com o intuito de avaliar o uso de farelo de soja fermentado (FSF) no desempenho produtivo, nas características da carcaça, no peso relativo dos órgãos auxiliares do processo digestivo, na metabolizabilidade e na morfometria intestinal de

frangos de corte considerando o possível efeito nutritivo (peptídeos livres) e o efeito remanescente do *Bacillus subtilis* e do *Aspergillus oryzae* e como probiótico mantenedor da estrutura intestinal.

## METODOLOGIA

Foram utilizados 960 pintos de 1 dia de idade, machos e fêmeas, pertencentes à linhagem Cobb 500, recebidas já vacinadas contra às doenças de Marek e Gumboro, distribuídas em 40 boxes de canos de PVC e tela plástica (área de 2,5 m<sup>2</sup>), distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, sendo 24 aves em cada boxe (12 machos e 12 fêmeas). A densidade final de criação foi igual a 9,6 aves/m<sup>2</sup> e cada um possuía um bebedouro pendular e um comedouro tubular semi-automático, além de uma lâmpada de infravermelho de 250 W, que promoveu o aquecimento inicial das aves alojadas.

As aves foram pesadas e categorizadas de acordo com uma faixa de peso para que fosse possível se realizar a homogeneização do lote e, após essa fase, foram distribuídos de forma proporcional para o estabelecimento do número final de animais alojados por box (SAKOMURA & ROSTAGNO, 2007). As 40 unidades experimentais foram divididas em um experimento com cinco tratamentos e oito repetições (24 aves por repetição), com os tratamentos consistindo em: Tratamento 1 (T1) - sem adição de PepSoyGen® à ração basal; Tratamento 2 (T2) - adição de 0,5% de PepSoyGen®; Tratamento 3 (T3) - adição de 1,0% de PepSoyGen®; Tratamento 4 (T4) - adição de 1,5% de PepSoyGen® e Tratamento 5 (T5) - adição de 2,0% de PepSoyGen®. O produto foi adicionado à ração basal sem o recálculo dos níveis nutricionais.

As rações seguiram às exigências nutricionais de cada fase, de acordo com as Tabelas Brasileiras de Exigências Nutricionais para Suínos e Aves (ROSTAGNO *et al* 2011). As rações foram constituídas de: milho, farelo de soja, farinha de carne e ossos, calcário, óleo de soja, aminoácidos industriais, premix mineral e vitamínico, e estão dispostas na tabela 1. Não foi retirado o antibiótico promotor de crescimento das rações, esperando que houvesse um efeito combinado dos microrganismos com o mesmo.

Tabela 1. Rações experimentais e suas composições nas diferentes fases de criação

Ingredientes	Inicial	Crescimento	Acabamento
	(1 a 21 dias)	(22 a 35 dias)	(36 a 42 dias)
Milho (%)	58,314	66,535	66,339
Farelo de Soja (%)	32,500	24,500	24,000
Farinha de Carne e Ossos (%)	5,600	5,200	4,800
Calcário (%)	0,390	0,380	0,440
Óleo de Soja (%)	1,900	2,100	3,500
Sal (%)	0,300	0,280	0,290
Metionina (%)	0,088	0,064	0,099
Lisina (%)	0,118	0,161	0,122
Bicarbonato de Sódio (%)	0,190	0,180	0,110
Premix Inicial (%) *	0,600	-	-
Premix Crescimento (%) *	-	0,600	-
Premix Acabamento (%) *	-	-	0,300
Total	100,000	100,000	100,000

#### Composição centesimal

	Inicial	Crescimento	Acabamento
Energia Metabolizável Kcal/kg	2998,6	3100,6	3194,5
Proteína Bruta (%)	22,06	18,96	18,48
Extrato Etéreo (%)	4,95	5,35	6,69
Fibra Bruta (%)	3,53	3,18	3,13
Metionina+cistina (%)	0,94	0,82	0,77
Lisina (%)	1,3	1,12	1,06
Treonina (%)	0,86	0,74	0,72
Matéria Mineral (%)	5,61	5,07	4,78
Cálcio (%)	1	0,93	0,88
Fósforo total (%)	0,68	0,63	0,6
Fósforo útil (%)	0,48	0,45	0,42
Sódio (%)	0,22	0,21	0,19
Cloro %	0,28	0,27	0,27

\*Composição dos premix (Composição por kg do produto) = **Inicial** - Vit. A - 1.666.666,00 UI; Vit. D3 - 333.333 UI; Vit. E - 2.500 mg; Vit. B1 - 250 mg; Vit. B2 - 833 mg; Vit. B6 - 250 mg; Vit. K3 - 416 mg; Vit. B12 - 2.000µg; Biotina - 8 mg; Ácido fólico - 100 mg; Niacina - 5.833, 00 mg; Ácido Pantotênico - 1.717,00mg; Selênio - 33 mg; Cobre - 1.000 mg; Cobalto 16mg; Iodo - 166 mg; Ferro 8.333 mg; Manganês - 10,83g; Zinco - 7.500mg; Colina 50, 16g ; Metionina - 250 g; **Crescimento** - Vit. A - 1.333.333,00 UI; Vit. D3 - 300.000 UI; Vit. E - 2.000 mg; Vit. B1 - 166,00 mg; Vit. B2 - 666 mg; Vit. B6 - 166 mg; Vit. K3 - 333 mg; Vit. B12 - 1.666,00µg; Biotina - 6 mg; Ácido fólico - 67 mg; Niacina - 4.666, 00 mg; Ácido Pantotênico - 1.717,00mg; Selênio - 33 mg; Cobre - 1.000 mg; Cobalto 16mg; Iodo - 166 mg; Ferro 8.333 mg; Manganês - 10,83g; Zinco - 7.500mg; Colina 36,00g ; Metionina - 233,33 g; Salinomicina 10,99 g. **Terminação** - Vit. A - 1.660.000,00 UI; Vit. D3 - 333.000 UI; Vit. E - 2.330,00 mg; Vit. B1 - 100,00 mg; Vit. B2 - 800 mg; Vit. B6 - 200 mg; Vit. K3 - 400 mg; Vit. B12 - 2.000,00µg; Biotina - 6,66 mg; Ácido fólico - 66,60 mg; Niacina - 5.660, 00 mg; Ácido Pantotênico - 1.830,00mg; Selênio - 66,6 mg; Cobre - 2.000 mg; Cobalto 26,6 mg; Iodo - 266 mg; Ferro 16.600,00 mg; Manganês - 17.300,00 mg; Zinco - 12.000mg; Colina 43.000,00mg ; Metionina - 235.000,00 mg; BHT 6,00 mg; BHA 2,00 mg; Etoxiquin - 6,00 mg ; Niacina 5.660,00 mg. Promotor de crescimento inicial e crescimento: Halquinol.

