

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
CURSO DE MESTRADO**

**AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS PARA  
FRANGOS DE CORTE**

**JAQUELINE OLIVEIRA NUNES**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
FEVEREIRO - 2014**

# **AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS PARA FRANGOS DE CORTE**

**JAQUELINE OLIVEIRA NUNES**

Zootecnista  
Universidade Federal de Lavras, 2010

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Duarte Abreu

Co-Orientador: Prof. Dr. Jerônimo Á. Gonçalves de Brito

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
FEVEREIRO - 2014**

## FICHA CATALOGRÁFICA

N972a	<p>Nunes, Jaqueline Oliveira. Avaliação da associação de enzimas exógenas para frangos de corte / Jaqueline Oliveira Nunes._ Cruz das Almas, BA, 2014. 74f.; il.</p> <p>Orientador: Ricardo Duarte Abreu. Coorientador: Jerônimo A. Gonçalves de Brito.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.</p> <p>1.Frango de corte – Alimentação e rações. 2.Frango de corte – Nutrição animal. 3.Enzimas – Avaliação. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 636.513</p>
-------	---

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE  
JAQUELINE OLIVEIRA NUNES**



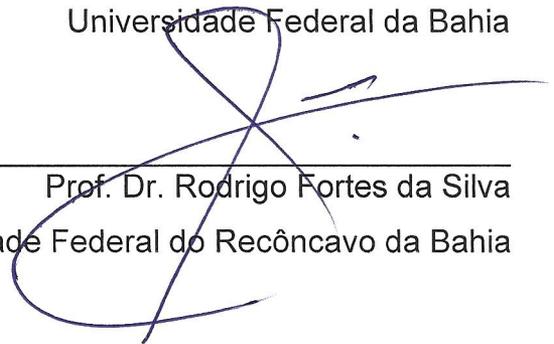
---

Prof. Dr. Ricardo Duarte Abreu  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
(Orientador)



---

Profa. Dra. Vanessa Michalsky Barbosa  
Universidade Federal da Bahia



---

Prof. Dr. Rodrigo Fortes da Silva  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
FEVEREIRO - 2014**

A Deus,

Por me guiar e iluminar em todos os momentos.

Aos meus pais, Walker e Epifânia pelo apoio, confiança e amor.

Aos meus irmãos, Waléria e Welber, pela amizade.

A meu esposo, Jerônimo, por todo amor e companheirismo.

Aos meus amigos e familiares pelo incentivo.

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, pela oportunidade concedida para realização do curso de mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb) pela concessão da bolsa de estudos.

À DSM Produtos Nutricionais do Brasil Ltda., pelo apoio financeiro e técnico para realização deste trabalho.

À Gujão Alimentos Agroindustrial e à Nutrifeira Indústria e Comércio de Rações pelo apoio.

Ao professor Dr. Ricardo Duarte Abreu, pela orientação e pela confiança durante todo o curso.

Aos professores Dra. Vanessa Michalsky e Dr. Rodrigo Fortes por fazerem parte da banca examinadora e contribuírem para o enriquecimento deste trabalho.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, pelos ensinamentos, auxílio e amizade.

As minhas queridas amigas Letícia Makiyama, Kácia Mateus por todo carinho, amizade e incentivo.

A minha afilhada Brenda pelo carinho.

Aos integrantes do Núcleo de Estudos em Avicultura do Recôncavo (NEAR), mestrandos, bolsistas e estagiários Adriana, Alan Dourado, Débora, Divaney, Jacson, Jamile, Jeane, Jeskarlandia, Júlia, Laiza, Lennon, Maiana, Naiara, Rafael, Silvan, Zilda, pelo auxílio na realização dos experimentos e convívio.

Aos colegas da pós-graduação.

Aos vigias do Setor de Avicultura Carlos, Jutai e Valdir, pelo apoio e convívio.

Ao pessoal da Assessoria Técnica de Experimentação Animal (ATEA) pelo apoio para realização dos experimentos.

