



## Efeito da utilização de mananoligossacarídeo e enzimas sobre os parâmetros ósseos de frangos de corte

**Maria Cristina de Oliveira<sup>1\*</sup>**

**Rodrigo Antônio Gravena<sup>2</sup>**

**Rafael Henrique Marques<sup>2</sup>**

**Eliana Aparecida Rodrigues<sup>3</sup>**

**Vera Maria Barbosa Moraes<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Rio Verde  
Caixa Postal 244, CEP 75901-970, Rio Verde – GO, Brasil

<sup>2</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária  
Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – SP, Brasil

<sup>3</sup>CEFET, Uberaba – MG, Brasil

\*Autor para correspondência  
cristina@fesurv.br

Submetido em 21/04/2009  
Aceito para publicação em 13/09/2009

### Resumo

Foram avaliados os teores de minerais, o peso, a morfometria, a resistência à quebra e a densidade tibiais (epífises proximal e distal, diáfise e densidade média) de frangos alimentados com dietas suplementadas ou não com mananoligossacarídeos (MOS) e/ou enzimas. Foram utilizadas 50 aves em delineamento inteiramente casualizado e arranjo fatorial  $2 \times 2 + 1$ , com dois níveis de MOS (0 e 0,1%/0,05%, de 1 a 21/22 a 42 dias), dois níveis de enzimas (0 e 0,05%) e uma dieta controle positivo com antibióticos, totalizando cinco tratamentos com cinco repetições. Aos 42 dias de idade, 50 frangos foram sacrificados para análise das tíbias. Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) da interação controle positivo x fatorial e do fatorial MOS x enzimas sobre teores de P e matéria mineral, comprimento e densidade da epífise distal. A inclusão do MOS nas dietas aumentou os níveis de Ca ( $P < 0,05$ ). A suplementação enzimática reduziu ( $P < 0,04$ ) o peso, diâmetro e resistência à quebra das tíbias. A interação controle positivo x fatorial foi significativa ( $P < 0,01$ ) para a densidade óssea média e da diáfise. Aves que consumiram dietas sem aditivos possuíam tíbias com densidades menores do que as do tratamento controle positivo. Pode-se adotar dietas com níveis reduzidos de proteína bruta e energia metabolizável em 2%, suplementadas com MOS, sem efeitos negativos à qualidade óssea.

**Unitermos:** aditivos, aves, prebiótico, qualidade óssea

### Abstract

**Effect of mannan oligosaccharides and enzyme utilization on broiler bone parameters.** Mineral levels, weight, morphometry, breaking resistance and density of tibia from broilers fed on diets, supplemented or not with mannan oligosaccharides (MOS) and/or enzymes, were evaluated. Seven hundred and fifty birds were used in a completely randomized design and factorial arrangement:  $2 \times 2 + 1$  – two MOS levels (0 and 0.1%/0.05%, from 1 to 21/22 to 42 days) x two enzyme levels (0 and 0.05%) + positive control diet with antibiotics, totalling five treatments with five replicates. At 42 days of age, 50 birds were sacrificed for tibia analyses. There was no effect ( $P > 0.05$ ) of positive control x factorial or MOS x enzyme interactions on P and mineral matter levels,

length and distal epiphysis density. MOS inclusion increased Ca levels ( $P < 0.05$ ). Enzymatic supplementation reduced ( $P < 0.04$ ) the weight, diameter and breaking resistance of tibia. Positive control x factorial interaction was significant ( $P < 0.01$ ) for diaphysis and average density, and birds fed diets with no additives had tibia with lower densities than those from the control treatment. It was concluded that diets with reduced crude protein and metabolizable energy of 2%, supplemented with MOS, can be used for broilers with no negative effects on the bone quality.

**Key words:** additives, birds, bone quality, prebiotic

## Introdução

Tem sido demonstrado que prebióticos, oligossacarídeos não-digestíveis, melhoram a absorção de minerais em ratos e humanos (Lopez et al., 2000). Entretanto, em aves este efeito é pouco estudado. A maior absorção mineral ocorre porque os prebióticos são substratos para bactérias no intestino grosso e, embora agindo de maneira não-específica, o mananoligossacarídeo (MOS) promove a fermentação microbiana e a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (Ohta et al., 1998; Zafar et al., 2004). Como consequência da acidificação luminal determinada pelos AGCC, a solubilidade e a absorção de sais de Ca são aumentadas (Lopez et al., 2000; Suzuki e Hara, 2004). A fermentação dos prebióticos pode também aumentar a espessura da mucosa, o número de células epiteliais por cripta e o fluxo de sangue venoso (van den Heuvel et al., 1999; Zafar et al., 2004), condições que aumentam a área de absorção.