Foram coletados dados das variáveis ambientais (temperatura e umidade relativa do ar) (ANEXO B) através de Data Logger, a cada 10 minutos, durante todo o período experimental. A partir dos dados coletados foi efetuado o cálculo de Índice de Temperatura e Umidade (ITU) segundo Buffington *et al* (1981) onde,  $ITU = 0,72 \times (T_{bs} + T_{bu}) + 40,6$  ( $T_{bs}$ : temperatura de bulbo seco (°C),  $T_{bu}$ : temperatura de bulbo úmido (°C)).

Semanalmente foram coletados, através de pesagem e cálculo por diferença, dados para a avaliação do desempenho produtivo como o peso dos animais, o consumo de ração e mortalidade, para que fosse possível a determinação do ganho de peso total, ganho de peso diário, índice de mortalidade, consumo de ração e conversão alimentar. Todos os dados eram catalogados em fichas de acompanhamento localizadas em cada box e depois salvos em planilhas eletrônicas.

Foi calculado também o Fator de Eficiência Produtiva (FEP), para avaliação do desempenho, levando em consideração o peso vivo, a viabilidade, a idade e a conversão alimentar, conforme equação postulada por Olmos (2009) onde,  $FEP = (\text{PESO VIVO (kg)} \times \text{VIABILIDADE}) / (\text{IDADE (dias)} \times \text{CA}) \times 10$  ( $\text{CA} = \text{Conversão Alimentar (kg ração consumida / kg peso animal)}$ )  $\text{VIABILIDADE} = 100 - (\% \text{Mortalidade})$ .

Ao final do experimento, foi retirada uma ave por unidade experimental representando a média de peso do grupo, totalizando oito aves por tratamento. As aves foram pesadas, identificadas com anilhas que continham seu devido tratamento e repetição e submetidas a jejum de 8 horas. Após o jejum, foram pesadas novamente e abatidas por deslocamento cervical, conforme o protocolo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFRA).

Foram pesados, ainda, coração, intestinos, fígado, moela, pro-ventrículo e pâncreas, para posterior cálculo da relação entre peso corporal da ave viva (em jejum) e o peso individual de cada órgão. Neste momento, amostras de duodeno, jejuno e íleo de cada ave foram retiradas para fixagem para análise posterior das vilosidades e a integridade das aves submetidas aos diversos tratamentos. As amostras intestinais fixadas em formol a 10% foram processadas rotineiramente, procedendo com recorte e posterior desidratação em concentrações crescentes de álcool etílico

(70%, 80%, 90%, 100%), além de diafanização em xilol. Para preparação dos blocos, os fragmentos teciduais foram incluídos em Parafina Paraplast®. Subsequentemente, os blocos foram cortados em micrótomo ZEISS (Hyax M 25) a 5  $\mu$  de espessura para a confecção de lâminas coradas por Hematoxilina-Eosina (HE). Em seguida, foi realizada mensuração das vilosidades intestinais em microscópio para que fossem determinados tamanho de vilosidades e profundidade de cripta.

As carcaças depenadas, sem pés, pescoço, cabeça e vísceras foram pesadas para obtenção da relação rendimento de carcaça com o peso vivo antes do abate.

Concomitante ao experimento de desempenho, foi conduzido um estudo para determinar a metabolizabilidade das rações contendo FSF (PepSoyGen® - Nutraferma).

Foram utilizados 400 pintos machos de corte com 14 dias de idade, distribuídos num delineamento inteiramente casualizado em 40 gaiolas metabólicas. As gaiolas possuíam bandeja coletora de excretas forradas com plástico, além de bebedouros tipo chupeta (*nipple*) e comedouros tipo calha, com água e a ração fornecidas *ad libitum*, sendo as rações testadas as mesmas utilizadas no experimento de desempenho. O experimento consistiu de cinco tratamentos, oito repetições e 10 aves/repetição (gaiola).

Todas as aves passaram inicialmente por um período de quatro dias de adaptação às instalações e dieta, seguidos pelos períodos de coleta estabelecidos para cada tratamento. Após o período de adaptação, foram submetidas a jejum prévio de 6 horas antes do início do fornecimento das rações experimentais, bem como ao final dos 4 dias de coleta, segundo Sakomura & Rostagno (2007).

As rações foram pesadas no início e ao final do período de coleta para quantificar o consumo por unidade experimental e fornecidas à vontade neste período. Os comedouros foram abastecidos de forma suficiente para que fossem evitados desperdícios, porém, não houvesse disputa por alimento.

