

WARLEY JUNIOR ALVES

**AVALIAÇÃO DO PROCESSAMENTO DA SOJA INTEGRAL EXTRUSADA E DA
PROTEASE EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Melissa Izabel Hannas

Coorientadores: Horácio Santiago Rostagno
Luiz Fernando Teixeira Albino

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

A474a
2022
Alves, Warley Junior, 1989-
Avaliação do processamento da soja integral extrusada e da protease em dietas para frangos de corte / Warley Junior Alves. – Viçosa, MG, 2022.

1 tese eletrônica (49 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Melissa Izabel Hannas.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia, 2022.

Referências bibliográficas: f. 36-38.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.409>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Frango de corte - Alimentação e rações. 2. Soja como ração. 3. Protease. I. Hannas, Melissa Izabel, 1974-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 636.50852

Bibliotecário(a) responsável: Euzebio Luiz Pinto CRB 6/3317

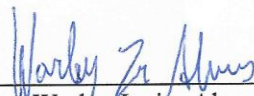
WARLEY JUNIOR ALVES

**AVALIAÇÃO DO PROCESSAMENTO DA SOJA INTEGRAL EXTRUSADA E DA
PROTEASE EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

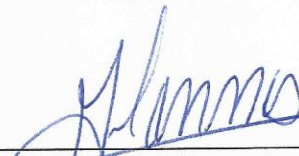
APROVADA: 18 de abril de 2022.

Assentimento:



Warley Junior Alves

Autor



Melissa Izabel Hannas

Orientadora

*A minha Mãe, Sônia Alves
e ao Professor Fabyano Fonseca e Silva
companheiros de todas as horas
Orientadores nos momentos difíceis*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por minha vida, família e pessoas maravilhosas que tenho ao meu redor.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de fazer o doutorado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa.

A TECTRON (Tectron - Tecnologia e Inovação. Toledo, PR, Brasil) pelo fornecimento das enzimas e por todo apoio.

Aos funcionários do Setor de Avicultura da UFV, por todo auxílio.

A Fernanda e ao Gabriel da secretaria de Pós-graduação que sempre prontamente me ajudaram nas inúmeras vezes que precisei.

A professora Melissa Izabel Hannas, pela orientação, ensinamentos, apoio e confiança. Por não ter medidos esforços para me proporcionar a mais completa formação.

Ao Professor Fabyano Fonseca e Silva (*in memoriam*) pela ajuda e orientação em todos os momentos que precisei. Atendendo sempre de forma cordial, acolhedora e alegre.

Aos meus coorientadores, Professor Horácio Santiago Rostagno e Professor Luiz Fernando Teixeira Albino pela confiança, ensinamentos e contribuição.

Aos demais professores, colegas e funcionários do Departamento de Zootecnia que de alguma forma contribuíram para a conclusão de mais uma etapa em minha vida.

A minha mãe, Sônia Alves, que tanto batalhou para criar e educar seus filhos, e sempre me impulsionou a trilhar os caminhos corretos.

Aos membros da banca de doutorado, Dra. Natalia Cristina Milani, Dr. Jorge Cunha Lima Muniz, Dr. Julio Maria Ribeiro Pupa e o Professor Luiz Fernando Teixeira Albino, pelo aceite e contribuição na melhoria do meu trabalho.

Aos amigos e companheiros de pós-graduação, fundamentais para a execução deste trabalho: Jorge, Joyce, Pedro Arnaut, Lucimauro, Thiago, Gustavo e Rogervânia.

Aos graduandos que trabalharam com ímpeto e dedicação em todas as atividades: Pedro Careli, Filipe, Carolaine, Marcos, Amanda, Evelyn, Karine, Yago e Paulo Henrique.

Aos meus amigos Hallef, Jorge, Rayanne e Darlan, pela paciência que tanto demandei, apoio, incentivo, companheirismo, amizade e carinho.

Agradecimento especial ao meu melhor amigo Rodrigo Lorenzoni, companheiro que espero levar por toda a vida. Por ter me norteado, impulsionado e apoiado em todos os momentos. E por fazer esta jornada menos árdua e mais feliz.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

BIOGRAFIA

Warley Junior Alves, filho de Odário Alves Ferreira e Sônia Aparecida Rodrigues Alves, nasceu em Lagoa da Prata – MG, em agosto de 1989.

Em março de 2011, ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa na cidade de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Obtendo por esta instituição o título de Bacharel em Zootecnia em janeiro de 2016. Neste mesmo ano iniciou seu mestrado em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil na área de nutrição e modelagem das exigências nutricionais de aves.

Em fevereiro de 2018, obteve o título de Mestre em Zootecnia. Em março de 2018 retorna a Universidade Federal de Viçosa para dar início ao seu doutorado em Zootecnia com especialização em nutrição e produção de aves e suínos na UFV. Em abril de 2022, submeteu-se a defesa da tese para obtenção do título de Doctor Scientiae em Zootecnia.

RESUMO

ALVES, Warley Junior, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2022. **Avaliação do processamento da soja integral extrusada e da protease em dietas para frangos de corte.** Orientadora: Melissa Izabel Hannas. Coorientadores: Horácio Santiago Rostagno e Luiz Fernando Albino.

Dois experimentos foram realizados com o objetivo de avaliar a adição de protease em dietas contendo soja integral extrusada (SIE) em diferentes níveis de processamento (sub processada (U-SIE), padrão (S-SIE) e super processada (O-SIE) sobre o desempenho, utilização de nutrientes, morfologia de órgãos do sistema digestório, atividade de enzimas antioxidantes e da tripsina jejunal de frangos de corte de 1 a 42 dias de vida (d). No experimento 1, 1560 pintos Cobb com 1-d de vida foram distribuídos inteiramente ao acaso em esquema fatorial 2x3, sendo sem ou com a protease adicionada em 0.12g/kg de ração e 3 SIE (U-SIE, S-SIE ou O-SIE), com 13 repetições cada. No experimento 2, 240 frangos com 22 dias foram distribuídos aleatoriamente em esquema fatorial 2x3, sem ou com a protease e 3 SIE (U-SIE, S-SIE ou O-SIE) com 8 repetições cada. Frangos que consumiram dieta com O-SIE apresentaram ($p<0.05$) maior peso corporal aos 21 e 42 dias, ganho diário de peso de 1 a 21 e de 1 a 42 dias, e melhor eficiência alimentar de 1 a 42 dias. Os frangos que se alimentaram de dieta com U-SIE apresentam ($p<0.05$) maior peso absoluto e relativo do pâncreas aos 21 e aos 42 dias, do fígado aos 42 dias, aumento dos hepatócitos e dos ácinos pancreáticos, e menor altura dos vilos (AV) e profundidade das criptas (PC) do intestino delgado. A protease influenciou ($p<0.05$) a histomorfometria do fígado e pâncreas e melhorou a saúde e integridade intestinal dos frangos ao aumentar a AV e a PC. Animais que consumiram dieta com O-SIE apresentaram maior ($p<0.05$) digestibilidade da proteína, do extrato etéreo e do fósforo. A energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio das dietas sem a protease foi reduzida ($p<0.05$) pela U-SIE. O processamento da SIE impacta o desempenho, o aproveitamento dos nutrientes, e a histomorfologia de órgãos do sistema digestório de frangos de corte de 1 a 42 dias. A adição protease foi eficiente na melhoria do aproveitamento dos nutrientes e em mitigar os efeitos danosos dos fatores antinutricionais da soja sobre o pâncreas, fígado e intestino delgado.

Palavras-chave: Soja integral extrusada. Inibidor de tripsina. Hepatócito. Ácino pancreático. Morfometria intestinal.

ABSTRACT

ALVES, Warley Junior, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2022. **Evaluation of the processing of extruded whole soybean and protease in diets for broilers.** Advisor: Melissa Izabel Hannas. Co-advisors: Horacio Santiago Rostagno and Luiz Fernando Albino.

Two experiments were carried out with the objective of evaluating the effect of the addition of protease in diets containing extruded full-fat soybean (EFFS) at different processing levels (under-processed (U-EFFS), standard (S-EFFS), and super processed (O-EFFS)) on performance, nutrient utilization, digestive system organ morphology, antioxidant enzyme activity, and jejunal trypsin of broilers from 1 to 42 days of age (d). In experiment 1, 1560 1-day-old Cobb chicks were distributed entirely at random in a 2x3 factorial scheme, with or without protease added to 0.12g/kg of feed and 3 SIE (sub, normal and super), with 13 replicates each. In experiment 2, 240 22-day-old chickens were randomly assigned to a 2x3 factorial scheme, with or without protease and 3 EFFS (U-EFFS, S-EFFS or O-EFFS) with 8 replicates each. Chickens fed the O-EFFS diet had higher body weight at 21 and 42 days, daily weight gain from 1 to 21 and 1 to 42 days, and better feed efficiency from 1 to 42 days. Broilers fed a diet with U-EFFS had the higher absolute and relative weight of the pancreas at 21 and 42 days, liver at 42 days, increased hepatic hepatocytes and pancreatic acini, and lower villus height (VH) and depth of the crypts (DC) of the small intestine. The protease influenced the histomorphometry of the liver and pancreas and improved the health and intestinal integrity of chickens by increasing HV and DC. Animals that consumed a diet with O-EFFS showed higher ($p < 0.05$) digestibility of protein, ether extract, and phosphorus. The metabolizability of AMEn of diets without protease was reduced ($p < 0.05$) by U-EFFS. EFFS processing impacts performance, nutrient utilization, and digestive system organ histomorphology of liver and pancreas weights of broilers from 1 to 42 days. The protease addition was efficient in improving the utilization of nutrients and in mitigating the harmful effects of soy antinutritional factors on the pancreas, liver, and small intestine.

Keywords: Full-fat soybean. Trypsin inhibitor. Hepatocyte. Pancreatic acinus. Villus: crypt.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. MATERIAL E MÉTODOS	11
2.1. Enzimas.....	11
2.2. Sojas integral extrusadas.....	12
2.3. Ensaio de desempenho: Aves e criação	12
2.4. Delineamento experimental	12
2.5. Dietas e tratamentos experimentais	13
2.6. Abate e coleta de amostras.....	13
2.7. Parâmetros avaliados	13
2.8. Ensaio de digestibilidade: Aves e criação.....	15
2.9. Análise estatística	16
3. RESULTADOS	16
3.1. Desempenho.....	16
3.2. Metabolizabilidade da energia e coeficientes de digestibilidade de nutrientes	17
3.3. Peso absoluto e relativo do fígado e pâncreas	18
3.4. Avaliação morfométrica do fígado	18
3.5. Avaliação morfométrica do pâncreas	21
3.6. Avaliação histológica do intestino delgado	22
3.7. Atividade enzimática	25
4. DISCUSSÃO	26
4.1. Desempenho e digestibilidade dos nutrientes	26
4.2. Peso e histomorfometria do fígado e pâncreas	28
4.3. Avaliação histológica do intestino delgado	32
4.4. Atividade enzimática	34
5. CONCLUSÃO.....	35
6. REFERÊNCIAS	36
7. FIGURAS E TABELAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

A soja é a principal fonte proteica na alimentação de frangos de corte do mundo (de Coca-Sinova et al., 2008; Jahanian and Rasouli, 2016). Contudo, os fatores antinutricionais (FAN) presentes na soja afetam diretamente seu valor nutricional por interferir no aproveitamento dos nutrientes, bem como na fisiologia e status de saúde do animal (Liener, 1994; Clarke and Wiseman, 2005; de Coca-Sinova et al., 2008). Isso ocorre principalmente devido aos inibidores de protease, que interferem na ingestão, digestão, absorção e metabolismo de nutrientes. Neste sentido, foi documentado prejuízo à digestibilidade da proteína e disponibilidade de aminoácidos (AA) e quadros de pancreatite e hipertrofia pancreática em animais em crescimento expostos a altos níveis de inibidores de protease (Clarke and Wiseman, 2005; Heger et al., 2016a; Jahanian and Rasouli, 2016; Hoffmann et al., 2019).

No entanto, alguns destes FANs, em particular os inibidores de tripsina (IT), são inativados por tratamento térmico (Liener, 1994; de Coca-Sinova et al., 2008). De forma geral, os diferentes tratamentos utilizados derivam sobretudo da combinação de calor, tempo e pressão (Röhe et al., 2017). Tais tratamentos promovem a inativação dos FANs e a desnaturação das globulinas da soja. Isso aumenta a susceptibilidade à proteólise e a disponibilidade dos aminoácidos. O que pode ser traduzido em melhoria da qualidade da proteína e aumento do valor nutricional dos alimentos (Röhe et al., 2017). Com tudo, o excesso de processamento tem impactos negativos no valor nutritivo dos produtos de soja, bem como, na digestibilidade geral da dieta. A exemplo, Parsons et al. (1991) relataram desnaturação de aminoácidos e aumento das reações de Maillard entre o grupo amino do AA e os açúcares redutores (como a glicose e a galactose) decorrente do excessivo tratamento térmico. Conseqüentemente, ocorre a redução da digestibilidade dos AAs e da energia (Araba and Dale, 1990; Rocha et al., 2014). Por outro lado, ao não remover eficientemente os FANs da soja, o sub processamento também apresenta efeitos negativos à utilização dos nutrientes da dieta e à saúde do animal (Jahanian and Rasouli, 2016; Nikmaram et al., 2017). Portanto, as condições de processamento térmico devem ser moduladas pelo melhor resultado entre a inativação do FAN e a destruição dos nutrientes essenciais disponíveis.

As proteases exógenas (fúngica ou bacteriana) podem ser uma estratégia complementar para mitigar os efeitos danosos do mau processamento da soja, e assim, melhorar sua digestibilidade, logo, o desempenho de frangos de corte (Clarke and Wiseman, 2005; Ao, 2011; Aderibigbe et al., 2020). Foi demonstrando que essas proteases são altamente

eficazes na melhoria da digestibilidade da energia e dos aminoácidos em uma ampla gama de ingredientes da ração (Freitas et al., 2011; Cowieson and Roos, 2013; Cowieson et al., 2017). Além disso, as proteases também podem destruir ou inativar alguns dos FANs como o inibidor de tripsina e proteínas antigênicas da soja crua ou extrusada em baixa temperatura (Aderibigbe et al., 2020).

Diante do exposto, a hipótese que norteou o presente estudo foi que o nível de processamento da SIE (super processamento, sub processamento ou processamento padrão) afeta a utilização de nutrientes, o desempenho de crescimento, a morfologia de órgãos que atuam na digestão dos alimentos, atividade de enzimas antioxidantes e da tripsina duodenal. E, que estes efeitos poderiam ser amenizados pela adição dietética da protease. Para testar esta hipótese, objetivou-se com a presente pesquisa, avaliar o efeito do uso de soja integral extrusada sub processada, padrão ou super processada e da adição dietética de uma enzima protease em dietas para frangos de corte de 1 a 42 dias de idade sobre o desempenho, peso absoluto e relativo de fígado e pâncreas, atividade das enzimas glutathione peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD) no plasma sanguíneo e atividade da tripsina na digesta jejunal, bem como, nas características anátomo-fisiológicas do fígado, pâncreas e segmentos do intestino delgado, além da metabolizabilidade da energia e coeficientes de digestibilidade de nutrientes da dieta.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos na Unidade de Ensino Pesquisa e Extensão em Produção e Nutrição de Aves do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa-MG, no período de 28/05/2019 a 12/07/2019. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA (Brasil, 2008), conforme certificado aprovado emitido pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP/ UFV), sob processo número 017/2019.

2.1. Enzimas

As enzimas utilizadas no experimento foram as Proteases TECMAX PRO[®] alcalinas termoestáveis produzidas a partir da bactéria *Bacillus subtilis* em fermentação e incluída na proporção de 0.12 g/kg, segundo recomendação do fabricante. Estas enzimas foram cedidas pela empresa TECTRON (Tectron - Tecnologia e Inovação. Toledo, PR, Brasil).