A absorção intestinal de Ca ocorre pelas vias transcelular e paracelular. A absorção transcelular é ativa e duodenal, enquanto a paracelular é passiva e requer um gradiente de concentração para o Ca entre o lúmen e a superfície basolateral da célula e pode ocorrer em todo o intestino (Mineo et al., 2002; Suzuki e Hara, 2004).

Ratas histerectomizadas alimentadas com 5% de galactoligossacarídeos obtiveram 10% mais Ca no fêmur do que ratas em crescimento ou intactas. Níveis de Ca femoral aumentados de 0,89 a 1,07mmol/osso (20,22%) foram observados em ratos alimentados com dietas contendo frutoligossacarídeos (Scholz-Ahrens et al., 2001). De acordo com Greger (1999), o uso dos frutoligossacarídeos melhorou a absorção de Ca e de magnésio (Mg) em ratos intactos. Entretanto, em ratos cecectomizados somente a absorção de Mg aumentou, indicativo de que a fermentação cecal exerce uma influência importante sobre a absorção de Ca.

Polissacarídeos não-amiláceos (PNA) são carboidratos não-digestíveis relacionados à absorção mineral inadequada no intestino delgado devido a cargas negativas em suas estruturas que sequestram cátions (Camiruaga et al., 2001). Os minerais se ligam fortemente à parede celular das plantas e podem ser liberados pela fermentação microbiana destes PNA no intestino grosso (Lopez et al., 1998) ou pela adição de enzimas exógenas às dietas, promovendo a quebra da parede celular no intestino delgado.

Dietas comerciais à base de milho e soja têm PNA que podem se ligar a nutrientes com consequente redução da assimilação destes nutrientes pelas aves. O farelo de soja apresenta em sua composição 20% de PNA que são quase que totalmente indigestíveis (Rodrigues et al., 2003). A suplementação de dietas baseadas em cereais com enzimas microbianas exógenas, que hidrolisam a parede celular do endosperma, pode melhorar a digestibilidade dos nutrientes e, ao mesmo tempo, diminuir a viscosidade da digesta no intestino delgado da ave. As enzimas adicionadas às dietas permitem uma difusão melhor das enzimas endógenas e dos nutrientes por reduzir a viscosidade do alimento e por diminuir a proliferação da microflora, permitindo, assim, as aves digerirem e absorverem mais nutrientes (Santos Jr. et al., 2004).

Este experimento foi conduzido para avaliar os teores de minerais, o peso, a morfometria, a resistência à quebra e a densidade de tíbias de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas ou não com MOS e/ou enzimas.

## Material e Métodos

Foram utilizadas 50 aves de um dia de idade, machos da linhagem Cobb, peso inicial médio de 41,51  $\pm$  0,59g, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 2 + 1 – dois níveis de

MOS<sup>1</sup> (0 e 0,1%/0,05%, de 1 a 21 e de 22 a 42 dias) x dois níveis de enzimas<sup>2</sup> (0 e 0,05%) + uma dieta controle positivo com antibióticos – totalizando cinco tratamentos com cinco repetições. A dieta controle positivo continha sulfato de colistina (125ppm) e virginiamicina (10ppm) como promotores de crescimento e salinomicina (51ppm) como anticoccidiano.

As aves foram alojadas em galpão de alvenaria dividido em boxes com área de 2,5m<sup>2</sup>. O material utilizado como cama foi a maravalha na proporção de 22kg de matéria natural por box. Cada box possuía um comedouro tubular e um bebedouro pendular. O programa de luz adotado foi o contínuo, com 24h de luz.

Como a fitase<sup>3</sup> (250U/g) foi incluída em todas as dietas, o fósforo (P) não-fítico dietético correspondeu a 85% das exigências das aves, em todas as fases (Oliveira, 2007).

O complexo enzimático, na forma líquida, continha as enzimas celulase, protease e  $\alpha$ -amilase e foram pré-misturadas em 500g de farelo de soja antes da inclusão nas dietas. As dietas experimentais (Tabela 1), isonutritivas, foram formuladas para atender as exigências dos frangos de acordo com Rostagno et al. (2000), exceto pelos teores de energia metabolizável e proteína bruta, que corresponderam a 98% das recomendações dos mesmos autores.