As coletas de excretas nas bandejas foram realizadas de 12 em 12 horas (8h00 e 20h00), a contar de 12 horas do fornecimento inicial das rações experimentais. Após as coletas, as excretas

foram submetidas à prévia retirada de penas e fragmentos de ração, posteriormente pesadas frescas e acondicionadas em sacos plásticos, identificados por unidade experimental e mantidos em freezer a -20°C.

Diariamente, no período experimental, as sobras de ração foram pesadas para quantificar o consumo de ração total no período. As rações a serem fornecidas foram organizadas em sacos plásticos marcados contendo 1,5kg de ração, para melhor controle do fornecimento. Para a análise, as excretas foram descongeladas à temperatura ambiente, pesadas e homogeneizadas para retirada de uma amostra de 300 g de cada unidade experimental, e seguiram-se os procedimentos laboratoriais do Laboratório de Nutrição Animal do Instituto da Saúde e Produção Animal da UFRA (LABNUTAM/ISPA/UFRA – Belém). Foram determinados: a secagem definitiva (Matéria Seca - MS) (VAN SOEST, 1967), a matéria mineral ou cinzas (VAN SOEST, 1967), o nitrogênio total (KJELDAHL, 1883), a gordura bruta ou estrato etéreo (VAN SOEST, 1967), fibra insolúvel em detergente neutro e em detergente ácido (VAN SOEST, 1963) e, com a utilização de Bomba Calorimétrica, o teor de energia bruta, seguindo os procedimentos descritos pela AOAC (1997).

Com base nos dados de consumo, produção de excretas, análises de MS, N e EB das rações e excretas foi determinada a energia metabolizável aparente (EMA) e aparente corrigida (EMAn), utilizando-se as equações propostas por Matterson *et al* (1965).

Os coeficientes de metabolizabilidade aparente (CM) foram determinados de acordo com a fórmula indicada por Schneider e Flatt (1975) ( $CM\% = \frac{\text{Nutriente consumido (g)} - \text{Nutriente excretado (g)}}{\text{Nutriente consumido (g)}} \times 100$ )

Os dados coletados nos dois experimentos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e realizou-se o procedimento de regressão do programa SAS (SAS, 2002). Foi considerado o ajuste para análise de regressão para o melhor modelo ajustado ( $P < 0,05$  e  $R^2 > 0,50$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao término das três fases de criação, não foi constatado efeito dos níveis de inclusão de FSF para os parâmetros de desempenho aferidos ( $p>0,05$ ) (Tabela 2). Isto evidencia que os valores adicionais possíveis, de aminoácidos, do produto, não melhoraram os dados de desempenho, assim como a presença dos microorganismos *Bacillus subtilis* e *Aspergillus oryzae* não alteraram as variáveis analisadas nos frangos alimentados com concentrações crescentes. Tais resultados se encontram dissonantes dos encontrados por Molnár *et al* (2011), em experimento testando o efeito de diferentes concentrações de probiótico a base de *Bacillus subtilis* sobre o desempenho de frangos de corte. Já Nunes *et al* (2012), trabalhando com a utilização de *Bacillus subtilis* combinado ou não com antibiótico promotor de crescimento (halquinol) não encontraram diferenças para o uso do probiótico, no entanto, houve melhora na conversão alimentar no tratamento do microorganismo combinado com o antibiótico.

Tabela 2. Desempenho de frangos de corte alimentados com PepSoyGen® aos 21 (fase inicial), 35 (fase de crescimento) e 42 (terminação) dias de criação.

Variáveis (21 dias)	Níveis de inclusão						
	0	0,5	1,0	1,5	2,0	CV(%)	RG*
Peso corporal (g)	905	888	906	906	918	4,16	NS
Consumo de ração (g)	1125	1096	1115	1099	1163	6,01	NS
Conversão alimentar	1,24	1,23	1,23	1,21	1,26	3,86	NS
Variáveis (35 dias)	Níveis de inclusão						
	0	0,5	1,0	1,5	2,0	CV(%)	RG
Peso corporal (g)	2125	2103	2148	2158	2143	3,71	NS
Consumo de ração (g)	3334	3281	3330	3310	3366	5,12	NS
Conversão alimentar	1,57	1,56	1,55	1,53	1,57	3,98	NS
Variáveis (42 dias)	Níveis de inclusão						
	0	0,5	1,0	1,5	2,0	CV(%)	RG
Peso corporal (g)	2646	2595	2678	2632	2675	2,79	NS
Consumo de ração (g)	4471	4433	4483	4407	4515	3,16	NS
Conversão alimentar	1,69	1,71	1,67	1,67	1,69	2,28	NS
Viabilidade (%)	96,3	97,4	96,9	97,4	94,2	3,97	NS
GPD** (g/dia)	63	62	64	63	64	2,28	NS
FEP***	359	353	369	364	355	4,88	NS

\*Modelo de regressão; \*\*Ganho de peso diário; \*\*\*Fator de eficiência produtiva, CV - Coeficiente de variação; NS - não significativo

O *Aspergillus oryzae*, assim como o *Bacillus subtilis*, foi inicialmente estudado como agente probiótico em rações para frango de corte e resultados de melhora na digestibilidade dos nutrientes e no desempenho dos animais foram encontrados (LEE, *et al* 2010), no entanto, de forma bem superficial sem muito benefício. Esperava-se que o uso conjunto com o *Bacillus subtilis* pudesse ocasionar melhora no desempenho das aves, o que não ocorreu.