2.2. Sojas integral extrusadas

Para a obtenção das sojas integrais nos três níveis de processamento do estudo, um lote de soja (Alimenta Nutrição Animal Ltda. Carmo do Cajuru, MG, Brasil) foi dividido em três partes iguais e extrusadas a 105 °C. Por meio da regulagem da vazão da extrusora, logo, do tempo de permanência no processo, cada parte de soja foi processada ao nível desejado, sendo monitorado por testes de atividade de tripsina e da proteína solúvel em KOH. Amostras das sojas integrais extrusadas (SIEs) foram enviadas ao laboratório C.B.O. Análises Laboratoriais LTDA (Valinhos – SP, Brasil) para determinar os níveis de inibidor de tripsina (Official Methods and Recommended Practices of the AOCS. Official Method BA 12-75, Trypsin Inhibitor Activity, 7th ed. 2017), atividade de urease e solubilidade em KOH (Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, 2013, método 02 e 50, respectivamente). A composição bromatológica, a avaliação de solubilidade da proteína em KOH, a atividade ureática e dos inibidores de tripsina das sojas integrais extrusadas (SIEs) são apresentadas na Tabela 1.

2.3. Ensaio de desempenho: Aves e criação

Para a realização do experimento de desempenho foram utilizados 1560 pintos de corte da linhagem Cobb com um dia de vida (46.1 ± 0.076 g). As aves foram alojadas em galpão de alvenaria equipados com cortinas nas laterais para controle da temperatura, bebedouros automáticos tipo nipple com caneca e comedouros pendulares. O galpão era dividido em boxes de 1.5 m de largura por 2.0 m de comprimento com mureta de 0.60 m de altura, forrados com cama de maravalha, sendo este, considerado uma unidade experimental. O programa de luz adotado foi de 24 horas de luz nos 2 primeiros dias e de 23 horas de luz do terceiro dia até o final do período experimental. A ventilação adequada foi assegurada através de manejo de cortinas durante todo o período experimental. Foi aferida a temperatura máxima e mínima, em termômetros analógicos instalados em pontos estratégicos do galpão.

2.4. Delineamento experimental

Foi adotado delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3 x 2 com três níveis de processamento da soja integral extrusada (sub processada, processada padrão e super processada) e 0 ou 0.12 g protease / kg de ração, totalizando 6 tratamentos com 13 repetições compostas de 20 aves cada, em um total de 78 unidades experimentais.

2.5. Dietas e tratamentos experimentais

As rações foram formuladas para atenderem ou excederem as exigências nutricionais para frangos de corte machos de desempenho médio superior (Rostagno et al., 2017), e a partir delas realizadas a inclusão *on top* da enzima (Tabelas 2 e 3). O período experimental teve duração de 42 dias, sendo elaboradas uma dieta inicial (0 – 21 dias) e uma dieta final (22 – 42 dias). As rações foram fornecidas *ad libitum* na forma farelada.

2.6. Abate e coleta de amostras

Aos 21 e aos 42 dias de vida, uma ave por unidade experimental foi abatida através de deslocamento cervical após a coleta de sangue por punção cardíaca. Das aves abatidas foram coletadas amostras do duodeno, jejuno, íleo, fígado (lobo dorsal pequeno do lobo esquerdo) e pâncreas (região medial). Imediatamente após coleta, as amostras de tecido foram fixadas em solução de formalina a 10%. Após 24 horas na solução de formalina, as amostras foram transferidas para álcool 70%, desidratados em uma série crescente de álcoois, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Com o uso do micrótomo foram obtidos cortes de cinco micrometros (μm) de espessura, os quais foram corados com a técnica de hematoxilina e eosina. De cada ave abatida (uma por unidade experimental) foram coletados aproximadamente dois gramas de digesta jejunal em tubos criogênicos. Imediatamente após a coleta foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultra freezer a -80°C , até a realização das análises da atividade de tripsina.

2.7. Parâmetros avaliados

Durante a realização do experimento foram avaliados os seguintes parâmetros:

Consumo de ração: Ao final de cada período experimental (21 e 42 dias) o consumo de ração foi calculado pela diferença entre o total de ração fornecido e as sobras de ração dos comedouros de cada unidade experimental.

Ganho de peso: Todas as aves foram pesadas no primeiro, 21^o e 42^o dias de idade para determinação do ganho de peso.

Conversão alimentar: A conversão alimentar foi calculada dividindo-se o consumo de ração pelo ganho de peso corporal acumulado nos períodos avaliados. No decorrer do estudo foi registrado a mortalidade de cada unidade experimental, juntamente com o peso da ave e ração, para posterior correção do consumo e ganho de peso.

Atividades de enzimas antioxidantes: Foram colhidos 10 mL de sangue de cada ave com auxílio de uma seringa e agulha para a avaliação da atividade da superóxido dismutase

(SOD) e da glutathiona peroxidase (GSH-Px). A alíquota do sangue foi transferida para tubo vacutainer com anticoagulante (EDTA) e centrifugada a 3.500 rpm por 10 minutos a 4°C para extração do plasma. A avaliação da atividade da SOD e da GSH-Px no plasma das aves foi realizada de acordo com Walsh et al. (1993) utilizando os kits da Randox Laboratories Ltda. (County Antrim, Reino Unido) Ransod® e Ransel®, respectivamente, por meio de um analisador bioquímico automático (Mindray BS-200E, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Shenzhen, China) no Laboratório de Fisiologia e Reprodução Animal (Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil) seguindo as orientações do fabricante.

Atividade da tripsina: As análises de atividade da tripsina foram realizadas no Laboratório de Enzimologia e Bioquímica de Proteínas e Peptídeos do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da UFV. No tubo contendo digesta jejunal foi adicionado 1 mL de tampão (Tris-HCl 0.1 M). As amostras congeladas em nitrogênio líquido foram maceradas em Tissuelyser II (Qiagen) por 1.5 min a uma frequência de 30 Hz. Após total disruptura da digesta os tubos foram centrifugados a 10.000 g por 15 min a 4 °C. Em seguida, o sobrenadante foi recuperado e o pellet descartado. A atividade de tripsina foi mensurada em triplicata e determinada pelo método de Erlanger et al. (1961), utilizando o substrato N-benzoil-D,L-arginina p-nitroanilida (D,L-BApNA). Inicialmente foi preparada uma solução contendo 0.5 mL de substrato a 24 mM e 0.5 mL do tampão Tris-HCl (0.1 M, pH 8.0). Em cada microtubo contendo essa solução foram adicionados 10 µL da amostra contendo enzimas. Foi padronizado um tempo de 30 segundos entre a adição da amostra contendo enzimas e o início da leitura da absorbância inicial. Foram obtidas uma leitura por segundo durante 120 segundos de forma a acompanhar o perfil da curva de produto formado. Os valores de absorbância inicial e final foram utilizados para quantificar o produto formado ao longo do tempo. Nos cálculos foi utilizado o coeficiente de extinção molar de 8.800 M⁻¹ cm⁻¹ para o produto nessas condições reacionais. A atividade específica da tripsina foi então calculada pela razão entre a atividade da enzima e a concentração proteica da digesta jejunal. A concentração de proteína total foi obtida em espectrofotômetro (Hitachi UV-VIS, modelo U5100) por meio da leitura de absorção a 595 nm, de acordo com o método descrito por Bradford (1976).

Peso absoluto e relativo do fígado e pâncreas: O fígado e pâncreas das treze aves por tratamento (78 no total por idade) abatidas aos 21 e 42 dias de vida foram coletados e pesados imediatamente após o abate para determinação do peso absoluto e relativo ao peso corporal.

Análises histológicas: Dos cortes histológicos de intestino, fígado e pâncreas foram produzidas seis lâminas por tratamento. Em cada lâmina histológica do fígado (400x) e do pâncreas (200x) foram capturadas dez imagens de regiões tomadas completamente ao acaso. Em cada imagem foram distribuídos aleatoriamente 130 pontos (total de 1300 pontos por repetição) e registrado o número de pontos em cada estrutura. Já nos segmentos do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) em cada uma das cinco fotos por lâmina foram medidas a altura de cinco vilosidades, a profundidade de cinco criptas e a espessura da camada muscular circular interna em cinco regiões. As medidas de altura das vilosidades foram tomadas a partir da região basal coincidente com a porção superior das criptas de sua base até a região de transição cripta/vilosidade. A área do jejuno foi mensurada em corte perpendicular do tubo jejunal. Todas as imagens histológicas foram capturadas usando um microscópio EVOS® XL Core Imaging System e as imagens avaliadas, isto é, contagem dos pontos e medição da altura das vilosidades, profundidade das criptas, espessura da muscular circular e a área do jejuno, realizadas no software livre ImageJ (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>), cujo código-fonte foi escrito por Wayne Rasband no National Institute of Health (Bethesda, MD, EUA)

2.8. Ensaio de digestibilidade: Aves e criação

Um total de 240 frangos de corte machos da linhagem Cobb 500 foram criadas em círculos de proteção instalados em galpão de alvenaria. Durante esta fase, as aves foram alimentadas ad libitum com ração a base de milho e farelo de soja (Tabela 4) formulada para atender ou exceder as exigências da fase preconizadas por Rostagno et al. (2017) e manejadas segundo o manual da linhagem. Aos 22 dias de vida as aves foram pesadas (826.7 ± 2.0 g) e aleatoriamente distribuídas em grupos de cinco aves em uma das 48 gaiolas (1.27 m x 0.56 m x 0.75 m de comprimento x largura x altura, respectivamente) de duas baterias metálicas. As gaiolas eram equipadas com bebedouro tipo nipple e um comedouro tipo calha, onde cada uma era considerada uma unidade experimental. O experimento foi delineado inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 3 x 2, sendo 3 níveis de processamento da soja integral extrusada (sub processada, processada padrão e super processada), sem ou com inclusão de 0.12 g/kg da enzima protease, totalizando 6 tratamentos com 8 repetições cada. Foram avaliadas as rações experimentais da segunda fase (22 a 42 dias, Tabela 3) a base de milho, farelo de soja e de soja integral extrusada em diferentes níveis de processamento formuladas para atender as exigências nutricionais das aves de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2017). O período experimental foi composto por cinco dias de adaptação (dos 22 aos

27 dias de idade das aves) e cinco dias de coleta total das excretas (dos 28 aos 32 dias de idade).

Durante o período experimental foi contabilizado o consumo de ração das aves. As coletas de excretas foram realizadas às 8 e às 16 horas. As bandejas coletoras, localizadas abaixo de cada gaiola, foram revestidas com plástico. Após cada coleta, as excretas foram armazenadas em sacos plásticos devidamente identificados e mantidas a -20 °C. Ao fim do período de coleta, as excretas foram pesadas e homogeneizadas. A excreção total foi calculada por ave / dia e corrigida pela mortalidade. Posteriormente, uma alíquota de 300g de excretas de cada unidade experimental foi liofilizada por 72 h a -80°C sob pressão de 800 mbar (Liobras - São Carlos, SP) e moídas em moinho de bolas de inox (Micro spray mill, R-TE 350, TECNAL® - São Paulo, Brasil).

As rações e as excretas foram analisadas (AOAC, 2012) para matéria seca (MS; método 967.03), matéria mineral (MM; método 942.05), proteína bruta (PB; método 981.10) e extrato etéreo (EE; método 920.29). A fibra em detergente ácido (FDA) e a fibra em detergente neutro tratada com α -amilase (aFDN; Mertens, 2002) foram avaliadas de acordo com Van Soest et al. (1991). O resíduo da aFDN foi corrigido para cinzas (aFDNc) (Mertens et al., 2002) por incineração em mufla (600 °C/4 horas); a correção da PB foi determinada pela subtração da proteína insolúvel na fibra em detergente neutro (aFDNp). As concentrações de cálcio (Ca) e fósforo (P) das rações e excretas foram avaliadas no espectrofotômetro de absorção atômica (Spctr AA-800; espectrômetro Varian, Harbor City, CA) conforme descrito por AOAC (2005).

2.9. Análise estatística

Os dados foram analisados segundo um delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3 x 2 (três níveis de processamento da soja com ou sem a inclusão da protease) pelo teste F da ANOVA a 5% de significância. As médias dos parâmetros foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando o procedimento MIXED do software estatístico SAS (SAS Institute, 1990).

3. RESULTADOS

3.1. Desempenho

Como apresentado na Tabela 5, não foi observado interação significativa ($p > 0.05$) entre o processamento da soja integral extrusada (SIE) e a protease (0 ou 0.120 g/kg de ração) sobre o peso corporal (PC), ganho de peso diário (GPD), consumo médio de ração diário

(CRD) e eficiência alimentar (EA) de frangos de corte de 1 a 21 dias, 22 a 41 dias e 1 a 42 dias. O uso de soja integral extrusada (SIE) com diferentes níveis de processamento influenciou ($p < 0.05$) o PC dos frangos de corte aos 21 e aos 42 dias, o GDP de 1 a 21 dias e no período total e a EA no período total avaliado. Os melhores resultados de desempenho ($p < 0.05$) foram observados nos frangos de corte consumindo ração com SIE super processada (O-SIE), os quais apresentaram maior PC aos 21 e aos 42 dias, GDP de 1 a 21 dias e no período total, e melhor EA no período total avaliado quando comparado aos animais consumindo ração com SIE padrão (S-SIE). A utilização de SIE sub processada (U-SIE) promoveu resultados intermediários ($p > 0.05$) de GDP de 22 a 42 dias, PC e GDP de 1 a 42 dias de vida. A adição da protease nas dietas não influenciou ($p > 0.05$) as variáveis de desempenho avaliadas. Porém, foi observado tendência ($0.05 < p < 0.10$) de melhoria da eficiência alimentar no período de 22 a 42 dias de vida.

3.2. Metabolizabilidade da energia e coeficientes de digestibilidade de nutrientes

Os resultados de metabolizabilidade da energia aparente corrigida para nitrogênio (EMAn) e os coeficientes de digestibilidade de proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), matéria mineral (MM), cálcio (Ca) e fósforo (P) são detalhados na Tabela 6. Foi observado interação significativa ($p < 0.05$) entre os diferentes níveis de processamento da SIE e a adição da protease na metabolizabilidade da EMAn e no coeficiente de digestibilidade da FDA e do Ca. Quando a enzima não foi adicionada à ração, a metabolizabilidade da EMAn da dieta com U-SIE foi menor ($p < 0.05$) que o da dieta com O-SIE. Com a suplementação dietética da protease, o nível de processamento da SIE não influenciou ($p > 0.05$) a digestibilidade da energia. A protease propiciou menor ($p < 0.05$) metabolizabilidade da EMAn da ração com O-SIE. Quanto o coeficiente de digestibilidade de FDA, sem a adição da protease, o menor e o maior ($p < 0.05$) valor foi observado com a S-SIE e U-SIE, respectivamente. O coeficiente de digestibilidade de FDA da dieta com O-SIE sem protease não diferiu ($p > 0.05$) dos demais. Nos casos em que a enzima foi suplementada, as dietas com U-SIE e O-SIE apresentaram, respectivamente, o maior e menor ($p < 0.05$) coeficiente de digestibilidade do FDA, sem diferença significativa ($p > 0.05$) destas com a S-SIE. A suplementação da protease aumentou ($p < 0.05$) a digestibilidade da FDA das dietas com S-SIE e reduziu ($p < 0.05$) nas dietas com O-SIE. A digestibilidade do Ca nas rações sem protease não foi afetada ($p > 0.05$) pelo nível de processamento da SIE. Quando a protease foi suplementada, o sub processamento da SIE

reduziu o coeficiente de digestibilidade do Ca ($p < 0.05$). A adição da protease aumentou ($P < 0.05$) a digestibilidade do Ca da dieta com S-SIE.