TABELA 1: Composições percentuais e calculadas das dietas experimentais inicial e final, na matéria natural.

Ingredientes (kg)	Inicial (1 a 21 dias)					Final (22 a 42 dias)				
	CP	CN	E	MOS	E + MOS	CP	CN	E	MOS	E + MOS
Milho	59,74	59,74	59,74	59,74	59,74	65,69	65,69	65,69	65,69	65,69
Farelo de soja	34,34	34,34	34,34	34,34	34,34	28,62	28,62	28,62	28,62	28,62
Óleo de soja	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58	1,87	1,87	1,87	1,87	1,87
Fosfato bicálcico	1,45	1,45	1,45	1,45	1,45	1,26	1,26	1,26	1,26	1,26
Calcário calcítico	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,17	1,17	1,17	1,17	1,17
DL-Metionina 99%	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
L-Lisina 78,80%	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Sal comum	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Fitase	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
MOS	-	-	-	0,10	0,10	-	-	-	0,05	0,05
Enzimas	-	-	0,05	-	0,05	-	-	0,05	-	0,05
Caulim	0,15	0,15	0,10	0,05	-	0,10	0,10	0,05	0,05	-
Antioxidante	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Supl. mineral e vitamínico	0,80 <sup>1</sup>	0,80 <sup>2</sup>	0,80 <sup>2</sup>	0,80 <sup>2</sup>	0,80 <sup>2</sup>	0,60 <sup>3</sup>	0,60 <sup>4</sup>	0,60 <sup>4</sup>	0,60 <sup>4</sup>	0,60 <sup>4</sup>
<i>Composição nutricional calculada</i>										
Proteína bruta (%)	21,00	21,00	21,00	21,00	21,00	18,92	18,92	18,92	18,92	18,92
EM (kcal/kg)	2940	2940	2940	2940	2940	3038	3038	3038	3038	3038
Cálcio (%)	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87
Fósforo disponível (%)	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Sódio (%)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
Lisina digestível (%)	1,15	1,15	1,15	1,15	1,15	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06
Metionina digestível (%)	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Metionina+cistina digestíveis (%)	0,62	0,62	0,62	0,62	0,62	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56

CP = controle positivo; CN = controle negativo, sem MOS ou enzimas; MOS = mananoligossacarídeos; E = enzimas. <sup>1</sup>Por kg: 1500000UI Vit. A, 285000UI Vit. D<sub>3</sub>, 1350mg Vit. E, 230mg Vit. K<sub>3</sub>, 115mg Vit. B<sub>1</sub>, 1150mg Vit. B<sub>2</sub>, 2000mcg Vit. B<sub>12</sub>, 4800mg ácido nicotínico, 1240mg ácido pantotênico, 230mg piridoxina, 12mg biotina, 115mg ácido fólico, 85g colina, 170g metionina, 6300mg Fe, 9400mg Cu, 9400mg Mn, 7819mg Zn, 160mg I, 23mg Se, 20g antioxidante, 5,4g promotor de crescimento, 6,4g coccidiostático. <sup>2</sup>idem <sup>1</sup>, sem promotor de crescimento e coccidiostático. <sup>3</sup>Por kg: 1550000UI Vit. A, 267000UI Vit. D<sub>3</sub>, 1200mg Vit. E, 200mg Vit. K<sub>3</sub>, 100mg Vit. B<sub>1</sub>, 935mg Vit. B<sub>2</sub>, 2340mcg Vit. B<sub>12</sub>, 4700mg ácido nicotínico, 1340mg ácido pantotênico, 170mg piridoxina, 14mg biotina, 100mg ácido fólico, 84g colina, 185g metionina, 6720mg Fe, 10000mg Cu, 10200mg Mn, 8418mg Zn, 170mg I, 24mg Se, 20g antioxidante, 8,5g promotor de crescimento, 8,5g coccidiostático. <sup>4</sup>idem <sup>3</sup>, sem promotor de crescimento e coccidiostático.

<sup>1,2</sup> Bio-Mos e Allzyme Vegpro Líquido. Alltech Agroindustrial do Brasil Ltda. Araucária, PR.

<sup>3</sup> Allzyme Phytase 2X. Alltech Inc. Nicholasville, KY, USA.