Com a concepção de que os microrganismos oriundos do FSF atuam na colonização da flora intestinal benéfica, além de ser uma fonte nutricional prontamente digestível, esperava-se melhora de desempenho em relação ao tratamento controle, fato este que não foi observado. Estudo anterior usando farelo de soja fermentado (0, 0.5, 1.0, 1.5% de inclusão), mas com outro microrganismo (*Aspergillus niger*) também não diferiu entre as médias das variáveis de desempenho analisadas (MATHIVANAN, *et al* 2006). Essa tendência está de acordo com os resultados encontrados por Chen *et al* (2009) e Mutuş *et al* (2006) em estudo envolvendo utilização de aditivos probióticos sobre desempenho de frangos de corte. Em estudo mais recente, Barnes *et al* (2012), testaram o uso de farelo de soja fermentado (PepSoyGen®) para juvenis de truta arco-íris como eventual substituto à farinha de peixe (0, 10, 20, 30 e 40% da farinha de peixe) e não encontraram diferenças entre as concentrações fornecidas, ou seja, o PepSoyGen® pode substituir até 40% do alimento padrão. É possível que as concentrações reduzidas propostas neste experimento não tragam nenhum benefício no desempenho de frangos de corte, quer seja pelo efeito nutricional, quer seja pelo efeito como probiótico. Já Rojas *et al* (2013), testando diferentes concentrações (2,5 – 9 e 11%) de farelo de soja fermentado (PepSoyGen®) juntamente com a inclusão ou não de farinha de peixe, destacaram que o PepSoyGen® pode efetivamente substituir fontes de proteína de origem animal em leitões desmamados. No entanto, o nível de inclusão foi superior ao proposto neste trabalho.

Não houve efeito da adição do FSF sobre o fator de eficiência produtiva das aves alojadas. Por se tratar de um fator dependente da correlação entre o peso vivo, a viabilidade e a conversão alimentar, variáveis estas que não apresentaram tendência de aumento pela utilização do aditivo, a não significância constatada se encontra de acordo com o padrão demonstrado pelo experimento.

Os resultados obtidos para rendimento de carcaça ao final do experimento podem ser observados na tabela 3.

Tabela 3. Rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com PepSoyGen® aos 42 dias de idade.

Variáveis	Níveis de inclusão					CV(%)	RG*
	0	0,5	1,0	1,5	2,0		
Carcaça (%)	88,5	85,5	86,4	87,2	87,4	2,51	NS
Peito (%)	31,8	31,3	31,8	31,6	32,2	6,02	NS
Coxa e Sobrecoxa (%)	25,4	26,1	25,4	24,9	25,5	6,55	NS
Dorso (%)	19	18	18,4	18	18,4	7,89	NS
Asas (%)	9,1	9,0	9,1	9,0	8,8	7,38	NS
Pescoço (%)	7,5	7	7	7	6,7	12,7	NS

\*Modelo de regressão; CV – Coeficiente de variação; NS – não significativo

Os diferentes níveis de inclusão administrados não influenciaram no rendimento de carcaça e cortes comerciais pesados ( $P > 0,05$ ). Por se tratar de um aditivo rico em peptídeos de soja prontamente absorvíveis, esperava-se um padrão diferente do apresentado, justamente pelo possível aumento do fornecimento nutritivo, especificamente, protéico. De acordo com Leeson (1995), à medida que há incremento da absorção protéica, há aumento do rendimento de peito das aves, por se tratar de uma característica geneticamente aprimorada nas linhagens de frangos de corte. Como não houve constatação desse incremento, os resultados de rendimento estabeleceram um padrão igualitário, sem efeito dos níveis de inclusão do produto.

Quanto ao efeito indireto como probiótico, os resultados obtidos são consonantes aos encontrados por Domingues *et al* (2014), em experimento avaliando o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas contendo probiótico nas diferentes fases de criação, e também estão de acordo com os resultados encontrados por Molnár *et al* (2011).

Não foi observado efeito dos níveis de inclusão do FSF, para os órgãos (relativos ao peso vivo) aferidos, como demonstrado na tabela 4.

Tabela 4. Peso relativo de órgãos de frangos de corte alimentados com diferentes concentrações de FSF.

Variáveis	Níveis de inclusão					CV(%)	RG
	0	0,5	1,0	1,5	2,0		
Proventrículo (%)	0,35	0,35	0,38	0,34	0,36	16,27	NS
Moela (%)	1,38	1,3	1,4	1,24	1,41	10,47	NS
Intestinos (%)	3,41	3,5	3,62	3,51	3,5	12,02	NS
Pâncreas (%)	0,2	0,17	0,22	0,19	0,18	23,13	NS
Coração (%)	0,41	0,4	0,44	0,42	0,41	17,52	NS
Fígado (%)	1,87	1,69	1,88	1,76	1,79	14,83	NS

\*Modelo de regressão; CV – Coeficiente de variação; NS – não significativo

Em poucos estudos foram observados efeitos significativos sobre o peso ou o desenvolvimento dos órgãos internos seguindo a utilização de probióticos. Chen *et al* 2009), em estudo envolvendo a utilização de um composto fermentado (*Bacillus subtilis* e *Saccharomyces cerevisiae*) sobre o desempenho relativo de órgãos de frangos, observaram diminuição do tamanho do fígado dos animais tratados em comparação com o controle negativo. Há de se confirmar em estudos futuros o efeito de probiótico no fígado, pois segundo os autores, não há como definir se a diminuição foi gerada pela mistura probiótica ou por uma das cepas especificamente, porém, é uma variável a ser tratada com mais minúcia em experimentos envolvendo o FSF contendo associação entre *Apergillus oryzae* e *Bacillus subtilis*.

A metabolizabilidade da dieta não foi influenciada pela adição do PepSoyGen® em nenhum de seus níveis de inclusão, como demonstrado na tabela 5.

Tabela 5. Coeficientes de metabolizabilidade das rações, energia metabolizável aparente e corrigida para balanço de nitrogênio dos frangos de corte alimentados com PepSoyGen®.