A secretária do programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Rejane Barbosa pelo auxílio.

A todos aqueles que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS .....	i
LISTA DE TABELAS .....	ii
RESUMO.....	v
ABSTRACT .....	vii
1 INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1 Enzimas na alimentação de aves .....	3
2.1.1 Carboidrases .....	5
2.1.1.1 Amido e amilase.....	6
2.1.1.2 Efeito dos polissacarídeos não amiláceos dietéticos e a hidrólise pelas enzimas exógenas .....	7
2.1.2 Fitases e seu substrato .....	9
2.1.3 Proteases .....	12
2.1.4 Efeito da associação de enzimas em dietas de aves.....	13
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	17
CAPÍTULO I .....	24
SUPLEMENTAÇÃO DE ENZIMAS ASSOCIADAS EM RAÇÕES COM NÍVEIS REDUZIDOS DE MINERAIS E ENERGIA PARA FRANGOS DE CORTE.....	24
RESUMO.....	25
ABSTRACT .....	26
1 INTRODUÇÃO .....	27
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	28
2.1 Época e local de realização .....	28
2.2 Aves, instalações e equipamentos.....	29
2.3 Delineamento experimental e tratamentos .....	29
2.4 Rações e manejo experimental .....	30
2.5 Análises laboratoriais.....	33
2.6 Modelo e análise estatística.....	34
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	34
3.1 Desempenho .....	34
3.1.1 Desempenho nas fases inicial e engorda.....	34
3.1.2 Desempenho na fase de abate e integral.....	37
3.1.3 Características de carcaça.....	41
3.2 Características ósseas.....	42
3.2.1 Mineralização óssea aos 22 dias de idade.....	42
3.2.2 Mineralização óssea aos 42 dias de idade.....	44
4 CONCLUSÕES .....	45
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	46
CAPÍTULO II .....	49
ASSOCIAÇÃO DE FITASE, PROTEASE E CARBOIDRASES PARA FRANGOS DE CORTE.....	49
RESUMO.....	50
ABSTRACT .....	51
1 INTRODUÇÃO .....	52
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	53

2.1	Época e local de realização .....	53
2.2	Aves, instalações e equipamentos.....	53
2.3	Delineamento experimental e tratamentos .....	54
2.4	Rações e manejo experimental .....	55
2.5	Análises laboratoriais.....	58
2.6	Modelo e análise estatística.....	59
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
3.1	Desempenho .....	59
3.1.1	Desempenho nas fases inicial e engorda.....	59
3.1.2	Desempenho fase abate e integral.....	62
3.1.3	Características de carcaça.....	66
3.2	Características ósseas.....	67
3.2.1	Mineralização óssea aos 22 dias de idade.....	67
3.2.2	Mineralização óssea aos 42 dias de idade.....	69
4	CONCLUSÕES .....	71
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	71