Quando as aves alcançaram os 42 dias de idade, 50 frangos, 10 de cada tratamento, selecionados ao acaso, foram sacrificados por deslocamento cervical e as tíbias foram coletadas. Após a coleta das tíbias, todas foram limpas de tecidos aderentes. As tíbias direitas de vinte e cinco aves foram usadas para obtenção do peso, morfometria (comprimento e diâmetro) e densidade óssea e as tíbias esquerdas foram avaliadas quanto ao teor de matéria mineral, Ca e P. As outras vinte e cinco tíbias direitas foram usadas para a determinação da resistência à quebra.

Para a análise de minerais, as tíbias foram pesadas antes e após secagem em estufa de ventilação forçada de ar a 55°C por 24h. Subsequentemente, as tíbias foram desengorduradas, moídas e analisadas (Silva e Queiróz, 2002). Os procedimentos de secagem e extração de gordura foram realizados nas tíbias analisadas quanto à resistência óssea. A resistência foi determinada por meio de aparelho Instron Corporation IX Automated Materials Testing System 1.09 sempre no mesmo ponto de quebra da diáfise tibial (Silva et al., 2001).

Antes da determinação da densidade óssea, as tíbias foram pesadas e medidas quanto ao comprimento e diâmetro com paquímetro manual. A densidade óssea foi determinada por meio de imagens radiográficas das tíbias. Como referencial densitométrico utilizou-se uma escala de alumínio (alumínio 6063 ABNT) com 12 degraus. O primeiro degrau tinha espessura de 0,5mm e do segundo até o décimo havia aumentos sucessivos de 0,5mm na espessura de cada degrau, porém o 11º degrau tinha espessura de 6mm e o 12º de 8mm. A área de cada degrau era de 5 x 25mm. A escala de alumínio foi radiografada juntamente com as tíbias. Um aparelho de raios-X convencional foi calibrado para 44kVp e 4mAs, com um metro de distância entre o foco e o filme. Para a determinação da densidade óssea, as imagens foram digitalizadas em *scanner* HP Scanjet 4C equipado com um adaptador para digitalizar imagens radiográficas. Após a digitalização, as imagens foram transferidas para um computador e analisadas por meio do Programa Image-Pro Media Cybernetics (versão 4.1.0). A densidade foi determinada nas epífises proximal e distal e na diáfise de cada osso sendo estes valores comparados com a densidade óptica da escala de alumínio e expressos em mm de Alumínio (mm Al) (Louzada, 1994).

Os resultados obtidos do fatorial MOS x enzimas foram submetidos à análise de variância por meio do programa SAEG (UFV, 2001) e, na existência de efeitos significativos da interação MOS x enzimas, as médias foram comparadas pelo teste Tukey. O teste Dunnett foi utilizado para comparar as médias do controle positivo e do fatorial MOS x enzimas, por meio do programa Statistica for Windows (Statsoft, 1995).

## Resultados e Discussão

Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) da interação controle positivo x fatorial e do fatorial MOS x enzimas sobre os resultados de desempenho (dados não mostrados). Os valores médios de ganho de peso e consumo de ração, de todos os tratamentos, foram 2.697 e 4.621g, respectivamente.

Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) da interação controle positivo x fatorial e do fatorial MOS x enzimas sobre os teores de P e matéria mineral (Tabela 2), comprimento (Tabela 3) e densidade da epífise distal (Tabela 4) das tíbias.

Entretanto, a inclusão do MOS nas dietas aumentou os níveis de Ca ( $P < 0,05$ ) em 7,98% (na matéria seca) e 5,34% (na matéria mineral) (Tabela 2), provavelmente, devido a sua fermentação no intestino grosso, já que o ceco é o principal local de fermentação na ave (Flickinger et al., 2003). Como um carboidrato não-digestível, o MOS resiste à hidrólise enzimática no intestino delgado e alcança o intestino grosso onde é fermentado pela microflora cecal. Como resultado, a produção de AGCC diminui o pH local (Juskiewicz et al., 2004) e solubiliza os íons de Ca, pois esse mineral em pH neutro ou alcalino, não se encontra disponível para absorção (Suzuki e Hara, 2004). Os AGCC também promovem o aumento da área superficial e da absorção de nutrientes no intestino (Lopez et al., 2000; Zafar et al., 2004). A difusão paracelular de Ca no íleo (Mineo et al., 2002; Suzuki e Hara, 2004) e a síntese de proteína ligadora de Ca no ceco e cólon (Zafar et al., 2004) são aumentadas na presença de prebióticos. Oliveira et al. (2007) também demonstraram que a suplementação dietética com MOS melhorou a absorção ileal e a retenção de Ca em frangos de corte.