Não houve interação significativas ($p > 0.05$) entre a adição da protease e o nível de processamento da SIE sobre os coeficientes de digestibilidade da PB, EE, MM, FDN e P. A O-SIE proporcionou maior ($p < 0.05$) digestibilidade da PB, EE e do P, e menor ($p < 0.05$) da MM e da FDN. Não houve diferença ($p > 0.05$) na digestibilidade da PB, EE, MM e FDN das dietas com S-SIE e U-SIE. A dieta com U-SIE apresentou o menor ($p < 0.05$) coeficiente de digestibilidade do P. Na dieta com S-SIE, a digestibilidade do P não diferiu ($p > 0.05$) das dietas com U-SIE ou O-SIE. A protease não influenciou ($p > 0.05$) os coeficientes de digestibilidade da PB, MM, FDN e P, entretanto tendência ($0.05 < P < 0.10$) para aumento no coeficiente de digestibilidade do EE foi verificado com a inclusão da protease.

3.3. Peso absoluto e relativo do fígado e pâncreas

São apresentados na Tabela 7 o peso médio absoluto e relativo ao peso corporal do fígado e pâncreas de frangos de corte aos 21 e 42 dias de vida. Não ocorreram interações significativas ($p > 0.05$) entre o nível de processamento da SIE e adição da enzima no peso absoluto (PA) e relativo (PR) do fígado e pâncreas de frangos de corte aos 21 e 42 dias de vida. Com 21 dias de idade, tanto o PA quanto o PR do fígado e do pâncreas foram maiores ($p < 0.05$) nas aves que receberam SIE sub processada (U-SIE). Não houve diferença ($p > 0.05$) no PA do fígado entre SIE padrão (S-SIE) e a SIE super processada (O-SIE).

Aos 42 dias de vida, o PA e o PR do fígado não foram influenciados ($p > 0.05$) pelo nível de processamento da SIE. A adição da protease à ração aumentou ($p < 0.05$) o PA do fígado e apresentou tendência ($0.05 < p < 0.10$) de aumento do PR do fígado. Nesta fase, tanto o PA, quanto o PR do pâncreas foram maiores ($p < 0.05$) nas aves alimentadas com U-SIE. Não foram observadas diferenças ($p > 0.05$) no PA e PR do pâncreas entre os frangos que receberam dietas com S-SIE e O-SIE. A protease não afetou ($p > 0.05$) o PA e o PR do pâncreas dos frangos com 42 dias de vida.

3.4. Avaliação morfométrica do fígado

É apresentado na Tabela 8, a avaliação morfométrica do fígado de frangos de corte aos 21 e aos 42 dias de vida alimentados com dietas contendo soja integral extrusada (SIE) em três diferentes níveis de processamento (sub, padrão ou super) com ou sem adição de protease. Nesta avaliação, os dados são apresentados como percentual de pontos sobre hepatócitos, núcleo e citoplasma, espaço intercelular, vasos e infiltrado inflamatório mononuclear em

relação ao total de 1.300 pontos. Foi definido como espaço intercelular a região entre células compostas por tecido conjuntivo e sinusoides.

Aos 21 dias, apenas a contagem de pontos sobre núcleos dos hepatócitos, vasos sanguíneos e infiltrados inflamatórios mononucleares não apresentaram interação significativa ($p > 0.05$) entre nível de processamento da SIE e adição da protease. A contagem de pontos nos núcleos dos hepatócitos das aves alimentadas com O-SIE foi menor que com U-SIE ou S-SIE. E, não houve diferença ($p > 0.05$) entre U-SIE e S-SIE no percentual de pontos sobre núcleos. A adição da protease aumentou ($p < 0.05$) o percentual de pontos sobre núcleos hepáticos dos frangos. O nível de processamento da SIE, e a protease não influenciaram ($p > 0.05$) o percentual de pontos sobre os vasos sanguíneos e sobre os infiltrados inflamatórios mononucleares. Nos hepatócitos, sem a suplementação da protease, o menor ($p < 0.05$) percentual de pontos foi observado nos frangos alimentados com U-SIE, em comparação aos alimentados com S-SIE ou U-SIE. Na presença da protease, a maior ($p < 0.05$) contagem de pontos em hepatócitos foi observada nos frangos alimentados com U-SIE. Não houve diferença ($p > 0.05$) entre a S-SIE e a U-SIE no percentual de pontos sobre hepatócitos quando a protease foi adicionada na dieta. Nos frangos alimentados com S-SIE, a protease reduziu ($p < 0.05$) a contagem de hepatócitos em 14.3%. Quando a protease não foi fornecida na dieta, o nível de processamento da SIE não afetou ($p > 0.05$) o percentual de pontos sobre citoplasma do hepatócito. Na presença da protease nas rações, o maior percentual de pontos foi observado no grupo que recebeu O-SIE, seguido pela U-SIE ($p < 0.05$) e o menor ($p < 0.05$) com S-SIE. Nos frangos que receberam S-SIE ou U-SIE, a utilização da protease reduziu ($p < 0.05$) a contagem de pontos no citoplasma hepático. A relação núcleo/citoplasma dos frangos que não receberam protease, não foi alterada ($p > 0.05$) pelo processamento da SIE. No grupo de aves alimentadas com dietas suplementadas com protease, o uso de U-SIE e O-SIE reduziu ($p < 0.05$) a relação núcleo/citoplasma em comparação a S-SIE. A suplementação dietética da protease nas dietas com S-SIE e O-SIE aumentou ($p < 0.05$) a relação núcleo/citoplasma nos hepatócitos. Independente da presença ou não da protease na dieta, os frangos que receberam dietas com U-SIE e O-SIE apresentaram o menor e maior ($p < 0.05$) percentual de pontos no espaço intercelular, respectivamente. Sem a protease, a contagem de pontos no espaço intercelular dos frangos alimentados com S-SIE não diferiu ($p > 0.05$) dos que receberam U-SIE. A adição da protease à dieta com S-SIE aumentou ($p < 0.05$) o percentual de pontos sobre o espaço intercelular, de forma que, equiparou-se ($p > 0.05$) ao observado nos frangos alimentados com dietas contendo O-SIE suplementada com protease.

Após 42 dias de consumo foi observado interação significativa entre o nível de processamento da SIE e a suplementação da protease ($p < 0.05$) no percentual de pontos nos hepatócitos, citoplasma, relação núcleo/citoplasma e espaço intercelular. No grupo que não recebeu suplementação dietética da protease, a contagem de pontos sobre os hepatócitos decaiu ($p < 0.05$) em resposta ao nível de processamento da SIE (sub > padrão > super, $p < 0.05$). Quando a protease foi adicionada à dieta, o processamento da SIE não afetou ($p > 0.05$) a contagem de pontos nos hepatócitos. Nas aves alimentadas com U-SIE, a protease reduziu 9.03% ($p < 0.05$) a contagem de pontos nos hepatócitos, porém, nas que receberam O-SIE, a protease aumentou 11.6% ($p < 0.05$) o percentual de pontos sobre os hepatócitos. A contagem de pontos sobre os núcleos dos hepatócitos aos 42 dias de vida foi influenciada de forma independente (interação não significativa: $p > 0.05$) pelo nível de processamento da SIE e a suplementação dietética da protease. Entre os três níveis de processamento da SIE, a maior ($p < 0.05$) contagem de pontos sobre núcleos foi observada com O-SIE. Não houve diferença ($p > 0.05$) entre a U-SIE e S-SIE no percentual de pontos sobre os núcleos. As aves que tiveram a protease adicionada a ração apresentaram percentual de pontos nos núcleos menor ($p < 0.05$) do que as que não receberam a protease. Na ausência da protease, o percentual de pontos sobre os citoplasmas decaiu ($p < 0.05$) com aumento do processamento da SIE (U-SIE: 53.9%, S-SIE: 46.1%, O-SIE: 36.0%). Entre os frangos que receberam dietas com protease, a maior ($p < 0.05$) contagem foi observada nas aves alimentadas com U-SIE. Nos frangos alimentados com O-SIE, a contagem de pontos nos citoplasmas hepáticos não diferiu ($p > 0.05$) dos que receberam S-SIE. A protease aumentou ($p < 0.05$) em 6.51 e 33.1%, o percentual de pontos sobre citoplasma dos frangos que receberam S-SIE e O-SIE, respectivamente. Na relação núcleo/citoplasma, independente da suplementação da protease na ração, a menor ($p < 0.05$) relação foi observada com U-SIE, e a maior ($p < 0.05$) com a O-SIE. A relação núcleo/citoplasma das aves alimentadas com S-SIE, sem a protease na dieta, não diferiu ($p > 0.05$) das alimentadas com U-SIE. Com a protease na dieta, a relação núcleo/citoplasma das aves alimentadas com S-SIE não diferiu ($p > 0.05$) das que receberam U-SIE ou O-SIE. Em todos os três níveis de processamento da SIE, a protease reduziu ($p < 0.05$) a relação núcleo/citoplasma dos hepatócitos. O percentual de pontos no espaço intercelular, sem a suplementação da protease, aumentou ($p < 0.05$) em resposta ao nível de processamento da SIE, de forma que, a menor contagem ($p < 0.05$) foi observada nos frangos alimentados com U-SIE, seguida ($p < 0.05$) pela S-SIE, e a maior ($p < 0.05$) com O-SIE. Esta resposta não se manteve com a suplementação da protease nas dietas, assim, a contagem não foi influenciada ($p > 0.05$) pelo processamento da SIE. A adição de protease nas dietas reduziu ($p < 0.05$) em 17.7 e 31.4%

a contagem de pontos no espaço intercelular dos frangos alimentados com S-SIE e O-SIE, respectivamente. Já nos frangos alimentados com U-SIE, a protease aumentou ($p < 0.05$) 38.6% a pontuação sobre o espaço intercelular. Assim como ocorrido aos 21 dias, nos frangos aos 42 dias de vida o percentual de pontos sobre vasos e infiltrados inflamatórios mononucleares não apresentaram interação ($p > 0.05$) entre o nível processamento da SIE e adição da protease, bem como, não foi influenciado ($p > 0.05$) pelos fatores em teste.

3.5. Avaliação morfológica do pâncreas

Na tabela 9 são apresentados os resultados da avaliação de morfometria do pâncreas de frangos de corte aos 21 e 42 dias de vida. Houve interação ($p < 0.05$) entre o nível de processamento da SIE e a adição da protease sobre o percentual de pontos sobre os ácinos pancreáticos, ductos intralobulares e interlobulares (DL) e ductos intercalares (DI) do pâncreas aos 21 e 42 dias de idade e sobre as ilhotas de Langerhans (IL) aos 42 dias de idade. Aos 21 dias de idade, a contagem de pontos nas IL foi maior ($p < 0.05$) nos frangos alimentados com SIE super processada (O-SIE), intermediária com SIE sub processada (U-SIE), e menor com SIE padrão (S-SIE). A protease não influenciou ($p > 0.05$) o percentual de pontos nas IL aos 21 dias de idade.

O percentual de pontos sobre ácinos das aves que receberam ração sem suplementação da protease não diferiu ($p > 0.05$) entre os frangos alimentados com S-SIE e O-SIE. Entretanto, o sub processamento da SIE aumentou mais de 60% a contagem de pontos sobre ácinos ($p < 0.05$). Nas dietas com protease, o percentual de pontos sobre ácinos decresceu ($p < 0.05$) com o aumento do nível de processamento da SIE (U-SIE > S-SIE > O-SIE). A adição de protease aumentou ($p < 0.05$) em 19.7% a contagem de pontos sobre ácinos nas aves alimentadas com dietas que continham SIE padrão e reduziu 12.9% nas alimentadas com SIE super ($p < 0.05$).

Os frangos alimentados com dietas contendo U-SIE, independentemente da suplementação ou não da protease, apresentaram o menor ($p < 0.05$) percentual de pontos sobre os DL. Sem a protease nas dietas, a maior ($p < 0.05$) contagem de pontos nos DL foi observada com a S-SIE. Quando a protease foi fornecida, a maior ($p < 0.05$) contagem de pontos ocorreu com a O-SIE. A adição da protease nas dietas com S-SIE, reduziu em 16.5% ($p < 0.05$) o percentual de pontos sobre os DL. Já nas dietas com O-SIE, a protease aumentou em 38.1% ($p < 0.05$) a contagem de pontos nos DL. Nos DI, a contagem de pontos aumentou ($p < 0.05$) em resposta ao processamento da SIE (U-SIE > S-SIE > O-SIE, $p < 0.05$), independente da adição ou não da protease. A suplementação da protease aumentou ($p < 0.05$) a contagem de pontos

sobre os DI dos frangos alimentados com U-SIE, contudo, com O-SIE a protease reduziu ($p < 0.05$) o percentual de pontos nos DI.

Aos 42 dias, o percentual de pontos nos ácidos pancreáticos dos frangos alimentados com dietas sem adição de protease não foi influenciado ($p > 0.05$) pelo processamento da SIE. Nesta fase, no grupo que recebeu a protease via ração, o sub processamento da SIE aumentou ($p < 0.05$) o percentual de pontos nos ácidos em relação aos alimentados com O-SIE. Não houve diferença ($p > 0.05$) na contagem de pontos sobre ácidos das aves alimentadas com S-SIE e das que receberam U-SIE ou O-SIE. A protease reduziu ($p < 0.05$) aproximadamente 8.0% a contagem de pontos sobre ácidos dos frangos alimentados com dietas contendo O-SIE. Nas aves que receberam dietas com U-SIE, a protease aumentou ($p < 0.05$) 8.46% a contagem de pontos sobre ácidos pancreáticos dos frangos aos 42 dias.

A maior ($p < 0.05$) contagem de pontos sobre IL entre os frangos não suplementados com protease foi observada no grupo que recebeu dietas com U-SIE e a menor ($p < 0.05$) com S-SIE. Quando a protease foi suplementada, o processamento da SIE não afetou ($p > 0.05$) o percentual de pontos sobre as IL. Entre os frangos alimentados com O-SIE, a suplementação dietética da protease aumentou ($p < 0.05$) a contagem de pontos nas IL. A contagem de pontos sobre os DL dos frangos alimentados com U-SIE foi menor ($p < 0.05$) entre os animais que não receberam a suplementação da protease. Com a adição da protease na ração, o percentual de pontos sobre DL não diferiu ($p > 0.05$) entre os três níveis de processamento.

Sem a protease na dieta, o maior ($p < 0.05$) percentual de pontos sobre DI foi observado nos frangos alimentados com U-SIE. Entre as aves que receberam suplementação de protease, as alimentadas com O-SIE apresentaram a maior ($p < 0.05$) contagem de pontos sobre DI. A suplementação dietética da protease aumentou ($p < 0.05$) o percentual de pontos sobre os DI nos frangos alimentados com O-SIE, contudo, no grupo alimentado com U-SIE, a protease reduziu ($p < 0.05$) a contagem de pontos nos DI.

3.6. Avaliação histológica do intestino delgado

O efeito do nível de processamento da SIE em dietas de frangos de corte com ou sem adição de protease sobre a altura das vilosidades, profundidade das criptas, relação entre a altura das vilosidades e a profundidade das criptas e na espessura da camada muscular circular interna (MCI) nos segmentos do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) de frangos de corte aos 21 e 42 dias de vida são apresentados na Tabela 10.