Variáveis	Níveis de inclusão					CV(%)	RG*
	0	0,5	1,0	1,5	2,0		
MMS	76,14	75,57	76,31	76,72	75,96	1,66	NS
MPB	65,18	66,17	65,61	67,78	66,27	4,05	NS
EMA	2743	2746	2674	2782	2756	6,55	NS
EMAn	2478	2511	2464	2551	2553	5,62	NS
MEE	58,73	66,93	60,47	59,97	62,43	8,71	NS
MFDN	57,65	46,51	52,16	52,72	60,52	9,36	NS
MFDA	51,88	46,05	45,47	43,50	56,27	10,20	NS

\*Modelo de regressão; CV – Coeficiente de variação; NS – não significativo; MMS – metabolizabilidade da matéria seca; MPB – metabolizabilidade da proteína bruta; MEE – metabolizabilidade do extrato etéreo; MFDN – metabolizabilidade de fibras em detergente neutro; MFDA – metabolizabilidade de fibras em detergente ácido; EMA – energia metabolizável aparente; EMAn – energia metabolizável corrigida para balanço de nitrogênio.

As análises estatísticas demonstram que os resultados de coeficientes de metabolizabilidade dos nutrientes e a energia metabolizável das rações foram semelhantes entre os tratamentos suplementados ou não com diferentes concentrações de FSF. Desta forma, embora o aditivo proponha favorecer a saúde intestinal das aves e ainda adicione uma carga nutritiva extra à dieta, neste estudo não proporcionou uma melhora na absorção dos nutrientes. Esses resultados discordam dos observados por Tournut (1998), que demonstrou que utilização de aditivos probióticos, administrados através da dieta, elevou os valores da energia metabolizável da ração. A ineficiência do uso do farelo de soja fermentado utilizado no presente estudo pode estar ligada ao fato de que o efeito sobre a metabolizabilidade não se dá de forma direta, e sim um possível efeito indireto associado às atividades promovidas junto à comunidade microbiana presente no trato digestório. Segundo Santos (2012), este efeito pode ser afetado por uma série de fatores, tais como picos de temperatura e um possível desafio sanitário, o que não foi medido neste trabalho em questão.

Levando-se em consideração que parâmetros de desempenho das aves (tabela 3) e de morfometria das porções intestinais (tabela 7) não sofreram interferência com a adição do produto, a resposta em relação à metabolizabilidade é coerente. Porém, pelo que o produto se propõe e a sua forma de inclusão (com uma carga nutritiva adicionada sem recálculo de valores nutritivos da dieta), era de se esperar um resultado seguindo um padrão de melhora, principalmente em relação às porções nitrogenadas. No entanto, a semelhança nos resultados para metabolizabilidade da proteína permite deduzir que não houve excesso ou perda na disponibilidade dos aminoácidos.

Além da metabolizabilidade aparente, o produto tem por objetivo a melhora estrutural e, por consequência, fisiológica alcançada na região intestinal. Com isso, foram avaliadas variáveis ligadas à morfometria intestinal das aves abatidas. A tabela 6 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 6. Altura de vilos, profundidade de cripta e relação vilos/cripta das porções intestinais do trato de frangos de corte alimentados com diferentes concentrações de FSF.

Variáveis	Níveis de inclusão						CV(%)	RG*
	0	0,5	1	1,5	2,0	2		
VI	Duodeno	1201,6	1374,3	1574,2	1433,1	1404,0	16,1	NS
	Jejuno	1147,2	1142,9	1222,9	1189,9	1199,4	14,3	NS
	Íleo	894,5	966,3	930,5	968,3	904,4	18,3	NS
CR	Duodeno	473,1	391,3	480,8	438,6	483,3	15,2	NS
	Jejuno	381,6	330,2	343,9	375,7	373,5	19,3	NS
	Íleo	328,5	299,7	322,5	325,7	331,8	22,3	NS
VI/CR	Duodeno	2,61	3,52	3,28	3,38	2,95	21,2	NS
	Jejuno	3,06	3,63	3,66	3,24	3,33	23,2	NS
	Íleo	3,04	3,31	3,03	3,06	2,76	27,8	NS

\*Modelo de regressão; CV – Coeficiente de variação; NS – não significativo; VI– Altura de vilos; CR – Profundidade de cripta; VI/CR –relação vilos/cripta.

Não houve efeito dos níveis de inclusão de FSF sobre os parâmetros de morfometria intestinal avaliados. As três porções responsáveis pela digestão e absorção corroboram com os demais resultados avaliados neste trabalho e não interferiram nas variáveis estudadas. A literatura é variável quanto aos padrões morfométricos e sobre a metodologia utilizada para medição dos valores, assim como as características (TOMASI, 2006), porém, tendo os dados do presente estudo seguido o mesmo padrão, estatisticamente, a resposta alcançada pode ser considerada verdadeira ao que o experimento se predispôs. A importância em medir este parâmetro está em razão do número de vilosidades e seu tamanho, bem como o de microvilos, em cada segmento do intestino delgado, que conferem a eles características próprias, sendo que na presença de nutrientes a capacidade absorptiva do segmento será diretamente proporcional ao número de vilosidades ali presentes, tamanho dos vilos e área de superfície disponível para a absorção (MACARI, 1999).

O ambiente controlado e, supostamente, livre de patógenos pode ter garantido uma boa integridade das células de absorção. Relatos de Cook & Bird (1973) indicam que aves criadas em ambientes livres de patógenos apresentam uma redução na altura de vilos, bem como na profundidade de cripta, sugerindo que o crescimento normal do epitélio intestinal dependa também do equilíbrio da microbiota ali residente. Assim, a integridade da mucosa do trato intestinal

conferiria ao frango de corte condições adequadas para a digestão e absorção dos nutrientes, fator este que não foi alterado pela inclusão em diferentes concentrações do FSF.