**LISTA DE ABREVIATURAS**

Ca: Cálcio

CA: Conversão alimentar

CN: Controle negativo

CP: Controle positivo

CR: Consumo de ração

CV: Coeficiente de variação

Dig: Digestível

Disp: Disponível

EE: Extrato etéreo

EM: Energia metabolizável

EMA: Energia metabolizável aparente

EMAn: Energia metabolizável aparente corrigida para balanço de nitrogênio

GP: Ganho de peso

Mg: Miligrama

PB: Proteína bruta

PCa: Peso de cálcio

PP: Peso de fósforo

PRF: Peso relativo de fígado

Pt: Fósforo total

RC: Rendimento de carcaça

RCS: Rendimento de coxa e sobrecoxa

RP: Rendimento de peito

UR: Umidade relativa

V: Viabilidade

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

- Tabela 1. Conteúdo de proteína bruta (PB), cálcio (Ca), fósforo total (Pt) e extrato etéreo (EE), dos ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais\* .....30
- Tabela 2. Composição centesimal e níveis nutricionais calculados das rações para frangos de corte.....31
- Tabela 3. Porcentagem de inerte (areia lavada) e enzimas (premix ou complexo) nas diferentes fases de criação para cada tratamento.....32
- Tabela 4. Médias de temperatura (°C) e umidade relativa (UR) no interior do galpão, a cada semana experimental.....32
- Tabela 5. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 10 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não associações enzimáticas. ....35
- Tabela 6. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 22 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não associações enzimáticas. ....36
- Tabela 7. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 35 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não associações enzimáticas. ....37
- Tabela 8. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e viabilidade (V) de frangos de corte aos 41 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não associações enzimáticas.....38
- Tabela 9. Rendimento de carcaça (RC), rendimento de peito (RP), rendimento coxa + sobrecoxa (RCS) e peso relativo de fígado (PRF) de frangos de corte aos 42 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não associações enzimáticas.....41
- Tabela 10. Teor de cinzas (g/100g) e cinzas (mg) na tíbia das aves aos 22 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não associações enzimáticas.....42
- Tabela 11. Teor de fósforo - TP (g/100g), fósforo - PP (mg), teor de cálcio - TCa (g/100g) e cálcio - Pca (mg) na tíbia das aves aos 22 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não associações enzimáticas.....43

- Tabela 12. Teor de cinzas (g/100g) e cinzas (mg) na tíbia das aves aos 42 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não associações enzimáticas.....44
- Tabela 13. Teor de fósforo - TP (g/100g), fósforo - PP (mg), teor de cálcio - TCa (g/100g) e cálcio - Pca (mg) na tíbia das aves aos 42 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não associações enzimáticas.....44

## **CAPÍTULO II**

- Tabela 1. Reduções nutricionais e energéticas (porcentagem de redução - PR e redução na dieta - RD) estabelecidas no tratamento controle negativo, em relação ao controle positivo, ao longo do período experimental.....55
- Tabela 2. Conteúdo de proteína bruta (PB), cálcio (Ca), fósforo total (Pt) e extrato etéreo (EE), dos ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais\* .....55
- Tabela 3. Composição centesimal e níveis nutricionais calculados das rações para frangos de corte.....56
- Tabela 4. Porcentagem de inerte (areia lavada) e enzimas (premix) nas diferentes fases de criação para cada tratamento. ....57
- Tabela 5. Médias de temperatura (°C) e umidade relativa (UR) no interior do galpão, a cada semana experimental.....57
- Tabela 6. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 10 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não premix enzimático.....60
- Tabela 7. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 22 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não premix enzimático.....61
- Tabela 8. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 35 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não premix enzimático.....62
- Tabela 9. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e viabilidade (V) de frangos de corte aos 41 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não premix enzimático. ....63
- Tabela 10. Rendimento de carcaça (RC), rendimento de peito (RP), rendimento coxa + sobrecoxa (RCS) e peso relativo de fígado (PRF) de frangos de corte aos 42 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não premix enzimático. ....66

- Tabela 11. Teor de cinzas (g/100g) e cinzas (mg) na tíbia das aves aos 22 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não premix enzimático.....68
- Tabela 12. Teor de fósforo - TP (g/100g), fósforo - PP (mg), teor de cálcio – TCa (g/100g) e cálcio - Pca (mg) na tíbia das aves aos 22 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não premix enzimático. ....68
- Tabela 13. Teor de cinzas (g/100g) e cinzas (mg) na tíbia das aves aos 42 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não premix enzimático.....69
- Tabela 14. Teor de fósforo - TP (g/100g), fósforo - PP (mg), teor de cálcio - TCa (g/100g) e cálcio - PCa (mg) na tíbia das aves aos 42 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não premix enzimático. ....70

# AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS PARA FRANGOS DE CORTE

**Autor: Jaqueline Oliveira Nunes**  
**Orientador: Ricardo Duarte Abreu**

## RESUMO

Dois experimentos foram realizados com o objetivo de avaliar a suplementação de associações de enzimas sobre o desempenho, características de carcaça e mineralização óssea de frangos de corte. As rações foram à base de milho e farelo de soja. No experimento I foram utilizados 928 pintos machos da linhagem Cobb-500<sup>®</sup>. Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 4 tratamentos e 8 repetições com 29 aves por parcela experimental. Os tratamentos foram: 1 - Controle Positivo (CP), padrão nutricional do manual da linhagem; 2 - Controle Negativo (CN), com reduções de 75 Kcal/kg EMAn; 0,10 e 0,12 pontos percentuais para fósforo e cálcio, respectivamente; 3 - CN + premix enzimático (amilase,  $\beta$ -glucanase, fitase e xilanase - 250 g/t de ração) e 4 - CN + complexo enzimático (fitase, amilase, xilanase, glucanase, pectinase, celulase e protease - 200 g/t de ração). O desempenho das aves alimentadas com níveis nutricionais reduzidos piorou ( $p < 0,05$ ) ao longo do experimento. A suplementação de premix enzimático no período entre 1 a 22 dias promoveu recuperação ( $p < 0,05$ ) no ganho de peso e conversão alimentar igualando ao grupo CP. Nas demais fases o uso das associações de enzimas proporcionou melhoria no desempenho, porém inferior ao padrão observado no CP. O rendimento de carcaça e cortes não foram influenciados ( $p > 0,05$ ) pelos tratamentos avaliados. As reduções de nutrientes e energia não influenciaram ( $p > 0,05$ ) os teores de cinzas, cálcio e fósforo da tíbia, porém reduziu ( $p < 0,05$ ) o peso dos mesmos. No experimento II foram utilizados 696 pintos machos da linhagem Cobb-500<sup>®</sup>. Adotou-se um DIC com 3 tratamentos e 8 repetições com 29 aves cada. Os tratamentos foram: 1-CP; 2- CN, com reduções dos níveis nutricionais e energético (fase inicial redução 50 Kcal/kg EMAn, 0,836; 0,038; 0,054; 0,060 pontos percentuais para proteína bruta, lisina, metionina+cistina e treonina digestíveis, respectivamente; fase engorda e abate redução de 80 Kcal/kg EMAn;

0,845; ,0155; 0,033; 0,064 pontos percentuais para proteína bruta, lisina, metionina+cistina, treonina digestíveis, respectivamente. As reduções de fósforo e cálcio foram de 0,150 e 0,176 pontos percentuais, respectivamente, para todas as fases de criação); 3 - CN + premix enzimático (amilase+ $\beta$ -glucanase, xilanase, fitase e protease - 500 g/t de ração). A associação de enzimas melhorou ( $p<0,05$ ) o desempenho das aves, porém não se igualou ao controle positivo. O rendimento de carcaça, coxa + sobrecoxa e peso de fígado não foram influenciados ( $p>0,05$ ) pelos tratamentos avaliados. A suplementação de enzimas aumentou ( $p<0,05$ ) o rendimento de peito das aves. Houve diminuição do ( $p<0,05$ ) do peso de cinzas, cálcio e fósforo da tíbia com as reduções de nutrientes e energia da dieta. A suplementação de enzimas proporcionou recuperação parcial dos pesos dos mesmos. O uso de enzimas associadas melhora o desempenho das aves alimentadas com níveis reduzidos de nutrientes e energia.