Foi observado interação significativa ($p < 0.05$) entre o nível de processamento da SIE e a suplementação de protease sobre a altura das vilosidades, profundidade das criptas e

espessura da MCI do duodeno de frangos de corte aos 21 dias de vida. A maior e menor ($p < 0.05$) altura das vilosidades duodenais entre os frangos que não receberam protease na dieta foram observadas com O-SIE e U-SIE, respectivamente. Com a protease na dieta, o processamento da SIE não influenciou ($p > 0.05$) a altura das vilosidades. A adição da protease nas dietas com S-SIE aumentou ($p < 0.05$) altura das vilosidades. Os frangos que receberam dietas com U-SIE apresentaram a menor ($p < 0.05$) profundidade de cripta duodenal entre os níveis de processamento, nos grupos sem e com a enzima protease. Entre os frangos que não receberam a protease, a maior ($p < 0.05$) profundidade das criptas ocorreu com a O-SIE. Já entre os que receberam suplementação dietética da protease, a maior ($p < 0.05$) profundidade das criptas foi observado nos com S-SIE. A suplementação dietética da protease aumentou ($p < 0.05$) a profundidade das criptas dos frangos alimentados com S-SIE, e reduziu ($p < 0.05$) nos frangos que receberam O-SIE. Entre as aves alimentadas com S-SIE, a protease aumentou ($p < 0.05$) em 10% a profundidade das criptas. A espessura da MCI do duodeno aumentou linearmente ($p < 0.05$) em resposta ao processamento da SIE ($U-SIE < S-SIE < O-SIE$; $p < 0.05$) na ausência da protease na dieta. Com a suplementação da protease, houve aumento de 36% na espessura da MCI das aves alimentadas com U-SIE, equiparando-se ($p > 0.05$) a S-SIE com protease. Nas dietas com O-SIE, a protease reduziu ($p < 0.05$) a espessura da MCI em 30%. A relação entre a altura das vilosidades/profundidade das criptas do duodeno não foi influenciada ($p > 0.05$) pelo processamento da SIE, entretanto, a adição da protease nas dietas aumentou ($p < 0.05$) de 6.35 para 7.15 a relação vilo/cripta.

No jejuno dos frangos aos 21 dias de vida houve interação significativa ($p < 0.05$) entre o processamento da SIE e a adição ou não de protease sobre a altura das vilosidades e a relação vilo/cripta. Sem a protease na ração, os frangos alimentados com a U-SIE apresentaram maior ($p < 0.05$) altura de vilo e a maior ($p < 0.05$) relação vilo/cripta. Quando a protease foi adicionada as rações, o processamento da SIE deixou de influenciar ($p > 0.05$) a altura das vilosidades e a relação vilo/cripta. A suplementação da protease nas dietas reduziu ($p < 0.05$) a altura das vilosidades e a relação vilo/cripta dos frangos alimentados com U-SIE. A profundidade das criptas jejunais e a espessura da MCI não apresentaram ($p > 0.05$) interação entre o processamento da SIE e a protease. E, apenas o processamento da SIE influenciou ($p < 0.05$) as criptas e a espessura da MCI jejunal. As aves que receberam dietas com U-SIE apresentavam profundidade de cripta menor ($p < 0.05$) que as alimentadas com O-SIE. A espessura da camada muscular jejunal das aves que receberam rações com U-SIE foi menor ($p < 0.05$) que das alimentadas com S-SIE.

As características morfométricas do íleo dos frangos aos 21 dias de vida, não apresentaram interação ($p < 0.05$) entre o nível de processamento da SIE e a suplementação da protease. Os frangos alimentados com U-SIE apresentaram a menor ($p < 0.05$) altura das vilosidades ileais. Não houve diferença ($p > 0.05$) entre a S-SIE e a O-SIE quanto à altura dos vilos. A suplementação dietética da protease aumentou ($p > 0.05$) a espessura de MCI do íleo dos frangos. A profundidade de cripta e a relação vilos/cripta não foram influenciadas ($p > 0.05$) pelos fatores em estudo.

Nos frangos com 42 dias, a altura das vilosidades duodenais não foi afetada ($p > 0.05$) pelos fatores em estudo. Em relação a profundidade de cripta, não foi observado diferença ($p > 0.05$) na profundidade de cripta dos frangos alimentados com S-SIE ou U-SIE, contudo, foram menores ($p < 0.05$) que com O-SIE. O fornecimento de SIE fora do nível de processamento padrão (sub ou super processada) aumentou ($p < 0.05$) a espessura da MCI duodenal dos frangos aos 42 dias em relação aos alimentados com S-SIE. Foi observado interação significativa ($p < 0.05$) entre o processamento da SIE e a suplementação da protease sobre a relação vilos/cripta do duodeno. Contudo, não foi apontado pelo teste Tukey ($p > 0.05$) diferenças entre os níveis de processamento da SIE sobre a relação vilos/cripta, na presença ou ausência da protease. A protease aumentou ($p > 0.05$) a relação vilos/cripta das aves alimentadas com O-SIE.

As características morfométricas do jejuno dos frangos aos 42 dias de idade não apresentaram interação ($p > 0.05$) entre o processamento da SIE e a protease. Não foram observados efeitos ($p > 0.05$) do processamento da SIE e da protease na altura dos vilos e na relação vilos/cripta. A profundidade de cripta foi maior ($p < 0.05$) com S-SIE que com U-SIE e intermediária ($p > 0.05$) com O-SIE. A SIE padrão propiciou a maior ($p < 0.05$) espessura da MCI do jejuno.

No íleo dos frangos de corte com 42 dias de vida foi observado interação significativa ($p < 0.05$) entre o processamento da SIE e a adição da protease sobre a altura das vilosidades, profundidade de cripta e espessura da MCI. O processamento da soja apenas influenciou ($p < 0.5$) a altura das vilosidades, profundidade de cripta e espessura da MCI nos frangos que não receberam a suplementação da protease.

Na ausência da protease, a O-SIE aumentou ($p < 0.05$) a altura das vilosidades, profundidade de cripta e espessura da MCI, em relação as aves que receberam dietas com S-SIE. Entre os frangos alimentados sem protease, não houve diferença ($p > 0.05$) na altura das vilosidades entre a U-SIE e S-SIE. Também não foi observado diferença ($p > 0.05$) na profundidade de cripta entre os frangos alimentados com U-SIE ou O-SIE, quando não havia

protease na ração. A suplementação da protease nas rações com S-SIE aumentou ($p < 0.05$) a altura das vilosidades em 10.0%, a profundidade de cripta em 16.7% e a espessura da CMI em 27.2%. Nas dietas com O-SIE, a protease reduziu ($p < 0.05$) em 13.4% a altura dos vilos. A relação vilo/cripta do íleo não foi influenciada ($p > 0.05$) nem pelo processamento da SIE, nem pela protease.

A área da circunferência jejunal dos frangos com 21 dias de vida, apresentou interação significativa ($p < 0.05$) entre o processamento da SIE e a adição da protease. Entretanto, o mesmo comportamento não foi observado ($p > 0.05$) nos frangos com 42 dias de vida. Aos 21 dias de vida, no grupo que recebeu a protease, a SIE sub reduziu ($p < 0.05$) a área da circunferência do jejuno em comparação aos alimentados com S-SIE ou O-SIE. A suplementação dietética da protease reduziu em 7.17% ($p < 0.05$) a área da circunferência do jejuno dos frangos com 42 dias de vida.

3.7. Atividade enzimática

A atividade das enzimas antioxidantes, glutatona peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD) no plasma sanguíneo e da tripsina na digesta jejunal de frangos de corte aos 21 e 42 dias de vida, alimentados com SIE sub (U-SIE), padrão (S-SIE) e super processada (O-SIE) com ou sem adição de protease é apresentada na Tabela 11. Não foram observadas interações significativas entre o processamento da SIE e adição da protease ($p > 0.05$), assim como o processamento da SIE não afetou ($p > 0.05$) atividade da GPx e tripsina nas idades avaliadas. A adição da protease aumentou ($p < 0.05$) a atividade da GPx plasmática e da tripsina jejunal. Porém, aos 42 dias, a atividade de tripsina foi reduzida ($p < 0.05$) pela suplementação da protease.

A atividade da SOD no plasma sanguíneo dos frangos com 21 dias não apresentou interação ($p > 0.05$) entre os fatores em teste. As aves que receberam dietas com U-SIE, apresentaram a maior ($p < 0.05$) atividade da SOD. Não houve diferença ($p > 0.05$) entre a S-SIE e a O-SIE na atividade da SOD nas aves com 21 dias. Aos 42 dias foi observada interação significativa ($p < 0.05$) entre o processamento da SIE e a suplementação da protease na atividade da SOD plasmática. Nesta fase, sem a protease nas dietas, a atividade da SOD dos frangos alimentados com S-SIE não diferiu ($p > 0.05$) dos que receberam U-SIE, porém, foram maiores ($p < 0.05$) que nos alimentados com o a O-SIE. Na presença da protease, a atividade da SOD das aves que receberam S-SIE foi maior ($p < 0.05$) que as alimentadas com U-SIE. Entre os frangos que receberam a protease, a atividade da SOD dos frangos alimentados com

O-SIE super não diferiu ($p>0.05$) dos que receberam S-SIE ou U-SIE. A protease reduziu ($p<0.05$) a atividade da SOD nas aves alimentadas com S-SIE.

4. DISCUSSÃO

Ao avaliar o efeito da suplementação de uma protease em dietas para frangos de corte contendo soja integral extrusada sub processada (U-SIE), padrão (S-SIE) ou super processada (O-SIE) sobre o desempenho de crescimento, morfologia e fisiologia de órgãos do sistema digestivo e aproveitamento dos nutrientes da dieta, foi evidenciado a complexidade e importância do tratamento térmico da soja e, concomitantemente, foi demonstrado a eficácia da protease exógena em mitigar fatores antinutricionais (FANs).

Uma gama de FANs presentes na soja como os inibidores de tripsina e quimotripsina de Bowman-Birk, lectinas (hemaglutininas) e alérgenos (glicinina e β -conglucina) interferem no aproveitamento dos nutrientes da soja e na saúde da ave (Liener, 1994; Fasina et al., 2006; Stein et al., 2008; Rocha et al., 2014; Aderibigbe et al., 2020). Contudo, o tratamento térmico tem a capacidade de inativar parcial ou totalmente alguns destes FANs, em particular os inibidores de tripsina (TI). Por outro lado, a exposição ao calor aumenta a ocorrência de desnaturação da proteína e reação de Maillard entre aminoácidos e açúcares redutores (Diftis and Kiosseoglou, 2006) o que indisponibiliza estes nutrientes.

4.1. Desempenho e digestibilidade dos nutrientes

Neste estudo, o nível de processamento da soja integral extrusada (SIE) afetou o desempenho de crescimento dos frangos de corte em crescimento. É possível que o melhor desempenho de crescimento observado para os frangos que receberam dieta com O-SIE seja resultado da inativação mais eficiente dos FANs pelo processamento extra aplicado à SIE do tratamento com super processamento (O-SIE) sem que tenha causado aumento significativo da indisponibilização de nutrientes por desnaturação e reações de Maillard.

Isso parece contradizer a proteína solúvel em KOH (PS) das SIE (89.4, 86.9 e 76.9%) avaliadas no presente estudo (Tabela 1). Uma vez que a solubilidade da proteína avalia o super processamento da soja, e é um indicador de degradação de proteínas por meio do processamento (Araba and Dale, 1990; Hoffmann et al., 2019) e poderia indicar redução proporcional da qualidade da proteína no intervalo estudado. No entanto, em intervalos de PS acima do reconhecido como ponto crítico ($PS\geq 70\%$), foi relatado falta de consistência da mudança de solubilidade da proteína em KOH em resposta ao aquecimento crescente, principalmente em intervalos curtos de tempos, nos quais ocorreram grandes oscilações no

índice de urease e no desempenho do crescimento dos frangos (Araba and Dale, 1990; Parsons et al., 1991; Batal et al., 2000; Căpriță et al., 2010). Há consenso que a solubilidade em KOH é um bom índice para determinar o excesso de processamento da soja e seus derivados e seus efeitos adversos no desempenho animal (Araba and Dale, 1990; Parsons et al., 1991; Anderson-Hafermann et al., 1992; Batal et al., 2000; Căpriță et al., 2010; Hoffmann et al., 2019). Contudo, não há concordância quanto a um ponto crítico. Para Parsons et al. (1991) o nível de PS igual a 59 % representa o ponto crítico, de forma que, valores menores ou iguais a este indicam super processamento. Araba and Dale (1990) estimaram um intervalo ideal de PS entre 70 e 85 %. Van Eys et al. (2005) recomendaram que o intervalo de PS deve estar entre 78 e 85%.

Aliado ao fato de ter sido demonstrado que os inibidores de tripsina (IT) são positivamente correlacionados a PS da dieta (Hoffmann et al., 2019), é possível que a melhora nos índices de desempenho de crescimento com a O-SIE decorram da maior inativação dos ITs (Tabela 1) em resposta ao aumento do processamento. Isto fica mais evidente ao observar os dados de metabolizabilidade da energia aparente corrigida para nitrogênio (EMAn) e os coeficientes de digestibilidade de proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) (Tabela 6), uma vez que os melhores resultados foram observados com a O-SIE. Os maiores coeficientes de digestibilidade da PB e EE foram observados nos tratamentos com O-SIE e, nas dietas não suplementadas com a protease, o aumento do processamento da SIE acarretou a melhoria da digestibilidade da energia metabolizável aparente. Estes resultados reforçam a hipótese de que o processamento aplicado a O-SIE aproximou-se ao limite da redução eficiente dos FANs sem causar significativa indisponibilização de nutrientes como observado em casos de processamento excessivo.

Corroborando com os dados deste trabalho, Lima et al. (2018) observaram aumento da EMA e EMAn da torta de soja com a elevação das temperaturas de extrusão até 105.58°C, com redução do aproveitamento da energia a partir desta temperatura. Os autores observaram que os coeficientes de digestibilidade ileal standardizado de aminoácidos essenciais e não essenciais aumentaram em resposta a maior temperatura de extrusão. Foi relatado por Jahanian and Rasouli (2016) aumento nos coeficientes de digestibilidade ileal da PB e aminoácido (AA) pela extrusão do farelo de soja. A extrusão é uma tecnologia de processamento térmico que pode aumentar a digestibilidade dos nutrientes dos grãos para frangos jovens (Meng et al., 2005). O aumento na digestibilidade dos nutrientes pode ocorrer através da ruptura física das paredes celulares e clivagem de polissacarídeos não amiláceos em fragmentos menores, reduzindo substancialmente os FANs (Meng et al., 2005).

4.2. Peso e histomorfometria do fígado e pâncreas

O maior peso do pâncreas das aves aos 21 e aos 42 dias pós-eclosão que receberam U-SIE pode ter ocorrido como resposta ao bloqueio da ação das proteases pelos ITs presentes na soja, promovendo um contínuo estímulo do pâncreas para liberar mais tripsina e quimotripsina. Isto resulta na hipertrofia e a hiperplasia do órgão como mecanismo para mitigar o problema (Clarke and Wiseman, 2007; Heger et al., 2016; Jahanian and Rasouli, 2016; Rada et al., 2017; Erdaw et al., 2017a; Hoffmann et al., 2019). De forma similar ao observado neste trabalho, Perez-Maldonado et al. (2003) e Rocha et al. (2014) relataram maior peso do pâncreas nos frangos alimentados com soja integral crua e sub aquecida em comparação aos alimentados com dietas contendo soja integral ou farinha de soja tratadas dentro dos níveis recomendados. Erdaw et al. (2017b) observaram que a substituição do farelo de soja por farelo de soja cru de 0 a 20 % (0 a 60 g / kg de dieta) nas dietas aumentou o peso do pâncreas dos frangos com 10, 24 e 35 dias de vida.

O aumento no peso absoluto do fígado nos frangos com 21 dias de idade alimentados com U-SIE demonstra que o processamento aplicado foi insuficiente para inativar FANs como as lectinas. As lectinas são hemaglutininas que se ligam à sítios específicos de compostos glicídicos, principalmente as glicoproteínas presentes na superfície das hemácias que também são inativadas por tratamento térmico (Liener, 1994; Fasina et al., 2006; Rocha et al., 2014). Quando não inativadas, parte das lectinas são absorvidas e provocam destruição das microvilosidades, graves lesões renais, atrofia do timo, hipertrofia do fígado e pâncreas, atrofia muscular e aumento do catabolismo proteico, lipídico e de carboidratos (Brito et al., 2006; Fasina et al., 2006; Rocha et al., 2014). É provável que a ausência de resposta do peso do fígado dos frangos aos 42 dias ao nível de processamento da SIE evidencie uma maturidade fisiológica do órgão. Por outro lado, o aumento do peso absoluto do fígado com a suplementação de protease pode ter ocorrido em resposta ao maior aporte de nutrientes, principalmente aminoácidos, provenientes da degradação proteica realizada pela enzima, que precisou ser metabolizado pelo órgão. Entretanto, esta resposta vai em sentido contrário ao relatado por Aderibigbe et al. (2020) que observaram redução do peso absoluto e peso relativo do fígado de frangos com a suplementação de protease exógena (0 ou 10 g de uma pré-mistura que forneceu 15.000 PROT / kg de ração) aos 21 dias de vida. Os autores observaram que a adição de inibidor de tripsina purificado (0 ou 9.000 TIU / g em uma ração com 1.033 TIU / g) não influenciou o peso absoluto e relativo do fígado de frangos com 14 e 21 dias (Aderibigbe et al., 2020). Erdaw et al. (2017a) ao substituírem de 0 a 60 g de farelo de soja /

kg de dieta (0 a 20 %) por farelo de soja cru, também não observaram alteração do peso relativo (g/100g de peso corporal) do fígado dos frangos com 10 e 24 dias de vida.