O uso de FSF como possível fornecedor de microrganismos como probiótico e melhorador de desempenho, pode estar aquém das concentrações necessárias que seriam suficientes para alterar o equilíbrio da microbiota intestinal, indicando que seriam necessários outros estudos para verificar um possível efeito.

## **CONCLUSÃO**

O farelo de soja fermentado nas diferentes concentrações propostas neste trabalho não interferiu no desempenho produtivo, rendimento da carcaça e suas características, no peso relativo dos órgãos, na metabolizabilidade nutritiva e na morfometria do trato intestinal em frangos de corte.

## REFERÊNCIAS

- AOAC INTERNATIONAL. Official methods of analysis. 16<sup>a</sup> ed., 3<sup>a</sup> rev. Gaithersburg: Published by AOAC International. v.2, cap. 32, p.1-43. 1997.
- BARNES, M. E., BROWN, M. L., BRUCE, T., SINDELAR, S., NEIGER, R. Rainbow trout rearing performance, intestinal morphology, and immune response after long-term feeding of high levels of fermented soybean meal. **North American Journal of Aquaculture**, v. 76, n. 4, p. 333–345, 2014.
- BUFFINGTON, D. E.; COLLOAZO-AROCHO, A.; CANTON, G. H.; *et al.* Black Globe Humidity Index (BGHI) as Comfort Equation for Dairy Cows. **Transactions of the ASABE**, p. 711–714, 1981.
- CHEN, K. L., KHO, W. L., YOU, S. H., YEH, R. H., TANG, S. W., HSIEH, C. W. Effects of *Bacillus subtilis* var. natto and *Saccharomyces cerevisiae* mixed fermented feed on the enhanced growth performance of broilers. **Poultry science**, v. 88, n. 2, p. 309–315, 2009.
- COOK, R.H. & BIRD, F.H. Duodenal villus area and epithelial cellular migration in conventional and germ-free chicks. **Poultry Science** 52:2276-2280. 1973.
- DOMINGUES, C. H. F., SANTOS, E. T., CASTIBLANCO, D. M. C., QUADROS, T. C. O., PETROLI, T. G., DUARTE, K. F., JUNQUEIRA, O. M. Avaliação do desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas contendo probiótico nas diferentes fases de criação. **Revista Agrocientífica**, p. 7–16, 2014.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. **The Journal of applied bacteriology**, v. 66, n. 5, p. 365–378, 1989.
- KJELDAHL, J. Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern, **Zeitschrift für Analytische Chemie**. 22, 366-382. 1883.
- LEE, K. W., LEE, S. H., LILLEHOJ, H. S., LI, G. X., JANG, S. I., BABU, U. S., PARK, M. S., KIM, D. K., LILLEHOJ, E. P., NEUMANN, A. P., REHBERGER, T. G., SIRAGUSA, G. R. Effects of direct-fed microbials on growth performance, gut morphometry, and immune characteristics in broiler chickens. **Poultry science**, v. 89, n. 2, p. 203–216, 2010.
- LEESON, S. Nutrição e qualidade da carcaça de frangos de corte. CONFERÊNCIA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Curitiba. Anais... Curitiba: FACTA, p.111-118. 1995.
- MACARI, M. Fisiologia do Sistema Digestivo das Aves (I). Aves e Ovos, 08/09, 2-20. 1999.
- MATHIVANAN, R., SELVARAJ, P., NANJAPPAN, K. Feeding of fermented soybean meal on broiler performance. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 9, p. 868–872, 2006.
- MATTERSON, L.D.; POTTER, L.M.; STUTZ, M.W. The metabolizable energy of feed ingredients for chickens. **Agricultural Experimental Station Research Report**, v.7, p.3-11, 1965.
- MOLNÁR, A. K., PODMANICZKY, B., KÜRTI, P., TENK, I., GLÁVITS, R. VIRÁG, G. Y., SZABÓ, Z. S. Effect of different concentrations of *Bacillus subtilis* on growth performance, carcass

quality, gut microflora and immune response of broiler chickens. **British poultry science**, v. 52, n. 6, p. 658–665, 2011.

MOUNTZOURIS, K. C., TSITRSIKOS, P., PALAMIDI, I., ARVANITI, A., MOHNL, M., SCHATZMAYR, G., FEGEROS, K. Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. **Poultry science**, v. 89, n. 1, p. 58–67, 2010.

MUTUŞ, R., KOCABAGLI, N., ALP, M., ACAR, N., EREN, M., GEZEN, S. S. The effect of dietary probiotic supplementation on tibial bone characteristics and strength in broilers. **Poultry science**, v. 85, n. 9, p. 1621–1625, 2006.

NUNES, J. O., BERTECHINI, A. G., ÁVITO, J., BRITO, G., FASSANI, E. J., MESQUITA, F. R., MAKIYAMA, L., MENEGHETTI, C. Evaluation of the use of probiotic (*Bacillus subtilis* C-3102) as additive to improve performance in broiler chicken diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, n. 2002, p. 2374–2378, 2012.

O'DEA, E. E., FASENKO, G. M., ALLISON, G. E., KORVER, D. R., TANNOCK, G. W., GUAN, L. L. Investigating the effects of commercial probiotics on broiler chick quality and production efficiency. **Poultry science**, v. 85, n. 10, p. 1855–1863, 2006.

OLIVEIRA, R. F. M., DONZELE, J. L., ABREU, M. L. T. Efeitos da temperatura e da umidade relativa sobre o desempenho e o rendimento de cortes nobres de frangos de corte de 1 a 49 dias de idade Effects of temperature and relative humidity on performance and yield of noble cuts. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2006.