TABELA 2: Teores de cálcio, fósforo e matéria mineral de tíbias de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas ou não com MOS e enzimas.

Teor (%)	Controle Positivo	MOS	Enzimas		Média	CV (%)
			Sem	Com		
<i>na matéria seca</i>						
Cálcio	15,42	Sem	15,63	15,45	15,54b	6,32
		Com	16,92	16,65	16,78a	
		Média	16,27	16,05		
Fósforo	7,42	Sem	7,49	7,79	7,64	7,35
		Com	8,41	8,06	8,23	
		Média	7,95	7,93		
Matéria mineral	45,57	Sem	46,10	45,87	45,98	3,85
		Com	47,36	47,08	47,22	
		Média	46,73	46,47		
<i>na matéria mineral</i>						
Cálcio	33,86	Sem	33,85	33,65	33,75b	4,34
		Com	35,73	35,37	35,55a	
		Média	34,79	34,51		
Fósforo	16,27	Sem	16,23	16,98	16,60	4,57
		Com	17,75	17,10	17,42	
		Média	16,98	17,04		

CV = coeficiente de variação. Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste F.

Mitamura et al. (2002) e Suzuki e Hara (2004) verificaram maior absorção de Ca no intestino grosso em ratas intactas e histerectomizadas que ingeriram frutose em suas dietas. Ao adicionar  $\beta$ -glucanase, celulase e fitase à dietas de frangos, Camiruaga et al. (2001) não acharam diferença no peso das tíbias e Kobayashi et al. (2002) ao avaliarem o efeito da inclusão de amilase e protease em dietas para frangos com diferentes níveis de PNA (0,35; 0,43; e 0,51%) e também não verificaram a influência das enzimas sobre o peso das tíbias.

A suplementação enzimática causou redução ( $P < 0,04$ ) no peso, diâmetro e resistência à quebra das tíbias (Tabela 3).

Vários fatores afetam as propriedades mecânicas dos ossos, entre eles a massa óssea e sua arquitetura trabecular. Se uma quantidade equivalente de osso está presente em grande quantidade, bem distribuída e conectada em trabéculas finas, o osso é melhor biomecanicamente do que um osso com trabéculas densas e desconectadas (Lane et al., 2003; Epstein, 2005).

Ao avaliar o uso de prebióticos para frangos, Tellez et al. (2003) relataram aumento na resistência à quebra das tíbias. Zafar et al. (2004) também demonstraram que a suplementação com inulina de dietas de ratas ovariectomizadas não melhorou o peso e comprimento femoral. Camiruaga et al. (2001) adicionaram  $\beta$ -glucanase, celulase e fitase a dietas de frangos e não observaram efeito sobre o teor de matéria mineral das tíbias. Kobayashi et al. (2002) estudaram a inclusão de amilase e protease em dietas com níveis de PNA e verificaram redução linear no teor de matéria mineral, denotando o efeito negativo dessas carboidrases sobre a absorção mineral.

A interação controle positivo x fatorial foi significativa ( $P < 0,01$ ) para densidade da diáfise e média (Tabela 4), em que aves que consumiram dietas sem aditivos possuíram tíbias com densidades menores do que aquelas do tratamento controle positivo. Esse pode ser o resultado de crescimento exagerado de bactérias intestinais, as quais danificam a mucosa intestinal e diminuem sua capacidade absorptiva.

TABELA 3: Peso, morfometria e resistência de tíbias de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas ou não com MOS e enzimas.

Parâmetros	Controle Positivo	MOS	Enzimas		Média	CV (%)
			Sem	Com		
Peso (g)	13,99	Sem	13,68	12,09	12,88	7,39
		Com	13,40	12,40	12,90	
		Média	13,54a	12,25b		
Comprimento (mm)	95,80	Sem	95,30	96,10	95,70	2,39
		Com	94,80	95,90	95,35	
		Média	95,05	96,00		
Diâmetro (mm)	8,60	Sem	8,70	7,80	8,25	6,63
		Com	8,20	7,50	7,85	
		Média	8,45a	7,65b		
Resistência (kg/cm <sup>2</sup> )	43,98	Sem	46,08	36,63	38,58	11,71
		Com	44,95	38,42	41,68	
		Média	45,51a	34,75b		

CV = coeficiente de variação. <sup>a,b</sup>Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste F.

TABELA 4: Densidade das epífises proximal e distal, da diáfise e média de tíbias de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas ou não com MOS e enzimas.