A avaliação histológica do fígado e pâncreas complementou os achados de peso absoluto e relativo destes órgãos e, conjuntamente, explicam os resultados de desempenho de crescimento e utilização de nutrientes observados neste trabalho. Estas avaliações possibilitam entender as transformações histológicas que ocorrem nestes órgãos, e por inferência, levantar suas possíveis alterações citológicas e fisiológicas. No tipo de avaliação histológica que foi realizada, o tamanho (em área ou número) da célula ou segmento é estimado pelo percentual de pontos sobre ele. Por exemplo, em comparação a um outro tratamento, a maior a contagem sobre uma determinada célula, indica seu crescimento em volume (hipertrofia) ou em número (hiperplasia). E, independente se por hipertrofia ou hiperplasia, este crescimento pode ocorrer por maior demanda ou efeito de algum FAN da soja, como IT no pâncreas e as lectinas no fígado (Brito et al., 2006; Fasina et al., 2006; Rocha et al., 2014; Rada et al., 2017; Erdaw et al., 2017a).

Uma evidência que a protease contribuiu com a atividade hepática reduzindo sua demanda metabólica é a diminuição do citoplasma dos hepatócitos observado no fígado dos frangos com 21 dias de vida alimentados com rações contendo S-SIE ou O-SIE ao receberem a suplementação dietética da protease. Como isso aconteceu nos grupos alimentados com dietas contendo SIE com maiores níveis de processamento, logo menos FANs, é provável que a protease tenha contribuído na degradação da proteína e melhoria da digestibilidade de AA, e assim reduz a demanda do fígado (Clarke and Wiseman, 2005; Aderibigbe et al., 2020). Além de melhorar a digestibilidade proteica, a protease nas dietas com S-SIE pode ter atuado complementarmente na inativação ou destruição dos ITs e lectinas (Erdaw et al., 2017b; Cowieson et al., 2017; Aderibigbe et al., 2020). No entanto, a inexistência de efeito sobre o citoplasma e hepatócitos das aves alimentadas com U-SIE ($p > 0.05$) mostra que a eficiência da protease é limitada pela concentração dos FANs. Quando há alteração no tamanho ou número dos hepatócitos, a área ocupada com as demais células e tecidos é consequentemente alterada. Este reajuste de área ficou bem evidente nas respostas de contagem de pontos sobre o espaço intercelular (região entre células compostas por tecido conjuntivo e sinusoides) do fígado dos frangos com 21 e 42 dias de vida.

Aos 21 dias de vida, é provável que o fígado dos frangos dos tratamentos com U-SIE tenha sido prematuramente forçado a passar por transformações histológicas para se ajustar à demanda de controle e metabolização de fatores desafiadores como FANs e nutrientes. Desta forma, o órgão já havia passado por crescimento hipertrófico e hiperplásico evidenciado pelo

maior peso relativo e maior contagem de hepatócitos. Possivelmente, as aves alimentadas com S-SIE passaram por este crescimento adaptativo do fígado através de multiplicação celular por volta dos 21 dias de vida. Isto é demonstrado pelo aumento dos núcleos e pela maior relação núcleo/citoplasma observado nesta idade. E, é evidenciado nos frangos com 42 dias que não apresentaram as diferenças no peso relativo do fígado entre os processamentos da SIE observadas aos 21 dias. Aparentemente, as aves dos tratamentos com O-SIE apenas passaram por este crescimento do fígado próximo aos 42 dias de vida. Esta afirmativa é embasada pela maior contagem de núcleos e maior relação núcleo/citoplasma destas aves, que segundo Skovorodin et al. (2019), implica em elevação da atividade funcional dos hepatócitos. Esta afirmativa é consistente com os relatos de que as aves apresentam aumento do peso do fígado acompanhado de hipertrofia celular prevalecente sobre sua proliferação de 30 a 60 dias de idade (Mariappan et al., 2018; Skovorodin et al., 2019).

Como dito anteriormente, o tamanho (em área ou número) da célula ou segmento avaliado é estimado pelo percentual de pontos sobre ele. Estas avaliações histológicas possibilitam inferir de que forma os fatores em estudo afetaram histológica e fisiologicamente o fígado e o pâncreas. Por meio disso, é possível que o aumento dos hepatócitos dos frangos aos 42 dias de idade em resposta a redução do processamento da SIE, tenha ocorrido como consequência da maior concentração de FANs ativos (instáveis ao calor) como as lectinas e os fatores alérgenos. A redução da contagem de hepatócitos propiciada pela protease, nas aves que receberam U-SIE, evidencia que a enzima atua na inativação de parte das lectinas e outros FANs reduzindo seus efeitos negativos. No entanto, nas aves que receberam O-SIE, a protease aumentou os hepatócitos, bem como aumentou os citoplasmas dos hepatócitos do fígado das aves alimentadas com a S-SIE ou O-SIE. Provavelmente, nestas rações havia menos FANs ativos, e assim uma maior parcela das proteases estava disponível para atuar na degradação da proteína e na digestibilidade de AA (Cowieson, 2010; Angel et al., 2011; Cowieson and Roos, 2013). Com mais proteases atuando na degradação proteica, um maior aporte de nutrientes, principalmente AA, precisou ser metabolizado pelo fígado, e provavelmente, causou o aumento dos hepatócitos observados nas aves que receberam a protease.

O tecido do pâncreas consiste em células exócrinas acinares e ductais e células endócrinas dispersas nas ilhotas de Langerhans. A maior parte do volume do pâncreas é composto pelas células acinares. A parte endócrina pancreática constitui apenas 1 a 2% do tecido pancreático (Houbracken and Bouwens, 2017). As células acinares sintetizam grandes quantidades de zimogênios de enzimas digestivas, que são secretados na árvore ductal que leva ao duodeno. Neste estudo, ao avaliar a morfometria do pâncreas dos frangos aos 21 dias

de vida foi observado que a ingestão de U-SIE aumentou a contagem de pontos sobre as células acinares. O maior percentual de pontos indica aumento no tamanho e número de células exócrinas acinares, e explica o aumento no peso absoluto e peso relativo do pâncreas (Tabela 8) dos frangos aos 21 dias. No grupo que recebeu dietas suplementadas com a protease houve redução dos ácinos em resposta ao aumento do processamento. Resultados consistentes como os relatados por Rocha et al. (2014) que mostraram aumento no tamanho e número de células exócrinas, e no tamanho e peso do pâncreas de frangos alimentados com soja integral crua. Estas respostas podem ser atribuídas à uma adaptação do pâncreas exócrino à presença de FANs da SIE, como os inibidores de protease. Quando se complexão às enzimas proteolíticas como a tripsina e quimotripsina, os inibidores bloqueiam a atividade das proteases e causam o estímulo à produção e secreção de mais enzimas de forma compensatória para digerir o conteúdo proteico luminal. A persistência deste estímulo, leva à hipertrofia do pâncreas (Clarke and Wiseman, 2007; Heger et al., 2016; Jahanian and Rasouli, 2016; Hoffmann et al., 2019).

Nesta fase, a suplementação da protease na dieta aumentou os ácinos pancreáticos dos frangos com 21 dias alimentados com S-SIE, e reduziu nas aves que receberam O-SIE. Aderibigbe et al. (2020) relataram que nas aves suplementadas com a protease exógena na dieta, a adição de inibidor de tripsina purificado não causou o aumento do peso do pâncreas observado nos frangos que não receberam a protease. Para os autores, isto demonstrou que a enzima foi eficaz em mitigar o efeito negativo dos inibidores de tripsina O-SIE na dieta sobre o pâncreas (Aderibigbe et al., 2020). Esta interpretação é respaldada por Ao (2011) que relatou que a suplementação enzimática pode reduzir o impacto negativo dos FANs.

A menor contagem de ilhotas de Langerhans nas aves aos 21 dias de idade que receberam S-SIE, deixam claro que o processamento da SIE afeta diretamente o pâncreas endócrino. Estes resultados estão em consonância com os achados de Yanatori and Fujita (1976) que observaram aumento do tamanho das ilhotas de Langerhans de ratos alimentados com inibidor de tripsina de soja. Pouco se tem na literatura a respeito do efeito do consumo de soja e derivados sobre as Ilhotas de Langerhans. Historicamente, os estudos sobre os efeitos dos FANs sobre o pâncreas têm se concentrado essencialmente no peso do órgão e, em uma magnitude menor, sobre a parte exócrina. É possível que assim como as células acinares, as Ilhotas de Langerhans de frangos em crescimento também sejam afetadas pelos ITs e lectinas, bem como, tenham a plasticidade adaptativa à demanda metabólica endócrina, como demonstrado em humanos e roedores (Houbracken and Bouwens, 2017; Anzi et al., 2018). No entanto, outra explicação válida para a variação observada nas Ilhotas de Langerhans

decorram, em parte, de uma adaptação espacial as alterações ocorridas nos ácinos. Este entendimento é mais evidente nos ductos intra e interlobulares e nos ductos intercalares, que responderam ao processamento da SIE e adição da protease, praticamente, em sentido contrário ao observados nos ácinos.

Aos 42 dias de idade, o nível de processamento da SIE e conseqüentemente do teor de FANs, não afetou os ácinos pancreáticos dos frangos que receberam dietas sem a adição da protease. O que pode apontar uma menor sensibilidade do órgão aos FANs. É plausível que os frangos nesta idade possuam o trato gastrointestinal maduro e adaptado a estes fatores desafiadores se comparado a animais jovens. Logo, são mais resistentes aos ITs. Essa afirmação está de acordo com estudos que relataram maior sensibilidade do pâncreas de aves jovens às concentrações de ITs (Erdaw et al., 2017b; Aderibigbe et al., 2020). Ao contrário do ocorrido com os ácinos, a protease aumentou as ilhotas de Langerhans e os ductos intercalares dos frangos alimentados com O-SIE, e reduziu os ductos intercalares das aves que receberam U-SIE. Isto reforça a hipótese levantada aos 21 dias, que a maior parte da variação observada na área das células e tecidos pancreáticos decorrem de uma adaptação espacial às alterações ocorridas no tamanho e número de ácinos. Entre os frangos suplementados com a protease, aos 42 dias de idade, a menor e maior contagem de pontos sobre ácinos foram observadas nas aves que receberam O-SIE e U-SIE, respectivamente. Estas respostas reforçam a hipótese que a protease exógena foi eficaz em reduzir o impacto negativo dos FANs. Hipótese que encontra respaldo em trabalhos anteriores que relataram eficácia da suplementação enzimática na redução do impacto negativo dos FANs (Ao, 2011; Aderibigbe et al., 2020).

4.3. Avaliação histológica do intestino delgado

A altura das vilosidades está relacionada à área de superfície, conseqüentemente a absorção de nutrientes. Por sua vez, a profundidade da cripta reflete a velocidade de renovação do tecido e da vilosidade (Ma and Guo, 2008). A relação entre a altura das vilosidades e a profundidade das criptas (vilo/cripta) indica a capacidade digestiva e absorptiva de nutrientes pelo intestino (Fasina et al., 2006; Rada et al., 2017). A maior altura de vilosidades e relação vilo/cripta observadas nas aves que receberam O-SIE indicam que este grupo possuía melhor capacidade absorptiva dos nutrientes e explica as melhores respostas de desempenho de crescimento e utilização de nutrientes observadas. Da mesma forma, o encurtamento dos vilos (atrofia das vilosidades) causa diminuição da área de superfície de absorção de nutrientes. No presente estudo, a redução no processamento da SIE (U-SIE e S-SIE) influenciou

negativamente a altura das vilosidades e a profundidade de cripta. Esses resultados são consistentes com os de Rocha et al. (2014) que relataram menor altura das vilosidades e maior número de células caliciformes do íleo de frangos aos 21 dias de idade alimentados com 15% de soja integral crua em comparação com os que receberam dietas contendo apenas soja integral desativada ou em combinação com soja integral superaquecida. Foltyn et al. (2013) mostraram que a inclusão de 4, 8 e 12% de SIE nas dietas para frangos com 38 dias de vida reduziu a altura das vilosidades e a profundidade das criptas da mucosa intestinal na região do divertículo de Meckel. Foi relatado por Rada et al. (2017) que a substituição de 4 a 8 % do farelo de soja por soja integral crua nas dietas para frangos de corte influenciou negativamente a altura das vilosidades e a relação vilo/cripta da mucosa intestinal na região do divertículo de Meckel.

Uma das características dos FANs da soja, como os IT e as lectinas, são os efeitos negativos sobre a morfologia e função do trato gastrointestinal. Aderibigbe et al. (2020) mostraram que frangos aos 21 dias de idade alimentados com dietas contendo inibidor de tripsina purificado apresentaram vilosidades do tecido jejunal menores. Fasina et al. (2006) verificaram redução na profundidade de cripta e aumento na relação vilo/cripta do jejuno em perus com 14 dias de vida alimentados com dieta semi-purificada suplementada com 0.048% de lectina de soja. As lectinas têm a capacidade de se ligar a moléculas específicas na superfície da borda em escova da mucosa intestinal. Isso rompe o epitélio intestinal, reduz a altura das vilosidades, altera a atividade das enzimas da borda em escova, causa hipersecreção de proteínas endógenas, aumenta o número de células caliciformes secretoras de mucina e danifica as microvilosidades (Brito et al., 2006; Fasina et al., 2006; Rocha et al., 2014). No entanto, os achados do presente estudo mostram que a protease exógena foi eficaz em melhorar saúde e integridade intestinal dos frangos em crescimento ao aumentar a altura das vilosidades e a profundidade das criptas. Isso aponta uma melhor capacidade de digestão e aproveitamento dos nutrientes da dieta. Esta conclusão encontra respaldo nos achados de Aderibigbe et al. (2020) que também observaram aumento na altura das vilosidades e na profundidade da cripta no tecido jejunal das aves com 21 dias que receberam protease exógena.

A avaliação histológica do intestino dos frangos com 42 dias de idade indicou menor sensibilidade aos FANs decorrente de uma possível adaptação e maturidade fisiológica do trato gastrointestinal. Isto por que a mucosa duodenal e jejunal aos 42 dias foi menos afetada pelos fatores em estudo (nível de processamento da SIE × protease) do que aos 21 dias de vida. Com 42 dias de idade, os frangos que receberam dietas com O-SIE apresentaram maior

profundidade de cripta duodenal e a adição da protease nestas dietas aumentou a relação vilosidade/cripta no duodeno. Sabe-se que os FANs da soja, como os IT e as lectinas, são danosos à mucosa intestinal e são associados a diminuição da altura das vilosidades, profundidade de cripta e relação vilosidade/cripta. Estas mudanças estruturais na mucosa intestinal podem diminuir a eficiência absorviva e o aproveitamento dos nutrientes da dieta (Brito et al., 2006; Fasina et al., 2006; Rocha et al., 2014; Aderibigbe et al., 2020). Estes resultados da avaliação histológica do intestino dos frangos reforçam a hipótese que o maior processamento aplicado a soja no tratamento O-SIE, possibilitou uma redução mais eficiente dos FANs sem causar significativa indisponibilização de nutrientes decorrente do processamento excessivo. Tal como observado nos resultados de desempenho de crescimento e utilização de nutrientes.