OLMOS, A. R. Respostas de frangos de corte fêmeas de duas linhagens a dietas com diferentes perfis protéicos ideais. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Agronomia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 107p. 2008

ROJAS, O. J., STEIN, H. H. Concentration of digestible, metabolizable, and net energy and digestibility of energy and nutrients in fermented soybean meal, conventional soybean meal, and fish. **Journal of animal science**, p. 4397–4405, 2013.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, L.S.T.; EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 252p. 2011.

SAKOMURA, N.; ROSTAGNO, H. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Funep, 2007.

SANTOS, I. I. Probiótico e enzimas na alimentação de frangos de corte: efeitos na metabolizabilidade das dietas e produção de dejetos na fase de crescimento. **Biotemas**, v. 25, n. 2, p. 187–191, 2012.

SAS Intstitute Inc. SAS/STAT software, version 9. Cary, NC, USA. 2002.

SCHNEIDER, B.H.; FLATT, W.P. The evaluation of feeds through digestibility experiments. **Athens: University Georgia**, 423p. 1975.

SOEST, P. J. VAN. Development of a Comprehensive System of Feed Analyses and its Application to Forages. **Journal of Animal Science**, v. 26, n. 1, p. 119–128, 1967.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. *Boletim da SBCTA*. v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

TINÔCO, I. F. F. Ambiência e instalações para a avicultura industrial. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, 27, e Encontro Nacional de Técnicos, Pesquisadores e Educadores de Construções Rurais, 3, 1998, Poços de Caldas. *Anais...* Lavras: UFLA/SBEA, p.1-86. 1998.

TOMASI, P. H. D. Avaliação de vacinas contra coccidiose e a utilização de peptídeos em frangos de corte. *Dissertação (Mestrado)*, 2006. Curitiba - PR.

TOURNUT, J.R. Probiotics. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, Botucatu. *Anais...* Botucatu: SBZ, p.179-199. 1998.

## ANEXOS

ANEXO A - Normas da Revista Brasileira de Ciência Avícola (Brazilian Journal of Poultry Science).

### **Artigos científicos**

O manuscrito deve conter os resultados de pesquisas originais que contribuem de modo relevante para o avanço da ciência avícola. Se alguma parte dos resultados já tiver sido publicada anteriormente como um resumo ou pequeno trabalho em algum evento científico, esta informação precisa constar no trabalho. Manuscritos que tragam novos conceitos, metodologias ou abordagens experimentais inovadoras terão prioridade.

O manuscrito deve ter as seguintes sessões: Título, Autor(es), Endereço para correspondência, Resumo, Palavras-chave, Introdução, Materiais e métodos, Resultados, Discussão, Referências e Agradecimentos que devem ser incluídos após a Discussão.

As sessões Resultados e Discussão podem ser apresentadas em conjunto. O resumo deve ter no máximo 250 (duzentas e cinquenta) palavras. As palavras-chave devem vir imediatamente após o resumo, em ordem alfabética, devem ser no máximo 5 (cinco) e devem ser palavras ou expressões que identifiquem o conteúdo do artigo.

**Formato:** cada manuscrito original deve ser devidamente identificado pelo título e nome(s) do(s) autor(es). A fonte utilizada deve ser Times New Roman (tamanhos de fonte: 16pt para o título, 14pt para os subtítulos no corpo do texto e 12pt para o corpo do texto), em espaçamento duplo e em papel A4 (21,0 x 29,7cm) com margens de 2 cm. As linhas e páginas devem ser numeradas consecutivamente. O manuscrito deve ser salvo em **.doc** (Microsoft Word ou editor de texto compatível). Somente nomenclaturas oficiais e reconhecidas serão aceitas. Abreviações não devem ser utilizadas no título.

**Tabelas:** as tabelas devem ser numeradas consecutivamente em números indos-arábicos e devem ter um título descritivo. Todas as explicações devem ser dadas em uma legenda imediatamente abaixo da figura. Todas as abreviações que apareçam na tabela devem ser explicadas

nesta legenda, mesmo que sejam também explicadas no corpo do texto. As tabelas devem poder ser compreendidas sem qualquer referencia ao corpo do texto.

**Ilustrações (fotografias, gráficos e desenhos):** as ilustrações devem ser numeradas consecutivamente em números indos-arábicos e devem ser enviadas no mesmo documento (arquivo) mas em páginas separadas, que devem também trazer o nome do artigo, o(s) nome(s) do(s) autor(es) e a indicação do local no corpo do texto onde a ilustração deve aparecer. Fotografias, figuras e material escaneado devem ser enviados em alta resolução (no mínimo 600 dpi) e no formato **.tif** ou **.jpg**. As figuras serão publicadas em preto e branco. Um acordo em relação aos custos da impressão colorida deve ser firmado caso o autor deseje publicar as ilustrações coloridas.

**Unidades:** o Sistema Internacional de Unidades (SI) deve ser usado para medidas e abreviações.

**Referências:** as referências devem aparecer em ordem alfabética de acordo com o sobrenome do autor. A lista completa de referências deve ser mencionada. Todos os autores de cada artigo devem ser citados.

Exemplos:

Bakst MR, Gupta K, Akuffo V. Comparative development of the turkey and chicken embryo from cleavage through hypoblast formation. *Poultry Science* 1997; 76(1):83-90.

Bouzoubaa K, Nagaraja KV. Epidemiological studies on the incidence of salmonellosis in chicken breeder/hatchery operations in Marocco. In: Snoeyenbos GH, editor. *Proceedings of the International Symposium on Salmonella*; 1984; Kenneth Square, PA: American Association Avian Pathologists; 1985. p.337.