Densidade óssea	Controle Positivo	MOS	Enzimas		Média	CV (%)
			Sem	Com		
Epífise proximal (mm Al)	3,95	Sem	3,28Bb	4,02Aa	3,65	6,27
		Com	3,77Aa	3,57Aa	3,67	
		Média	3,52	3,80		
Diáfise (mm Al)	3,49	Sem	2,74Bb*	3,35Aa	3,05	3,47
		Com	3,50Aa	3,11Ab	3,30	
		Média	3,12	3,23		
Epífise distal (mm Al)	2,33	Sem	2,17	2,41	2,30	1,89
		Com	2,31	2,38	2,35	
		Média	2,24b	2,40a		
Densidade média (mm Al)	3,25	Sem	2,73Bb*	3,26Aa	2,99	3,04
		Com	3,19Aa	3,02Aa	3,11	
		Média	2,96	3,14		

CV = coeficiente de variação, obtido com dados transformados (raiz quadrada da média). \*difere da média do tratamento controle positivo pelo teste Dunnett. <sup>a,b,A,B</sup>Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem entre si pelo teste Tukey.

A interação MOS x enzimas foi significativa para densidade da epífise proximal ( $P < 0,04$ ), da diáfise e densidade média ( $P < 0,01$ ). A densidade mineral é uma ferramenta útil para avaliar o teor de minerais por unidade de área ou volume do osso (Nelson et al.,

2000). Assim, a maior densidade observada nas tíbias de frangos que ingeriram MOS ocorreu como consequência de maior disponibilidade de Ca para absorção e melhor mineralização óssea.



Uma possível razão para a redução do peso, diâmetro e resistência e aumento da densidade da epífise distal causados pelas enzimas é que, além do MOS, as enzimas também podem liberar Ca para absorção e podem ter causado um quadro de hipercalcemia. A hipercalcemia inibe a secreção de paratormônio (PTH) e estimula a de calcitonina. Estudos mostram que deficiência de PTH resultou em aumentada densidade óssea (Abdelhadi e Nordenstrom, 1998). A análise densitométrica é uma medida do grau de mineralização nos ossos cortical e trabecular e em pacientes com hipoparatiroidismo, a densidade mineral era maior no osso trabecular do que no cortical (Fujiyama et al., 1995; Chen et al., 2003) resultando em menor peso e maior fragilidade óssea. De acordo com Yamamoto et al. (1995), a calcitonina tem efeito anabólico no osso trabecular, mas não no cortical, quando o hipoparatiroidismo induzido pela hipercalcemia está presente.

Shiga et al. (2003) notaram aumentados níveis de Ca ósseo e maiores valores de densidade em fêmures de ratos que consumiram difrutose dietética. Entretanto, não observaram diferenças no teor de Ca das tíbias, embora a densidade da epífise proximal fosse maior. Zafar et al. (2004) demonstraram que a suplementação com inulina de dietas de ratas ovariectomizadas melhorou a densidade da epífise distal femoral por melhorar a mineralização óssea. A ausência de efeitos sobre a absorção mineral, principalmente do Ca, devido à ingestão de oligossacarídeos não-digestíveis foi observada em alguns estudos como os conduzidos por Ohta et al. (2002) e Tahiri et al. (2003) com ratos e humanos, respectivamente.

Concluiu-se que, dietas com níveis reduzidos de proteína bruta e energia metabolizável em até 2%, suplementadas com MOS, podem ser utilizadas por melhorar a mineralização e a densidade óssea. A inclusão das enzimas não foi benéfica no que se refere ao peso, diâmetro e resistência à quebra.

## Agradecimentos

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Alltech do Brasil e Fundação para o Desenvolvimento da UNESP (FUNDUNESP) pelo apoio

financeiro e à Agrocerees Nutrição Animal pela análise mineral das tíbias.