4.4. Atividade enzimática

A formação de radicais livres ocorre naturalmente durante o metabolismo aeróbico. Porém, fatores estressores ambientais, nutricionais, ou de outra natureza impulsionam a produção de radicais livres, que em excesso, apresentam efeitos prejudiciais ao organismo. O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo ou absorvidos da dieta. Dentre estes, as enzimas GPx e SOD estão entre os principais elementos do sistema de defesa antioxidante celular (Kruidenier and Verspaget, 2002; Tang et al., 2012). A redução da atividade GPx e da SOD no plasma sanguíneo causada pela protease exógena observadas no presente estudo evidencia que a enzima exógena contribuiu com a redução da oxidação plasmática nos frangos de corte.

A adição da protease na dieta aumentou a atividade da tripsina jejunal nos frangos com 21 dias e reduziu nos animais com 42 dias de vida em relação aos que não receberam a enzima. A resposta da atividade de tripsina endógena à suplementação com proteases exógenas não segue um padrão comum na literatura. De forma semelhante ao observado neste estudo, Erdaw et al. (2017b) observaram que a suplementação de 0.3g de protease / kg de dieta aumentou as atividades das enzimas pancreáticas: tripsina, quimotripsina, lipase, bem como a atividade proteolítica geral no pâncreas de frangos de corte aos 24 dias de idade. Isso está em consonância com os relatos de Aderibigbe et al. (2020), que relataram aumento na atividade de tripsina e quimotripsina com a administração de protease exógena na digesta duodenal (Aderibigbe et al., 2020). Contudo, Yuan et al. (2015) relataram que a adição de 160 mg de uma protease ácida / kg de dieta para frangos com 21 dias, diminuiu significativamente a atividade da tripsina e a expressão do mRNA da tripsina em comparação com os níveis menores. Nos frangos com 42 dias, a adição de 80 e 160 mg da protease ácida / kg da dieta

diminuiu significativamente a atividade da tripsina e da expressão do mRNA da tripsina. Para os autores, a diminuição na expressão do mRNA da tripsina pode ter ocorrido em resposta à degradação de proteínas no intestino pela protease ácida exógena, o que resultou na diminuição do estímulo dietético ao sistema neural do trato gastrointestinal, conseqüentemente, a regulação negativa da expressão de tripsina. Os autores complementam que, o aumento de proteases na circulação enteropancreática e, conseqüentemente, acúmulo de protease no pâncreas decorrente do aporte extra de protease advindo da dieta pode afetar negativamente a produção pancreática de mRNA ou proteína de tripsina. Uma vez que, parte significativa das enzimas digestivas pancreáticas são reabsorvidas, transportadas no sangue e recicladas na circulação enteropancreática (Yuan et al., 2015). A redução na atividade enzimática a nível intestinal pode decorrer da não especificidade inibitória dos ITs para a tripsina, mas também afetar a atividade da quimotripsina, que depende da tripsina para ser ativada. Por outro lado, o aumento da atividade das proteases quando houve suplementação com protease exógena sugere uma complementaridade ou aditividade entre as proteases exógenas e endógenas (Aderibigbe et al., 2020).

5. CONCLUSÃO

O nível de processamento da soja integral extrusada (SIE) influencia o desempenho dos frangos de corte de 1 a 42 dias de vida, a metabolizabilidade da energia, a digestibilidade dos nutrientes, e o peso do fígado e do pâncreas aos 21 e 42 dias de vida. De forma que, o processamento extra aplicado a soja integral extrusada caracterizado pela soja com proteína solúvel média de 76,9% e atividade ureática de 0,12 promove melhores respostas de desempenho de crescimento dos frangos, metabolizabilidade da energia aparente corrigida para nitrogênio, e de digestibilidade de proteína bruta e do extrato etéreo. O maior processamento da SIE melhora os índices de desempenho e aproveitamento de nutrientes devido a inativação mais eficiente dos FANs, em especial dos inibidores de tripsina e lectinas, sem que haja significativa indisponibilização de nutrientes. A adição da protease na ração é uma estratégia eficiente na melhoria do aproveitamento da energia e mitigação dos efeitos nocivos dos FANs da dieta sobre o pâncreas, fígado e intestino delgado. Comprovado pelos resultados da avaliação histomorfométrica do fígado e pâncreas e pela melhoria da saúde e integridade intestinal dos frangos em crescimento ao aumentar a altura das vilosidades e a profundidade das criptas. Além disso, os benefícios da adição de protease podem ser relacionados a redução da oxidação plasmática nos frangos de corte.

6. REFERÊNCIAS

- Aderibigbe, A., A. J. Cowieson, J. O. Sorbara, G. Pappenberger, and O. Adeola. 2020. Growth performance and amino acid digestibility responses of broiler chickens fed diets containing purified soybean trypsin inhibitor and supplemented with a monocomponent protease. *Poult. Sci.* 99:5007–5017.
- Angel, C. R., W. Saylor, S. L. Vieira, and N. Ward. 2011. Effects of a monocomponent protease on performance and protein utilization in 7- to 22-day-old broiler chickens. *Poult. Sci.* 90:2281–2286.
- Anzi, S., M. Stolovich-Rain, A. Klochendler, O. Fridlich, A. Helman, A. Paz-Sonnenfeld, N. Avni-Magen, E. Kaufman, M. B. Ginzberg, D. Snider, S. Ray, M. Brecht, M. M. Holmes, K. Meir, A. Avivi, I. Shams, A. Berkowitz, A. M. J. Shapiro, B. Glaser, S. Ben-Sasson, R. Kafri, and Y. Dor. 2018. Postnatal Exocrine Pancreas Growth by Cellular Hypertrophy Correlates with a Shorter Lifespan in Mammals. *Dev. Cell* 45:726-737.e3.
- Ao, T. 2011. Using Exogenous Enzymes to Increase the Nutritional Value of Soybean Meal in Poultry Diet. in *Soybean and Nutrition*. InTech.
- AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis of AOAC International* (W Horwitz and GE Latimer, Eds.). 18th ed. Gaithersburg, MD.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248–254.
- Brito, C. O., L. F. T. Albino, H. S. Rostagno, P. C. Gomes, D. C. O. Carvalho, and A. Corassa. 2006. Adição de complexo multienzimático em dietas à base de soja extrusada: valores energéticos e digestibilidade de nutrientes em pintos de corte. *Rev. Bras. Zootec.* 35:1047–1055.
- Clarke, E., and J. Wiseman. 2005. Effects of variability in trypsin inhibitor content of soya bean meals on true and apparent ileal digestibility of amino acids and pancreas size in broiler chicks. *Anim. Feed Sci. Technol.* 121:125–138.
- Clarke, E., and J. Wiseman. 2007. Effects of extrusion conditions on trypsin inhibitor activity of full fat soybeans and subsequent effects on their nutritional value for young broilers. *Br. Poult. Sci.* 48:703–712.
- Cowieson, A. J. 2010. Strategic Selection of Exogenous Enzymes for Corn/soy-based Poultry Diets. *J. Poult. Sci.* 47:1–7.

- Cowieson, A. J., H. Lu, K. M. Ajuwon, I. Knap, and O. Adeola. 2017. Interactive effects of dietary protein source and exogenous protease on growth performance, immune competence and jejunal health of broiler chickens. *Anim. Prod. Sci.* 57:252.
- Cowieson, A. J., and F. F. Roos. 2013. Bioefficacy of a mono-component protease in the diets of pigs and poultry: a meta-analysis of effect on ileal amino acid digestibility. *J. Appl. Anim. Nutr.* 2:e13.
- Diftis, N., and V. Kiosseoglou. 2006. Stability against heat-induced aggregation of emulsions prepared with a dry-heated soy protein isolate–dextran mixture. *Food Hydrocoll.* 20:787–792.
- Erdaw, M. M., R. A. Perez-Maldonado, M. Bhuiyan, and P. A. Iji. 2017a. Partial replacement of commercial soybean meal with raw, full-fat soybean meal supplemented with varying levels of protease in diets of broiler chickens. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 47:61.
- Erdaw, M. M., S. Wu, and P. A. Iji. 2017b. Growth and physiological responses of broiler chickens to diets containing raw, full-fat soybean and supplemented with a high-impact microbial protease. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 30:1303–1313.
- Fasina, Y. O., H. L. Classen, J. D. Garlich, B. L. Black, P. R. Ferket, Z. Uni, and A. A. Olkowski. 2006. Response of Turkey Poults to Soybean Lectin Levels Typically Encountered in Commercial Diets. 2. Effect on Intestinal Development and Lymphoid Organs. *Poult. Sci.* 85:870–877.
- Heger, J., M. Wiltafsky, and J. Zelenka. 2016. Impact of different processing of full-fat soybeans on broiler performance. *Czech J. Anim. Sci.* 61:57–66.
- Hoffmann, D., S. Thurner, D. Ankerst, K. Damme, W. Windisch, and D. Brugger. 2019. Chickens' growth performance and pancreas development exposed to soy cake varying in trypsin inhibitor activity, heat-degraded lysine concentration, and protein solubility in potassium hydroxide. *Poult. Sci.* 98:2489–2499.
- Houbracken, I., and L. Bouwens. 2017. Acinar cells in the neonatal pancreas grow by self-duplication and not by neogenesis from duct cells. *Sci. Rep.* 7:12643.
- Jahanian, R., and E. Rasouli. 2016. Effect of extrusion processing of soybean meal on ileal amino acid digestibility and growth performance of broiler chicks. *Poult. Sci.* 95:2871–2878.
- Kruidenier, L., and H. W. Verspaget. 2002. Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease — radicals or ridiculous? *Aliment. Pharmacol. Ther.* 16:1997–2015.

- Liener, I. E. 1994. Implications of antinutritional components in soybean foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 34:31–67.
- Mariappan, A. K., P. Munusamy, S. K. Latheef, S. D. Singh, and K. Dhama. 2018. Hepato nephropathology associated with inclusion body hepatitis complicated with citrinin mycotoxicosis in a broiler farm. *Vet. World* 11:112–117.
- Meng, X., B. A. Slominski, C. M. Nyachoti, L. D. Campbell, and W. Guenter. 2005. Degradation of cell wall polysaccharides by combinations of carbohydrase enzymes and their effect on nutrient utilization and broiler chicken performance. *Poult. Sci.* 84:37–47.
- Perez-Maldonado, R. A., P. F. Mannion, and D. J. Farrell. 2003. Effects of heat treatment on the nutritional value of raw soybean selected for low trypsin inhibitor activity. *Br. Poult. Sci.* 44:299–308.
- Rada, V., M. Lichovnikova, and I. Safarik. 2017. The effect of soybean meal replacement with raw full-fat soybean in diets for broiler chickens. *J. Appl. Anim. Res.* 45:112–117.
- Rocha, C., J. F. Durau, L. N. E. Barrilli, F. Dahlke, P. Maiorka, and A. Maiorka. 2014. The effect of raw and roasted soybeans on intestinal health, diet digestibility, and pancreas weight of broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 23:71–79.
- Skovorodin, E., G. Bronnikova, G. Bazekin, O. Dyudbin, and R. Khokhlov. 2019. Antioxidant influence on poultry liver morphology and hepatocyte ultrastructure. *Vet. World* 12:1716–1728.
- Stein, H. H., L. L. Berger, J. K. Drackley, G. C. Fahey, D. C. Hernot, and C. M. Parsons. 2008. Nutritional Properties and Feeding Values of Soybeans and Their Coproducts. Pages 613–660 in *Soybeans: Chemistry, Production, Processing, and Utilization*. AOCS Press.
- Tang, X., Q. Wu, G. Le, and Y. Shi. 2012. Effects of heat treatment on structural modification and in vivo antioxidant capacity of soy protein. *Nutrition* 28:1180–1185.
- Yanatori, Y., and T. Fujita. 1976. Hypertrophy and Hyperplasia in the Endocrine and Exocrine Pancreas of Rats Fed Soybean Trypsin Inhibitor or Repeatedly Injected with Pancreozymin. *Arch. Histol. Jpn.* 39:67–78.
- Yuan, L., S. Q. Wang, Z. Wang, H. Zhu, and K. Huang. 2015. Effects of exogenous protease supplementation on endogenous trypsin activity and gene expression in broilers. *Genet. Mol. Res.* 14:13633–13641.

7. FIGURAS E TABELAS

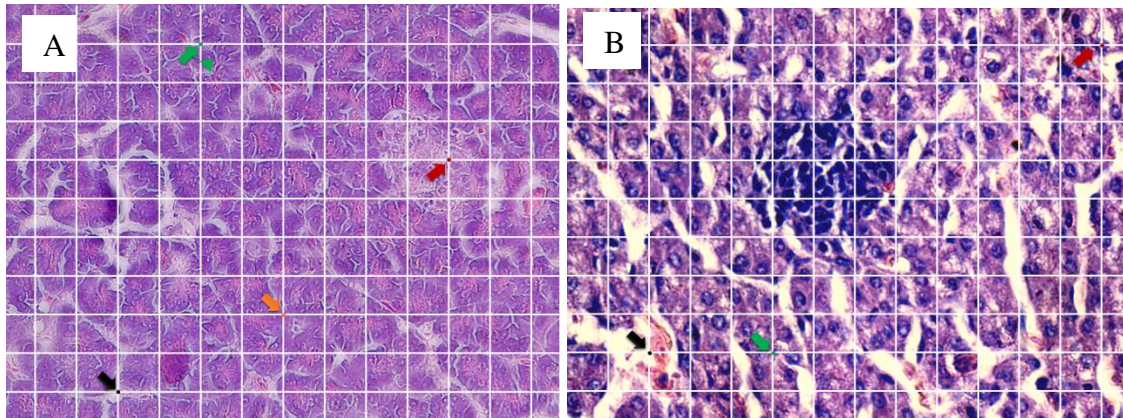


Figura 1. Quadrícula com 130 pontos (intercessão entre linhas verticais e horizontais) colocados sobre fotomicroscopia de (A) pâncreas (200x) e (B) fígado (400x) usados para análise histomorfométrica (hematoxilina e eosina). Na figura A (pâncreas), seta laranja aponta ponto sobre o ácino pancreático, seta vermelha as ilhotas de Langerhans, preta o ducto interlobulares (intra), e a verde mostra ponto sobre o ducto intercalar (cabeça de seta verde). Na figura B (fígado), a seta vermelha aponta ponto sobre o núcleo do hepatócito, verde o citoplasma do hepatócito e a preta mostra ponto sobre o espaço intercelular (região entre células compostas por tecido conjuntivo e sinusoides).

Tabela 1. Composições das dietas experimentais para frangos de 1 a 21 dias de vida.