**Palavras-chave:** aditivos, aves de corte, desempenho, mineralização óssea, nutrição

# ASSESSMENT OF ASSOCIATION OF ENZYMES EXOGENOUS FOR BROILER

**Author: Jaqueline Oliveira Nunes**

**Guidance: Dr. Ricardo Duarte Abreu**

## ABSTRACT

Two experiments were conducted to evaluate the associations of enzyme supplementation on performance, carcass characteristics, and bone mineralization of broilers. The diets were based on corn and soybean meal. In the Experiment I, 928 male of strain Cobb-500<sup>®</sup> chicks were used. It was adopted a completely randomized design (CRD) with 4 treatments and 8 replicates with 29 birds per experimental plot. The treatments were: 1 - Positive Control (PC), nutritional standard of the Guide strain Cobb, 2 - Negative Control (NC), with reductions of 75 Kcal/kg AMEn, 0.10 and 0.12 percentage points for phosphorus and calcium respectively; 3 - CN + premix enzyme (amylase,  $\beta$ -glucanase, xylanase and phytase - 250 g/t of feed); 4 - CN + enzyme complex (phytase, amylase, xylanase, glucanase, pectinase, cellulase and protease - 200 g/t of feed). The performance of birds fed with reduced nutrient levels decreased ( $p < 0.05$ ) throughout the experiment. The supplementation of the enzyme premix on period between 1 to 22 days promoted recovery ( $p < 0.05$ ) in weight gain and feed conversion equaling at the PC group. In other phases the use of associations of enzymes provided performance improvement, but lower than the pattern observed in CP. The carcass and cuts yield were not influenced ( $p > 0.05$ ) by treatments evaluated. The reductions of nutrients and energy did not influence ( $p > 0.05$ ) contents of ash, calcium and phosphorus in the tibia, but decreased ( $p < 0.05$ ) the weight thereof. In the second experiment 696 male of strain Cobb-500<sup>®</sup> chicks were used. It was adopted an CRD with 3 treatments and 8 replicates with 29 birds each. The treatments were: 1 - PC, 2 - NC, with reductions of nutrient and energy levels (initial phase reduction was 50 Kcal/kg AMEn, 0.836, 0.038, 0.054, and 0.060 percentage points for crude protein, lysine, methionine+cystine and threonine respectively, growing and slaughter phases the reduction were of 80 Kcal/kg AME ; 0.845; 0.155; 0.033; 0.064 percentage points for crude protein, lysine,

methionine+cystine, threonine, respectively reductions of phosphorus and calcium were 0.150 and 0.176 percentage points, respectively, for all phases of creation); 3 - NC + enzyme premix (amylase +  $\beta$ -glucanase, xylanase, phytase and protease - 500 g/t of feed). The association of enzymes improved ( $p < 0.05$ ) broiler performance, but not equaled the PC group. The carcass yield and relative liver weight were not affected ( $p > 0.05$ ) by treatments evaluated. Supplemental enzymes increase ( $p < 0.05$ ) breast yield to birds. There was decreased ( $p < 0.05$ ) the weight of ash, calcium and phosphorus in the tibia with reductions of nutrients and energy from the diet. The supplementation of enzyme provided partial recovery of the weights of the same. The use of enzymes associated improves performance of broilers fed low levels of nutrients and energy.

**Key words:** additives, bone mineralization, broilers, nutrition, performance

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil as dietas de aves são compostas basicamente por milho e farelo de soja que, apesar de apresentarem alta digestibilidade, ainda podem ser melhor exploradas. Estudos com frangos de corte alimentados com milho e soja têm comprovado que a utilização de enzimas exógenas pode melhorar o aproveitamento dos nutrientes da dieta obtendo desempenho animal mais uniforme.

A utilização de enzimas na alimentação animal, em especial de aves, é uma realidade, não apenas por razões econômicas, mas principalmente, devido à eficiência técnica e uniformidade da resposta. Trabalhos demonstram que dependendo do tipo de enzima utilizada, pode-se melhorar a utilização de energia e aminoácidos, além de reduzir ou eliminar os efeitos de substâncias que interferem na utilização dos nutrientes (fatores anti-nutricionais) da dieta. Desta forma, é possível constatar aumento na digestibilidade dos nutrientes e melhorias na morfologia intestinal, o que pode resultar em melhor desempenho das aves.

O sucesso na utilização de produtos enzimáticos na alimentação de aves requer o conhecimento dos compostos químicos a serem hidrolisados. A escolha adequada da enzima ou combinação de enzimas é o primeiro passo para se obter o êxito com determinado tipo de dieta. Entre as enzimas exógenas produzidas industrialmente, a fitase é a mais estudada e utilizada. Entretanto, pesquisas têm demonstrado efeitos positivos na utilização de xilanases, glucanases, amilases, proteases, entre outras, de forma isolada ou em diferentes combinações.