## Referências

- Abdelhadi, M.; Nordenstrom, J. 1998. Bone mineral recovery after parathyroidectomy in patients with primary and renal hyperparathyroidism. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, **83** (11): 3845-3851.
- Camiruaga, M.; Garcia F.; Elera, R.; Simonetti, C. 2001. Productive response of broiler chickens to exogenous enzyme combinations added to diets based on corn or triticale. **Ciencia e Investigación Agraria**, **28** (1): 23-26.
- Chen, Q.; Kaji, H.; Iu, M.; Nomura, R.; Sowa, H.; Yamauchi, M.; Tsukamoto, T.; Sugimoto, T.; Chihara, K. 2003. Effects of an excess and a deficiency of endogenous parathyroid hormone on volumetric bone mineral density and bone geometry determined by peripheral quantitative computed tomography in female subjects. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, **88** (10): 4655-4658.
- Epstein, S. 2005. The roles of bone mineral density, bone turnover, and other properties in reducing fracture risk during antiresorptive therapy. **Mayo Clinic Proceedings**, **80** (3): 379-388.
- Flickinger, E. A.; van Loo, J.; Fahey Jr., G. C. 2003. Nutritional responses to the presence of inulin and oligofructose in the diets of domesticated animals: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, **43** (1): 19-60.
- Fujiyama, K.; Kiriya, T.; Ito, M.; Nakata, K.; Yamashita, S.; Yokoyama, N.; Nagataki, S. 1995. Attenuation of postmenopausal high turnover bone loss in patients with hypoparathyroidism. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, **80** (7): 2135-2138.
- Greger, J. L. 1999. Nondigestible carbohydrates and mineral bioavailability. **Journal of Nutrition**, **129** (7): 1434S-1435S.
- Juskiewicz, J.; Zdunczyk, Z.; Jankowski, J. 2004. Selected parameters of gastrointestinal tract metabolism of turkeys fed diets with flavomycin and different inulin content. **World's Poultry Science Journal**, **60** (2): 177-185.
- Kobayashi, T.; Murai, A.; Okada, T.; Okumura, J. 2002. Influence of dietary phosphorus level on growth performance in chicks given corn-soybean diet supplemented with amylase and acid protease. **Animal Science Journal**, **73** (3): 215-220.
- Lane, N. E.; Yao, W.; Kinney, J. H.; Modin, G.; Balooch, M.; Wronski, T. J. 2003. Both hPTH(1-34) and bFGF increase trabecular bone mass in osteopenic rats but they have different effects on trabecular bone architecture. **Journal of Bone and Mineral Research**, **18** (12): 2105-2115.
- Lopez, H. W.; Coudray, C.; Bellanger, J.; Younes, H.; Demigné, C.; Rémésy, C. 1998. Intestinal fermentation lessens the inhibitory effects of phytic acid on mineral utilization in rats. **Journal of Nutrition**, **128** (7): 1192-1198.
- Lopez, H. W.; Coudray, C.; Levrat-Verny, M. A.; Feillet-Coudray, C.; Demigné, C.; Rémésy, C. 2000. Fructooligosaccharides enhance mineral apparent absorption and counteract the deleterious effects of phytic acid on mineral homeostasis in rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, **11** (10): 500-508.