Ingredientes (%)	U-SIE	U-SIE/P	S-SIE	S-SIE/P	O-SIE	O-SIE/P
Milho	52.815	52.800	52.815	52.800	52.815	52.800
Farelo de soja (46%)	18.460	18.460	18.460	18.460	18.460	18.460
Soja integral						
Sub processada	24.000	24.000	-	-	-	-
Padrão	-	-	24.000	24.000	-	-
Super processada	-	-	-	-	24.000	24.000
Caulim	0.072	0.072	0.072	0.072	0.072	0.072
Sal comum	0.350	0.350	0.350	0.350	0.350	0.350
Bicarbonato de sódio	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200
Fosfato bicálcico	1.416	1.416	1.416	1.416	1.416	1.416
Calcário	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500
DL – Metionina (98%)	0.378	0.378	0.378	0.378	0.378	0.378
L-Lisina HCl (80%)	0.213	0.213	0.213	0.213	0.213	0.213
L-Treonina (98%)	0.106	0.106	0.106	0.106	0.106	0.106
Cloreto de colina 60%	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050
Adsorv. de micotoxina	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
Suplemento mineral ¹	0.130	0.130	0.130	0.130	0.130	0.130
Suplemento vitamínico ²	0.130	0.130	0.130	0.130	0.130	0.130
Avilamicina ³	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
Coccidiostático ⁴	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050
Antioxidante ⁵	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
Fitase ⁶	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
Protease ⁷	-	0.012	-	0.012	-	0.012
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Composição calculada⁸						
Energia Met. (kcal/kg)	3.143	3.143	3.143	3.143	3.143	3.143
Proteína bruta (%)	22.3	22.3	22.3	22.3	22.3	22.3
Extrato etéreo (%)	7.289	7.289	7.289	7.289	7.289	7.289
Fibra bruta (%)	3.483	3.483	3.483	3.483	3.483	3.483
Lisina Diges. (%)	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
Met + Cis Diges. (%)	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97
Treonina Diges. (%)	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83
Triptofano Diges. (%)	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24
Sódio (%)	0.224	0.224	0.224	0.224	0.224	0.224
Cálcio (%)	1.077	1.077	1.077	1.077	1.077	1.077
Fósforo Diges. (%)	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
Composição analisada						
Proteína bruta (%)	21.4	20.3	21.9	20.8	21.7	21.4
Lisina (%) ⁹	1.33	1.35	1.38	1.33	1.41	1.42
Metionina (%) ⁹	0.61	0.61	0.63	0.67	0.54	0.61
Met + Cis (%) ⁹	1.22	1.21	1.33	1.06	1.31	1.17
Treonina (%) ⁹	0.87	0.92	0.89	0.90	0.90	0.90
Triptofano (%) ⁹	0.20	0.25	0.23	0.24	0.24	0.23

Tratamentos: U-SIE: Soja integral extrusada sub processada; U-SIE/P: U-SIE com protease; S-SIE: Soja integral extrusada com processamento padrão; S-SIE/P: S-SIE com protease; O-SIE: Soja integral extrusada super processada; O-SIE/P: O-SIE com protease;

¹ Composição por kg de produto: manganês, 150.000 mg; zinco, 140.000 mg; ferro, 100.000 mg; cobre, 16.000 mg; e iodo 1.500 mg. ² Composição por kg de produto: vit. A, 5.600.000 UI; vit. D3, 1.200.000 UI; vit. E, 10.000 UI; vit. B1, 1.550 mg; vit B2, 4.000 mg; vit. B6, 2.080 mg; ácido pantotênico, 10.400 mg; vit K3, 1.200 mg; ácido fólico, 650 mg; niacina, 28.000 mg; vit B12, 8.000 µg; selênio, 300 mg e antioxidante, 0.50 g. ³ Avilamicina (Surmax 200). ⁴ Salinomicina sódica (12%). ⁵ Hidroxibutiltolueno – BHT. ⁶ Sunphase Granular P5000. ⁷ TECMAX PRO. ⁸ Valores calculados com base na composição nutricional das matérias primas (Rostagno et al., 2017). ⁹ Aminoácido total

Tabela 2. Composições das rações experimentais para frangos de 21 a 41 dias de vida.

Ingrediente (%)	U-SIE	U-SIE/P	S-SIE	S-SIE/P	O-SIE	O-SIE/P
Milho	58.830	58.820	58.830	58.820	58.830	58.820
Farelo de soja (46%)	13.450	13.450	13.450	13.450	13.450	13.450
Soja integral						
Sub processada	24.000	24.000	-	-	-	-
Padrão	-	-	24.000	24.000	-	-
Super processada	-	-	-	-	24.000	24.000
Caulim	0.032	0.032	0.032	0.032	0.032	0.032
Sal comum	0.350	0.350	0.350	0.350	0.350	0.350
Bicarbonato de sódio	0.150	0.150	0.150	0.150	0.150	0.150
Fosfato bicálcico	1.185	1.185	1.185	1.185	1.185	1.185
Calcário	1.176	1.176	1.176	1.176	1.176	1.176
DL – Metionina (98%)	0.257	0.257	0.257	0.257	0.257	0.257
L-Lisina HCl (80%)	0.108	0.108	0.108	0.108	0.108	0.108
L-Treonina (98%)	0.032	0.032	0.032	0.032	0.032	0.032
Cloreto de colina 60%	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050
Adsorv. de micotoxinas	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
Suplemento mineral ¹	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
Suplemento vitamínico ²	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
Promotor ³	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
Coccidiostático ⁴	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050
Antioxidante ⁵	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
Fitase ⁶	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
Protease ⁷	-	0.012	-	0.012	-	0.012
Total	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
Composição calculada/analísada⁸						
Energia Met. (kcal/kg)	3.216	3.216	3.216	3.216	3.216	3.216
Proteína bruta (%)	20.3	20.3	20.3	20.3	20.3	20.3
Extrato etéreo (%)	7.432	7.432	7.432	7.432	7.432	7.432
Fibra bruta (%)	3.280	3.280	3.280	3.280	3.280	3.280
Lisina Diges. (%)	1.05	1.05	1.05	1.05	1.05	1.05
Met + Cis Diges. (%)	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81
Treonina Diges. (%)	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69
Triptofano Diges. (%)	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22
Sódio (%)	0.209	0.209	0.209	0.209	0.209	0.209
Cálcio (%)	0.900	0.900	0.900	0.900	0.900	0.900
Fósforo Diges. (%)	0.450	0.450	0.450	0.450	0.450	0.450
Composição analisada						
Proteína bruta (%)	19.9	19.8	18.4	20.2	19.8	19.5
Lisina (%)	1.17	1.19	1.12	1.22	1.24	1.18
Metionina (%)	0.46	0.52	0.51	0.52	0.53	0.49
Met + Cis (%)	0.99	1.05	0.96	1.06	1.1	0.95
Treonina (%)	0.76	0.75	0.73	0.77	0.77	0.78
Triptofano (%)	0.20	0.19	0.19	0.20	0.21	0.22

Tratamentos: U-SIE: Soja integral extrusada sub processada; U-SIE/P: U-SIE com protease; S-SIE: Soja integral extrusada com processamento padrão; S-SIE/P: S-SIE com protease; O-SIE: Soja integral extrusada super processada; O-SIE/P: O-SIE com protease

¹ Composição por kg de produto: manganês, 150.000 mg; zinco, 140.000 mg; ferro, 100.000 mg; cobre, 16.000 mg; e iodo 1.500 mg. ² Composição por kg de produto: vit. A, 5.600.000 UI; vit. D3, 1.200.000 UI; vit. E, 10.000 UI; vit. B1, 1.550 mg; vit B2, 4.000 mg; vit. B6, 2.080 mg; ácido pantotênico, 10.400 mg; vit K3, 1.200 mg; ácido fólico, 650 mg; niacina, 28.000 mg; vit B12, 8.000 µg; selênio, 300 mg e antioxidante, 0.50 g. ³Avilamicina (Surmax 200). ⁴ Salinomicina sódica (12%). ⁵ Hidroxibutiltolueno – BHT. ⁶ Sunphase Granular P5000. ⁷ TECMAX PRO. ⁸ Valores calculados com base na composição nutricional das matérias primas (Rostagno et al., 2017). ⁹ Aminoácido total.

Tabela 3. Composição bromatológica, atividade ureática e solubilidade da proteína em KOH das sojas integrais extrusadas com base na matéria natural.

Composição analisada ¹	Soja Integral Extrusada		
	Sub processada	Padrão	Super processada
Umidade (%)	8.30	8.71	7.27
Proteína Bruta (%)	37.3	35.5	36.2
Proteína Solúvel (%)	89.4	88.6	76.9
Atividade Ureática (Var.pH)	0.36	0.10	0.12
Extrato Etéreo (%)	20.0	20.7	19.7
Fibra Bruta (%)	4.17	3.56	3.68
Matéria Mineral (%)	5.32	4.80	5.30

Solubilidade da Proteína em Hidróxido de Potássio (KOH)

Tabela 4. Composições centesimal e calculada da ração para frangos de 1 a 21 dias de idade.

Ingredientes	%	Composição calculada	
Milho	50.00	Energia Met. (kcal/kg)	3.050
Farelo de soja	40.69	Proteína Bruta (%)	21.00
Óleo de soja	4.660	Lisina Digestível (%)	1.318
Caulim	0.112	Metionina+Cistina Digestível (%)	0.975
Calcário	0.935	Treonina Digestível (%)	0.870
Fosfato bicálcico	1.830	Triptofano Digestível (%)	0.237
Sal comum	0.530	Arginina Digestível (%)	1.384
L-Lisina HCl (80%)	0.240	Valina Digestível (%)	1.041
DL-Metionina	0.371	Isoleucina Digestível (%)	0.883
L-Treonina	0.115	Leucina Digestível (%)	1.410
L-Valina	0.083	Cálcio (%)	0.949
Cloreto de colina 60%	0.100	Fósforo Digestível (%)	0.445
Suplemento mineral ¹	0.132	Sódio (%)	0.223
Suplemento vitamínico ²	0.132	Cloro (%)	0.199
Melhorador de desempenho ³	0.010	Potássio (%)	0.606
Coccidiostático ⁴	0.050		
Antioxidante ⁵	0.010		
Total	100.00%		

¹ Composição por kg de produto: manganês, 150.000 mg; zinco, 140.000 mg; ferro, 100.000 mg; cobre, 16.000 mg; e iodo 1.500 mg.

² Composição por kg de produto: vit. A, 5.600.000 UI; vit. D3, 1.200.000 UI; vit. E, 10.000 UI; vit. B1, 1.550 mg; vit B2, 4.000 mg; vit. B6, 2.080 mg; ácido pantotênico, 10.400 mg; vit K3, 1.200 mg; ácido fólico, 650 mg; niacina, 28.000 mg; vit B12, 8.000 µg; selênio, 300 mg e antioxidante, 0.50 g.

³ Avilamicina (Surmax 200).

⁴ Salinomicina sódica (12%).

⁵ Hidroxibutiltolueno – BHT.

Tabela 5. Desempenho de frangos de corte alimentados de 1 a 21, 22 a 42 e 1 a 42 dias de vida com dietas contendo soja integral sub processada, padrão e super processada com ou sem de protease¹.

Variáveis	Sem Protease			Com Protease			Soja			Protease		SEM	p_Valor ²		
	U-SIE	S-SIE	O-SIE	U-SIE	S-SIE	O-SIE	U-SIE	S-SIE	O-SIE	Sem	Com		Soja	Protease	S*P
PMI (g)	46.0	46.0	46.0	46.1	46.1	46.1	46.1	46.1	46.1	46.0	46.1	0.076	0.954	0.105	0.937
<i>1 a 21 dias</i>															
PMF (g)	834	837	869	840	834	866	837B	835B	868A	847	847	8.59	<0.01	0.977	0.854
GPMD	39.4	39.5	41.2	39.7	39.4	41.0	39.5B	39.5B	41.1A	40.0	40.0	0.429	<0.01	0.973	0.853
CRMD	54.2	55.0	55.4	54.0	53.9	55.3	54.1	54.5	55.4	54.9	54.4	0.600	0.099	0.290	0.633
EA	0.715	0.725	0.741	0.729	0.729	0.742	0.722	0.727	0.741	0.727	0.733	0.009	0.082	0.377	0.762
<i>22 a 42 dias</i>															
GPD (g)	104	103	106	104	104	106	104AB	103B	106A	104	105	1.12	0.025	0.541	0.957
CRD	154	153	153	153	152	152	153	153	152	153	152	1.72	0.800	0.675	0.981
EA	0.684	0.674	0.682	0.683	0.680	0.696	0.683	0.677	0.689	0.680	0.686	0.005	0.056	0.092	0.291
<i>1 a 42 dias</i>															
PMF (g)	3037	2996	3081	3032	3009	3099	3034AB	3003B	3090A	3038	3047	26.4	0.004	0.677	0.896
GPD	72.9	72.0	74.0	72.8	72.3	74.5	72.9AB	72.1B	74.3A	73.0	73.2	0.6	0.004	0.680	0.896
CRD	105	105	107	105	104	105	105	105	106	105	105	1.0	0.481	0.281	0.560
EA	0.692	0.685	0.701	0.694	0.690	0.707	0.693B	0.688B	0.704A	0.693	0.697	0.004	0.001	0.180	0.868

¹Cada valor representa a média de 13 boxes com 20 frangos cada.

²Efeitos significativos com P < 0.05.

^{Aa -Bb} Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas para processamento da soja e minúsculas para adição da protease, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%
 Abreviações: U-SIE: Soja integral sub-processada; S-SIE: Soja integral no padrão de processamento; O-SIE: Soja integral super-processada; S*P: Efeito de interação entre o processamento da soja e a adição de protease; PI: Peso inicial (dia 1); PF: Peso no final da fase; GPD: Ganho de peso; CRD: Consumo médio de ração diário, EA: Eficiência alimentar; CA: Conversão alimentar; SEM: Erro padrão da média.

Tabela 6. Metabolizabilidade da energia e coeficientes de digestibilidade de nutrientes em frangos de corte aos 32 dias de vida alimentados com dietas contendo soja integral extrusada sub processada, padrão e super processada com ou sem adição de protease (TECMAX PRO®)¹.

Variavelis		Sem Protease			Com Protease			Soja			Protease		SEM	p_Valor ²		
		U-SIE	S-SIE	O-SIE	U-SIE	S-SIE	O-SIE	U-SIE	S-SIE	O-SIE	Sem	Com		Soja	Protease	S*P
EMAn.	cal/g	3.26aB	3.31aAB	3.39aA	3.33aA	3.38aA	3.27bA	3.29	3.34	3.33	3.32	3.33	0.01	0.196	0.731	<0.01
PB		63.9	62.2	68.9	63.5	64.6	66.9	63.7B	63.4B	67.9A	65.0	65.0	1.01	<0.01	0.878	0.085
EE		80.5	78.5	83.5	80.8	82.8	83.6	80.7B	80.6B	83.5A	80.8	82.4	0.98	<0.01	0.055	0.070
MM		35.2	33.1	29.9	34.3	35.8	26.1	34.7A	34.5A	28.0B	32.7	32.1	1.64	<0.01	0.777	0.186
FDN	(%)	46.8	47.7	39.6	46.5	51.6	38.5	46.6A	49.6A	39.0B	44.7	45.5	2.16	<0.01	0.664	0.472
FDA		45.6aA	36.0bB	43.5aAB	43.4aA	41.6aAB	35.4bB	44.5A	38.8B	39.4B	41.7	40.1	1.61	<0.01	0.209	<0.01
Ca		50.2aA	46.4bA	54.0aA	45.3aB	56.7aA	55.1aA	47.8AB	51.6B	54.5A	50.22	52.34	1.863	<0.01	0.172	<0.01
P		48.8	48.4	51.7	47.2	51.4	53.1	48.0B	49.9AB	52.4A	49.6	50.6	1.21	0.005	0.465	0.188

¹Cada valor representa a média de 8 gaiolas com 5 aves cada.

²Efeitos significativos com P < 0.05.

^{Aa -Bb} Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas para processamento da soja e minúsculas para adição da protease, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%

Abreviações: U-SIE: Soja integral sub-processada; S-SIE: Soja integral no padrão de processamento; O-SIE: Soja integral super-processada; S* P: Efeito de interação entre o processamento da soja e a adição de protease; SEM: Erro padrão da média; EMAn: Energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio; PB: Coeficiente de digestibilidade de proteína bruta; Ca: Cálcio; P: Fósforo; FDN: Fibra em detergente neutro; FDA: Fibra em detergente ácido; MM: Matéria mineral; EE: Extrato etéreo.

Tabela 7. Peso absoluto e relativo de fígado e pâncreas de frangos de corte aos 21 e 42 dias de vida, alimentados com dietas contendo soja integral sub processada, padrão e super processada com ou sem adição de protease (TECMAX PRO®)¹.