O interesse no uso de enzimas em rações animais tem aumentado devido ao custo cada vez maior das matérias primas convencionalmente utilizadas nas rações de aves. Tem-se percebido a importância em melhorar o aproveitamento dos nutrientes e energia dos alimentos das dietas, de forma a aperfeiçoar o processo produtivo. Assim, a forma mais coerente de utilização de produtos enzimáticos na

alimentação de aves é através da determinação da enzima ou associação de enzimas para cada dieta, aliada a aspectos econômicos.

Os nutricionistas têm disponível um grande número de produtos comerciais, com muitas indicações de uso, mas, ainda, há muito a ser pesquisado e avaliado, principalmente quanto à associação de enzimas. Dessa forma, é importante que estudos sejam realizados utilizando-se diferentes combinações enzimáticas em dietas para aves, pois representam uma realidade da indústria avícola.

Portanto, objetivou-se com esse trabalho avaliar o uso de diferentes associações de enzimas exógenas sobre o desempenho, características de carcaça e mineralização óssea em rações de frangos de corte.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Enzimas na alimentação de aves

As enzimas são moléculas protéicas complexas que catalisam reações químicas, são altamente específicas para as reações que catalisam e para os substratos que estão envolvidos na reação. Exigem que sua estrutura permaneça inalterada para garantir sua atividade, a qual depende de vários fatores (pH, temperatura, presença de inibidores enzimáticos) e, por serem proteínas, podem ser inativadas e desnaturadas por pH extremos e calor (NAGASHIRO, 2007).

De acordo com Lehninger; Nelson; Cox (2006), as enzimas são proteínas, que atuam com catalisadores biológicos, sobre substrato específico, dependente das condições ótimas de temperatura e pH, que aceleram a velocidade das reações bioquímicas sem serem alteradas nesse processo.

Segundo Khattak et al. (2006), as enzimas exógenas utilizadas na alimentação animal são produzidas por várias bactérias (ex.: *Bacillus subtilis*, *Bacillus lentus*, *Bacillus amyloliquifaciens* e *Bacillus stearothermophils*) e Fungos (ex.: *Trichoderma longibrachiatum*, *Asperigillus oryzae*, *Asperigillus niger* e *Saccharomyces cerevisiae*).

Segundo Lima (2005), o uso de enzimas na alimentação de não ruminantes é estabelecido visando reduzir os fatores anti-nutricionais que estão presentes em maior ou menor quantidade na dieta, dependendo dos ingredientes utilizados, aumentando a disponibilidade dos nutrientes, degradando estruturas químicas específicas que as enzimas digestivas endógenas não conseguem degradar ou degradam parcialmente.

Aditivos enzimáticos não possuem função nutricional direta, mas auxiliam o processo digestório, melhorando a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta (CAMPESTRINI; SILVA; APPELT, 2005). A suplementação enzimática em dietas de

aves pode aumentar a utilização de energia e aminoácidos, além de reduzir ou eliminar os efeitos dos fatores anti-nutricionais contribuindo para um maior desempenho dos frangos de corte (YU et al., 2007).

Para Bedford; Apajalathi (2001) os benefícios da utilização de enzimas sobre o desempenho das aves é reflexo não apenas da melhoria no aproveitamento dos nutrientes da ração, mas também do equilíbrio da microbiota do trato digestório das aves. Ainda segundo os autores, a utilização destes aditivos reduz a quantidade de resíduo não digerido que entra no intestino grosso, como consequência do melhor aproveitamento dos constituintes da ração no intestino delgado, diminuindo a população microbiana potencialmente patogênica no íleo terminal.