- Louzada, M. J. Q. 1994. **Otimização da técnica de densitometria óptica em imagens radiográficas de peças ósseas. Estudo "in vitro"**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 191pp.
- Mineo, H.; Hara, H.; Shigematsu, N. 2002. Melibiose, difructose anhydride III and difructose anhydride IV enhance net calcium absorption in rat small and large intestinal epithelium by increasing the passage of tight junctions in vitro. **Journal of Nutrition**, **132** (11): 3394-3399.
- Mitamura, R.; Hara, H.; Aoyama, Y.; Chiji, H. 2002. Supplemental feeding of difructose anhydride III restores calcium absorption impaired by ovariectomy in rats. **Journal of Nutrition**, **132** (11): 3387-3393.
- Nelson, D. A.; Barondess, D. A.; Hendrix, S. L.; Beck, T. J. 2000. Cross-sectional geometry, bone strength, and bone mass in the proximal femur in black and white postmenopausal women. **Journal of Bone and Mineral Research**, **15** (10):1992-1997.
- Ohta, A.; Motohashi, Y.; Ohtsuki, M.; Hirayama, M.; Adachi, T.; Sakuma, K. 1998. Dietary fructooligosaccharides change the concentration of calbindin-D9k differently in the mucosa of the small and large intestine of rats. **Journal of Nutrition**, **128** (6): 934-939.
- Ohta, A.; Uehara, M.; Sakai, K.; Takasaki, M.; Adlercreutz, H.; Morohashi, T.; Ishimi, Y. 2002. A combination of dietary fructooligosaccharides and isoflavone conjugates increases femoral bone mineral density and equol production in ovariectomized mice. **Journal of Nutrition**, **132** (7): 2048-2054.
- Oliveira, M. C.; Cancherini, L. C.; Gravena, R. A.; Rizzo, P. V.; Moraes, V. M. B. 2007. Utilização de nutrientes de dietas contendo mananoligosacarídeo e/ou complexo enzimático para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, **36** (4): 825-831.
- Rodrigues, P. B.; Rostagno, H. S.; Albino, L. F. T.; Gomes, P. C.; Barboza, W. A.; Toledo, R. S. 2003. Desempenho de frangos de corte, digestibilidade de nutrientes e valores energéticos de rações formuladas com vários milhos, suplementadas com enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, **32** (6): 171-182.
- Rostagno, H. S.; Albino, L. F. T.; Donzele, J. L.; Gomes, P. C.; Ferreira, A. S.; Oliveira, R. F.; Lopes, D. C. 2000. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais**. UFV, Viçosa, Brasil, 141pp.
- Santos Jr., A. A.; Ferket, P. R.; Grimes, J. L.; Edens, F. W. 2004. Dietary pentosanase supplementation of diets containing different qualities of wheat on growth performance and metabolizable energy of turkey poults. **International Journal of Poultry Science**, **3** (1): 33-45.
- Scholz-Ahrens, K. E.; Schaafsma, G.; van den Heuvel, E. G. H. M.; Schrezenmeir, J. 2001. Effects of prebiotics on mineral metabolism. **American Journal of Clinical Nutrition**, **73** (2): 459S-464S.
- Shiga, K.; Hara, H.; Okano, G.; Ito, M.; Minami, A.; Tomita, F. 2003. Ingestion of difructose anhydride III and voluntary running exercise independently increase femoral and tibial bone mineral densities and bone strength with increasing calcium absorption in rats. **Journal of Nutrition**, **133** (12): 4207-4211.
- Silva, D. J.; Queiroz, C. A. 2002. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 2ª ed. UFV, Viçosa, Brasil, 235pp.
- Silva, F. A.; Moraes, G. H. K.; Rodrigues, A. C. P.; Albino, L. F. T.; Rostagno, H. S.; Oliveira, M. G. A.; Fonseca, C. C.; Fanchiotti F. E. 2001. Efeitos do ácido L-glutâmico e da vitamina D<sub>3</sub> na composição química de fêmures e tibiotarsos de pintos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, **30** (6): 2067-2077.
- Statsoft. 1995. **Statistica for Windows (Computer program manual)**. Tulsa, USA, CD-Rom.
- Suzuki, T.; Hara, H. 2004. Various non-digestible saccharides increase intracellular calcium ion concentration in rat small-intestinal enterocytes. **British Journal of Nutrition**, **92** (5): 751-755.
- Tahiri, M.; Tressol, J. C.; Arnaud, J.; Bornet, F. R. J.; Bouteloup-Demange, C.; Feillet-Coudray, C.; Brandolini, M.; Ducros, V.; Pépin, D.; Brouns, F.; Roussel, A. M.; Rayssiguier, Y.; Coudray, C. 2003. Effect of short-chain fructooligosaccharides on intestinal calcium absorption and calcium status in postmenopausal women: a stable-isotope study. **American Journal of Clinical Nutrition**, **77** (2): 449-457.
- Tellez, G.; Nava, G. M.; Vicente, J. L.; Donoghue, D. J.; Donoghue, A. M.; Huff, W. E.; Balog, J. M.; Higgins, S.; Sutton, L.; Hargis, B. M. 2003. Evaluation of dietary *Aspergillus* meal prebiotic (Fermacto™) on poult performance, intestinal strength, tibial diameter and tibial strength: hatch to 30 days-of-age. **Proceedings of 92<sup>nd</sup> Poultry Science Association Annual Meeting**, Madison, USA, p.67.
- Universidade Federal de Viçosa – UFV. 2001. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.0. Viçosa, Brasil, 150pp.
- van den Heuvel, E. G. H. M.; Muys, T.; van Dokkum, W.; Schaafsma, G. 1999. Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents. **American Journal of Clinical Nutrition**, **69** (3): 544-548.
- Yamamoto, M.; Seedor, J. G.; Rodan, G. A.; Balena, R. 1995. Endogenous calcitonin attenuates parathyroid hormone-induced cancellous bone loss in the rat. **Endocrinology**, **136** (2): 788-795.
- Zafar, T. A.; Weaver, C. M.; Zhao, Y.; Martin, B. R.; Wastney, M. E. 2004. Nondigestible oligosaccharides increase calcium absorption and suppress bone resorption in ovariectomized rats. **Journal of Nutrition**, **134** (2): 399-402.