Variáveis	Sem Protease			Com Protease			Soja			Protease		SEM	p_Valor ²			
	U-SIE	S-SIE	O-SIE	U-SIE	S-SIE	O-SIE	U-SIE	S-SIE	O-SIE	Sem	Com		Soja	Protease	S*P	
21 Dias																
Fígado	(g)	21.9	19.6	19.3	21.8	20.8	19.1	21.9A	20.2AB	19.2B	20.2	20.6	0.848	0.015	0.651	0.688
Pâncreas	(g)	2.90	2.47	2.28	2.84	2.54	2.37	2.87A	2.51B	2.32B	2.55	2.58	0.138	<0.01	0.749	0.836
Fígado	(%)	3.11	2.77	2.84	3.31	2.73	2.76	3.21A	2.75B	2.80B	2.91	2.94	0.139	0.002	0.801	0.549
Pâncreas	(%)	0.421	0.363	0.334	0.428	0.347	0.316	0.424A	0.355B	0.325B	0.373	0.364	0.017	<0.01	0.526	0.731
42 Dias																
Fígado	(g)	60.7	56.1	59.7	62.4	61.3	64.4	61.6	58.7	62.1	58.8b	62.7a	1.93	0.173	0.014	0.611
Pâncreas	(g)	6.31	5.13	5.20	6.10	5.70	5.27	6.21A	5.41B	5.24B	5.55	5.69	0.215	<0.01	0.415	0.167
Fígado	(%)	1.95	1.88	1.89	2.04	1.94	2.00	2.00	1.91	1.94	1.91	1.99	0.056	0.258	0.057	0.890
Pâncreas	(%)	0.207	0.168	0.169	0.196	0.185	0.161	0.201A	0.176B	0.165B	0.181	0.18	0.007	<0.01	0.852	0.080

¹Cada valor representa a média de 13 frangos.

²Efeitos significativos com P <0.05.

^{Aa-Bb} Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas para processamento da soja e minúsculas para adição da protease, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%
 Abreviações: U-SIE: Soja integral sub-processada; S-SIE: Soja integral no padrão de processamento; O-SIE: Soja integral super-processada; Soj* Prot: Efeito de interação entre o processamento da soja e a adição de protease; SEM: Erro padrão da média.

Tabela 8. Efeito da suplementação dietética de soja integral extrusada em três níveis de processamento com ou sem adição de protease (TECMAX PRO®) na morfometria do fígado de frangos de corte aos 21 e 42 dias de vida¹.

Variáveis	Sem Protease			Com Protease			Soja			Protease		SEM	p_Valor ²		
	U-SIE	S-SIE	O-SIE	U-SIE	S-SIE	O-SIE	U-SIE	S-SIE	O-SIE	Sem	Com		Soja	Protease	S*P
21 dias (%)															
Hepatócito	83.4aA	81.1aA	71.0aB	84.3aA	69.5bB	69.3aB	83.9A	75.3B	70.1C	78.5a	74.4b	1.240	<0.01	<0.01	<0.01
<i>Núcleo</i>	29.7	29.7	22.1	28.4	32.5	26.1	29.1A	31.1A	24.1B	27.2b	29.0a	1.25	<0.01	0.074	0.093
<i>Citop.</i>	52.7aA	50.3aA	48.3aA	55.3aA	37.0bC	43.1bB	54.0A	43.7B	45.7B	50.4a	45.1b	1.08	<0.01	<0.01	<0.01
N / C	0.585aA	0.611bA	0.471bA	0.543aB	0.878aA	0.612aB	0.564B	0.745A	0.542B	0.556b	0.678a	0.036	<0.01	<0.01	<0.01
Esp. Interc.	14.9aB	15.1bB	28.8aA	14.6aB	28.4aA	30.4aA	14.8C	21.7B	29.6A	19.6b	24.5a	0.772	<0.01	<0.01	<0.01
Vasos	2.40	2.15	1.30	1.50	1.98	0.500	1.95	2.06	0.900	1.95	1.33	0.702	0.375	0.397	0.868
Infiltrado	1.14	1.50	1.30	0.73	1.63	0.500	0.933	1.57	0.900	1.31	0.95	0.499	0.367	0.454	0.733
42 dias (%)															
Hepatócito	80.8aA	74.0aB	68.2bC	73.5bA	72.3aA	76.1aA	77.1A	73.2B	72.1B	74.3	74.0	0.991	<0.01	0.675	<0.01
<i>Núcleo</i>	27.1	28.7	33.1	20.8	23.1	25.7	23.9B	25.9B	29.4A	29.6a	23.2b	1.02	<0.01	<0.01	0.688
<i>Citop.</i>	53.9aA	46.1bB	36.0bC	52.6aA	49.1aB	47.9aB	53.3A	47.6B	42.0C	45.3b	49.9a	0.850	<0.01	<0.01	<0.01
N / C	0.500aB	0.606aB	0.900aA	0.397bB	0.482bAB	0.588bA	0.448C	0.544B	0.744A	0.669a	0.489b	0.035	<0.01	<0.01	0.022
Esp. Interc.	18.1bC	25.9aB	30.3aA	25.1aA	22.6bA	20.8bA	21.6B	24.2A	25.6A	24.8a	22.8b	0.933	0.002	0.021	<0.01
Vasos	1.05	0.595	1.345	1.5	1.233	1.00	1.28	0.914	1.173	0.997	1.244	0.223	0.323	0.225	0.080
Infiltrado	0.580	0.230	0.310	0.735	0.310	1.44	0.658	0.270	0.873	0.373	0.827	0.343	0.397	0.211	0.399

¹ Cada valor representa a média de 6 frangos.

² Efeitos significativos com P < 0.05.

^{Aa -Bb} Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas para processamento da soja e minúsculas para adição da protease, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%

Abreviações: U-SIE: Soja integral sub-processada; S-SIE: Soja integral no padrão de processamento; O-SIE: Soja integral super-processada; S*P: Efeito de interação entre o processamento da soja e a adição de protease; SEM: Erro padrão da média; Citop.: Citoplasma hepatócito; N / C: Relação entre núcleo e citoplasma; Esp. Interc.: espaço intercelular (região entre células compostas por tecido conjuntivo e sinusoides); Infiltrado: Infiltrado inflamatório mononuclear; (%): Percentual de pontos em cada segmento de um total de 1300 pontos.

Tabela 9. Efeito da suplementação dietética de soja integral extrusada em três níveis de processamento com ou sem adição de protease (TEC MAX PRO®) na morfometria do pâncreas de frangos de corte aos 21 e 42 dias de vida¹.

Variáveis	Sem Protease			Com Protease			Soja			Protease		SEM	p_Valor ²		
	U-SIE	S-SIE	O-SIE	U-SIE	S-SIE	O-SIE	U-SIE	S-SIE	O-SIE	Sem	Com		Soja	Protease	S*P
21 dias (%)															
Ácinos	65.9aA	40.6bB	38.0aB	65.1aA	48.6aB	33.1bC	65.5A	44.6B	35.5C	48.1	48.9	1.605	<0.01	0.567	0.002
Ilhotas	3.42	2.32	5.64	3.42	2.23	3.63	3.42B	2.28C	4.63A	3.79	3.09	0.433	<0.01	0.057	0.054
LOB	17.7aC	35.8aA	28.6bB	14.1bC	29.9bB	39.5aA	15.9B	32.9A	34.1A	27.4	27.8	1.234	<0.01	0.665	<0.01
INT	12.5bC	21.5aB	28.4aA	17.3aC	20.7aB	25.8bA	14.9C	21.1B	27.1A	20.8	21.3	0.485	<0.01	0.176	<0.01
42 dias (%)															
Ácinos	47.3bA	50.1aA	47.6aA	51.3aA	46.6aAB	43.6bB	49.3A	48.3B	45.6AB	48.3	47.1	1.057	0.006	0.219	0.002
Ilhotas	4.55aA	2.18aB	2.63bAB	3.93aA	3.30aA	5.45aA	4.24A	2.74B	4.04A	3.12b	4.23a	0.424	0.009	0.018	0.018
LOB	22.6aB	28.9aA	27.3aA	25.4aA	28.7aA	24.7aA	24.0B	28.8A	26B	26.3	26.3	0.924	0.000	0.998	0.042
INT	25.0aA	18.7aB	20.7bB	18.1bB	20.7aAB	23.6aA	21.5AB	19.7B	22.2A	21.5	20.8	0.835	0.013	0.291	<0.01

¹ Cada valor representa a média de 6 frangos.

² Efeitos significativos com P < 0.05.

^{Aa -Bb} Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas para processamento da soja e minúsculas para adição da protease, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%
 Abreviações: U-SIE: Soja integral sub-processada; S-SIE: Soja integral no padrão de processamento; O-SIE: Soja integral super-processada; Soj* Prot: Efeito de interação entre o processamento da soja e a adição de protease; SEM: Erro padrão da média; (%): Percentual de pontos em cada segmento de um total de 1300 pontos; Ácinos: Ácinos pancreáticos; Ilhotas: Ilhotas de langerhans; LOB: Ductos Intra e interlobulares; INT: Ductos intercalares.

Tabela 10. Efeito da suplementação dietética de soja integral extrusada em três níveis de processamento com ou sem adição de protease (TECMAX PRO®) na morfometria intestinal de frangos de corte aos 21 e 42 dias de vida¹.

Variáveis	Sem Protease			Com Protease			Soja			Protease		SEM	p_Valor ²			
	U-SIE	S-SIE	O-SIE	U-SIE	S-SIE	O-SIE	U-SIE	S-SIE	O-SIE	Sem	Com		Soja	Protease	S*P	
21 dias																
Duodeno (μm)	Vilo	1270aB	1260bAB	1500aA	1390aA	1510aA	1430aA	1330	1390	1460	1340b	1440a	48.5	0.054	0.027	0.023
	Cripta	202aB	196bB	232aA	187aB	216aA	206bAB	194B	206AB	219A	210	203	5.24	0.001	0.118	0.001
	V/C	5.96	6.82	6.26	7.37	7.11	6.97	6.67	6.96	6.61	6.35b	7.15a	0.425	0.694	0.040	0.468
Jejuno (μm)	Muscular	148bC	191aB	233aA	201aA	199aA	162bB	174B	195A	197A	191	187	6.95	0.015	0.605	<0.01
	Vilo	1710aA	1460aB	1410aB	1260bA	1410aA	1440aA	1480	1440	1430	1530a	1370b	41.7	0.520	0.001	<0.01
	Cripta	156	160	176	150	165	160	153B	162AB	168A	164	158	4.78	0.009	0.123	0.074
Íleo (μm)	V/C	11.0aA	8.80aB	7.98aB	8.28bA	8.62aA	9.20aA	9.64	8.71	8.59	9.27	8.70	0.515	0.134	0.178	0.007
	Muscular	136	160	141	136	146	154	136B	153A	147AB	146	146	6.21	0.043	0.998	0.118
	Vilo	516	557	576	511	575	570	51.B	566A	573A	549	552	15.13	0.003	0.863	0.685
	Cripta	116	123	122	123	12.4	135	11.9	12.4	12.9	120	127	5.52	0.284	0.150	0.575
	V/C	4.63	4.54	4.75	4.15	4.60	4.44	4.39	4.57	4.60	4.64	4.40	0.271	0.726	0.286	0.601
	Muscular	145	158	154	163	163	162	154	161	158	152b	162a	4.90	0.416	0.028	0.437
42 dias																
Duodeno (μm)	Vilo	2020	1810	2030	176.	1910	2110	1890	1860	2070	1950	1930	51.9	0.065	0.739	0.093
	Cripta	234	247	282	231	245	258	233B	246B	270A	254	245	6.17	<0.01	0.082	0.199
	V/C	8.62aA	7.70aA	7.06bA	7.63aA	7.91aA	8.18aA	8.13	7.81	7.62	7.80	7.91	3.35	0.377	0.718	0.026
Jejuno (μm)	Muscular	274	221	285	297	228	276	286A	225B	281A	260	267	9.27	<0.01	0.379	0.275
	Vilo	1180	1260	1290	1220	1240	1140	1200	1250	1220	1240	1200	43.1	0.461	0.262	0.144
	Cripta	159	177	175	157	180	160	158B	179A	168AB	171	166	5.84	0.004	0.308	0.301
Íleo (μm)	V/C	7.50	7.16	7.43	7.97	7.06	7.07	7.73	7.11	7.25	7.36	7.37	3.43	0.161	0.982	0.473
	Muscular	148	188	151	161	178	142	155B	183A	146B	163	160	5.68	<0.01	0.655	0.157
	Vilo	752aB	660aB	864aA	74.4aA	72.8aA	74.8bA	748AB	694B	806A	759	740	24.2	0.001	0.379	0.005
	Cripta	127aA	108bB	125aA	119aA	126aA	118aA	123	117	122	120	121	2.86	0.176	0.590	<0.01
	V/C	5.94	6.28	6.94	6.25	5.82	6.33	6.10	6.05	6.63	6.39	6.13	2.40	0.054	0.260	0.155
	Muscular	164aA	151bA	175aA	170aA	192aA	179aA	167	172	177	16.3b	18.0a	5.19	0.182	0.001	0.006
Área Jejuno (cm²)																
21 dias		0.441aA	0.452aA	0.516aA	0.277bB	0.444aA	0.489aA	0.359B	0.448A	0.502A	0.470a	0.403b	0.024	<0.01	0.003	0.007
42 Dias		0.515	0.544	0.532	0.498	0.515	0.465	0.506	0.529	0.498	0.530a	0.492b	0.020	0.337	0.038	0.519

¹ Cada valor representa a média de 6 frangos; ² Efeitos significativos com $P < 0.05$; ^{Aa-Bb} Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas para processamento da soja e minúsculas para adição da protease, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%; Abreviações: U-SIE: Soja integral sub-processada; S-SIE: Soja integral no padrão de processamento; O-SIE: Soja integral super-processada; Soj* Prot: Efeito de interação entre o processamento da soja e a adição de protease; SEM: Erro padrão da média; V/C: relação entre a altura das vilosidades e a profundidade das criptas; Muscular: espessura da camada muscular circular interna.

Tabela 11. Atividade das enzimas antioxidantes, glutatona peroxidase (GPx) e Superóxido dismutase (SOD) no plasmática sanguíneo e atividade da Tripsina na digesta ileal de frangos de corte aos 21 e 42 dias de vida, alimentados com dietas contendo soja integral extrusada sub processada, padrão e super processada com ou sem adição de protease (TEC MAX PRO®)¹.

Variáveis	Sem Protease			Com Protease			Soja			Protease		SEM	p_Valor ²		
	U-SIE	S-SIE	O-SIE	U-SIE	S-SIE	O-SIE	U-SIE	S-SIE	O-SIE	Sem	Com		Soja	Protease	S*P
	GPx (U/L)														
21 dias	327	369	384	362	318	372	344	344	368	353	351	28.3	0.640	0.921	0.335
42 dias	585	503	562	488	497	503	536	500	532	550A	496B	27.9	0.391	0.037	0.226
	SOD (U/mL)														
21 Dias	0.520	0.457	0.357	0.464	0.378	0.404	0.492A	0.417B	0.380B	0.445	0.415	0.022	0.002	0.237	0.090
42 Dias	0.525aA	0.468aA	0.364aB	0.488aA	0.310bB	0.390aAB	0.506A	0.416B	0.350B	0.434	0.414	0.021	<0.01	0.420	0.017
	Tripsina μ mol.s-1.μl -1 de PROTEINA														
21 Dias	0.042	0.038	0.061	0.062	0.065	0.073	0.052	0.051	0.067	0.047b	0.066a	0.011	0.266	0.036	0.779
42 Dias	0.052	0.042	0.046	0.022	0.033	0.039	0.037	0.038	0.042	0.047a	0.031b	0.007	0.712	0.012	0.188

¹ Cada valor representa a média de 13 frangos

² Efeitos significativos com P < 0.05

^{Aa -Bb} Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas para processamento da soja e minúsculas para adição da protease, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%

Abreviações: U-SIE: Soja integral sub-processada; S-SIE: Soja integral no padrão de processamento; O-SIE: Soja integral super-processada; S*P: Efeito de interação entre o processamento da soja e a adição de protease; SEM: Erro padrão da média