Existem no mercado produtos enzimáticos com atividade única ou combinados com várias enzimas. Segundo Freitas et al. (2011), grande parte dos produtos enzimáticos disponíveis apresenta mais de uma atividade enzimática, esses produtos são as misturas (premix) ou complexos. Há ainda os produtos monocomponentes que possuem apenas uma atividade enzimática, produzidos por um microrganismo específico. Os *blends*, termo usado para definir premix enzimático, são obtidos a partir da produção de enzimas através da fermentação de vários microrganismos separadamente e só depois as enzimas são misturadas, enquanto que, os complexos são originados pela fermentação com um único microrganismo original, onde há síntese de várias enzimas.

Pelo fato de as enzimas serem específicas em suas reações Tejedor; Albino; Rostagno (2001) sugerem que a utilização de associações de enzimas é mais efetiva no aproveitamento dos nutrientes da dieta. Segundo os autores, produto enzimático que apresenta apenas uma atividade é insuficiente em disponibilizar os nutrientes e produzir o máximo benefício ao animal.

Para Choct (2006), a utilização de enzimas comerciais na alimentação tem evoluído muito nos últimos anos, tendo por base a eficácia dos novos produtos e o melhor entendimento da relação entre a atividade enzimática e o substrato disponível para degradação.

O uso de enzimas em dietas para aves pode ocorrer de duas maneiras distintas. A primeira utilização consiste em suplementar a enzima à dieta padrão,

formulada para atender as exigências nutricionais das aves, sem modificação na formulação, na expectativa de melhorar o desempenho, segundo Wyatt; Bedford (1998) esse tipo de utilização é definido com “*over the top*” ou “*on top*”. Outra maneira de utilização de enzima é através da alteração da formulação da ração, através de reduções nutricionais e adição da enzima ou da mistura de enzimas para que ocorra a restauração do valor nutricional e por consequência manutenção do desempenho esperado com níveis nutricionais normais.

Segundo Bertechini; Brito (2007), o uso do conceito “on top” tende a aumentar o custo das formulações e o eventual excesso de nutrientes poderá ser convertido em gordura ou simplesmente serão excretados pelo animal, sem efeitos positivos sobre o desempenho das aves.

De acordo com Sorbara et al. (2009) quando os frangos são alimentados com dieta teoricamente perfeita, ou seja que atende todas as suas necessidades, é pouco provável que ocorra uma melhoria no desempenho quando enzimas são usadas “on top”. Como as aves já estão mostrando seu potencial, há pouco espaço para melhores resultados de desempenho.

Brito (2011) afirma que, o uso de enzimas na dieta de aves através de redução dos níveis nutricionais é mais comum em função da viabilização econômica das formulações com a manutenção do desempenho. Ainda segundo o autor, dietas que atendam plenamente as necessidades nutricionais para máximo desempenho das aves dificultam a mensuração de respostas das enzimas exógenas.

### **2.1.1 Carboidrases**

Carboidrases são enzimas responsáveis pela hidrólise dos carboidratos, tendo como finalidade principal, quando utilizadas em dietas de aves, melhorar o aproveitamento da energia dos ingredientes, principal componente do custo das rações de aves. As carboidrases compreendem as amilases, glucanases, pectinases, xilanases, celulasas, hemicelulasas, entre outras. Carboidrases endógenas produzidas pelas aves são específicas para carboidratos com ligações alfa, como o amido, não atuando sobre carboidratos com ligações betas encontrados em várias sementes ou grãos de plantas (FERNANDES; MALAGUIDO, 2004).

### 2.1.1.1 Amido e amilase

O amido é o principal polissacarídeo dietético e a maior fonte de energia para animais não ruminantes, presente em grandes quantidades nos grãos cereais, formado por polímeros de glicose, composto por cadeias de amilose e a amilopectina (TESTER; KARKALAS; QI, 2004). De acordo com Eliasson (2004), a amilose é formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4, originando uma cadeia linear. Já a amilopectina é formada por unidades de glicose unidas em  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6, formando uma estrutura ramificada. As proporções em que essas estruturas aparecem diferem em relação às fontes botânicas, variedades de uma mesma espécie e, ainda numa mesma variedade, de acordo com o grau de maturação da planta.