Briceno WNO, Guimarães FCR, Cruz FGG. Efeitos da densidade populacional de frangos de corte em época quente no município de Manaus. In: *10o Congresso Brasileiro de Avicultura*; 1987; Natal, Rio Grande do Norte. Brasil. p. 131-2.

Gabriel JE. Efeitos do nível energético da ração e do estresse térmico na expressão da proteína de choque térmico Hsp70 e nos níveis do seu mRNA no fígado de frangos de corte em diferentes estágios de desenvolvimento. [Dissertation]. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista; 1996.

Ginsburg M. Primordial germ cell development in avians. *Poultry Science* 1997; 76(1):91-5.

Simon VA, Oliveira C. Vacinação em avicultura através da água de bebida. In: Macari M, editor. *Água na avicultura industrial*. Jaboticabal: Funep-Unesp; 1996. p. 73-85.

Summers JD, Leeson S. *Commercial poultry nutrition*. 2 ed. New York; N.Y / State Manual Book & Periodical Services; 1997.

**Citações no corpo do texto:** o sobrenome do autor deve ser seguido pelo ano em parênteses. No caso de dois autores, os dois sobrenomes devem aparecer. No caso de mais de dois autores, a citação deve ser feita usando-se o sobrenome do primeiro autor seguido pela expressão *et al.*(em itálico).

Exemplos:

Simon (1996)

Silva & Silva (1988)

Briceno *et al.* (1987)

## ANEXO B - Variáveis ambientais coletadas durante o período experimental.

Idade (dias)	Temperatura Média (°C)	Umidade relativa (%)	ITU
7	28,9	81,7	80,06
14	28,3	84,5	79,46
21	28,5	87,1	79,91
28	26,7	89,3	77,56
35	28,1	87,2	79,23
42	27,7	89,5	79,04

## ANEXO C - Valores de desempenho preconizados pelo manual de linhagem para lotes mistos.

<b>Cobb500 Broiler Performance &amp; Nutrition Supplement</b>						
<b>Performance objectives - metric</b>						
<b>AS HATCHED</b>						
Age days	Weight for Age	Daily Gain (g)	Average Daily Gain (g)	Cumulative Feed Conversion	Daily Feed Consumption (g)	Cumulative Feed Consumption (g)
0	42					
1	52	10				
2	66	14				
3	81	15				
4	100	19				
5	122	22				
6	148	26				
<b>7</b>	<b>177</b>	<b>29</b>	<b>25.3</b>	<b>0.847</b>		<b>150</b>
8	208	31	26.0	0.865	30	180
9	242	34	26.9	0.888	35	215
10	279	37	27.9	0.914	40	255
11	320	41	29.1	0.938	45	300
12	364	44	30.3	0.962	50	350
13	410	46	31.5	0.988	55	405
<b>14</b>	<b>459</b>	<b>49</b>	<b>32.8</b>	<b>1.013</b>	<b>60</b>	<b>465</b>
15	511	52	34.1	1.039	66	531
16	567	56	35.4	1.063	72	603
17	626	59	36.8	1.088	78	681
18	688	62	38.2	1.112	84	765
19	753	65	39.6	1.135	90	855
20	821	68	41.1	1.158	96	951
<b>21</b>	<b>891</b>	<b>70</b>	<b>42.4</b>	<b>1.182</b>	<b>102</b>	<b>1053</b>
22	964	73	43.8	1.205	109	1162
23	1039	75	45.2	1.230	116	1278
24	1115	76	46.5	1.257	123	1401
25	1193	78	47.7	1.283	130	1531
26	1272	79	48.9	1.311	137	1668
27	1353	81	50.1	1.339	144	1812
<b>28</b>	<b>1436</b>	<b>83</b>	<b>51.3</b>	<b>1.367</b>	<b>151</b>	<b>1963</b>
29	1521	85	52.4	1.394	158	2121
30	1608	87	53.6	1.422	165	2286
31	1697	89	54.7	1.448	172	2458
32	1788	91	55.9	1.475	179	2637
33	1880	92	57.0	1.502	186	2823
34	1973	93	58.0	1.529	193	3016
<b>35</b>	<b>2067</b>	<b>94</b>	<b>59.1</b>	<b>1.556</b>	<b>200</b>	<b>3216</b>
36	2162	95	60.1	1.581	202	3418
37	2257	95	61.0	1.604	203	3621
38	2352	95	61.9	1.627	205	3826
39	2447	95	62.7	1.648	206	4032
40	2542	95	63.6	1.668	208	4240
41	2637	95	64.3	1.687	209	4449
<b>42</b>	<b>2732</b>	<b>95</b>	<b>65.0</b>	<b>1.705</b>	<b>210</b>	<b>4659</b>
43	2826	94	65.7	1.724	212	4871
44	2919	93	66.3	1.742	214	5085
45	3011	92	66.9	1.761	216	5301
46	3102	91	67.4	1.779	218	5519
47	3192	90	67.9	1.798	220	5739
48	3281	89	68.4	1.817	222	5961
<b>49</b>	<b>3369</b>	<b>88</b>	<b>68.8</b>	<b>1.836</b>	<b>224</b>	<b>6185</b>
50	3456	87	69.1	1.855	225	6410
51	3542	86	69.5	1.874	226	6636
52	3627	85	69.8	1.892	226	6862
53	3711	84	70.0	1.910	227	7089
54	3794	83	70.3	1.928	227	7316
55	3876	82	70.5	1.946	228	7544
<b>56</b>	<b>3958</b>	<b>82</b>	<b>70.7</b>	<b>1.964</b>	<b>228</b>	<b>7772</b>