O conteúdo energético dos ingredientes da dieta de aves é devido principalmente ao amido (WISEMAN, 2006). Trabalho realizado por Gracia et al. (2003) mostra que a digestibilidade do amido em aves pode variar em função da idade, os resultados encontrados pelos autores demonstram digestibilidade do amido de 93% aos 7 dias passando para 96% aos 28 dias de idade das aves.

Estudos comprovam certa ineficácia na digestão do amido na fase inicial comparado com a fase final, assim o uso de amilase exógena, pode ser uma alternativa interessante. Pesquisa desenvolvida por Moraes et al. (2009), demonstra que a atividade da alfa-amilase em frangos de corte aumenta com a idade até o 14º dia. Sakomura et al. (2004) observaram aumento linear da amilase endógena de acordo com a idade das aves.

Segundo Wiseman (2006), embora a idade das aves influencie na digestibilidade do amido, não se pode generalizar e afirmar que os valores menores de digestibilidade nas aves jovens são decorrentes apenas da baixa produção de amilase, outros fatores podem estar envolvidos, como interação entre o amido e outros componentes e as propriedades físico-químicas da estrutura do amido em si.

Pesquisas mostram efeitos positivos da utilização de amilase em dietas à base de milho e farelo de soja, melhorando a digestibilidade e por consequência o desempenho das aves. Segundo Sheppy (2001) a suplementação de amilase em

dietas animais complementa as enzimas endógenas e auxilia na exposição do amido mais rapidamente, conduzindo ao aumento na utilização do nutriente, com consequente melhoria nas taxas de crescimento.

Gracia et al. (2003), avaliando a suplementação de amilase em dietas à base de milho e farelo de soja, para frangos de corte, observaram que a enzimas exógena aumenta a digestibilidade dos nutrientes e proporciona melhor conversão alimentar das aves.

Carvalho et al. (2009) trabalhando com complexo enzimático composto por carboidrases, entre elas a amilase, em rações de frangos de corte machos e fêmeas, observaram que, na fase inicial, a inclusão de 0,03% e 0,04% do complexo enzimático melhora o ganho de peso em frangos de corte machos.

### **2.1.1.2 Efeito dos polissacarídeos não amiláceos dietéticos e a hidrólise pelas enzimas exógenas**

Os polissacarídeos não amiláceos (PNA's) são os principais constituintes da parede celular dos grãos, principalmente cereais e oleaginosas, mas não podem ser digeridos pelas aves devido a ausência de enzimas capazes de hidrolisar as ligações químicas presentes nesses carboidratos (RAMOS et al., 2007).

Os PNA's podem ser divididos basicamente em dois grupos, os solúveis e os insolúveis. Para Hetland; Choct; Svihus (2004), de acordo com a solubilidade os PNA's podem ser considerados nutrientes diluentes de energia metabolizável ou fatores anti-nutricionais relacionados com a diminuição do aproveitamento dos nutrientes nas dietas de frangos de corte. Segundo os autores as fibras insolúveis aumentam a velocidade de passagem, o que reduz o tempo de digestão e por consequência a utilização dos nutrientes.

Os PNA's solúveis têm maior capacidade de promover viscosidade da digesta quando comparados aos insolúveis, o aumento na viscosidade ocorre pela capacidade dos PNA's solúveis de se ligarem a grandes quantidades de água. Com o aumento na viscosidade, diminui o contato entre substratos e enzimas digestivas, reduzindo o tempo de permanência da digesta sobre a atuação enzimática, podendo levar a diminuição da digestão e absorção de nutrientes, consequentemente

afetando o desempenho (CHOCT, 2001). A elevada capacidade de absorver água e gelatinizar a ingesta no trato digestório, reduz o valor nutritivo e pode comprometer a utilização de outros nutrientes (CHOCT et al., 2010).

O efeito negativo dos PNA's insolúveis nos animais não ruminantes ocorre através da não digestão e absorção de nutrientes como amido e proteínas encapsulados ou incorporados na parede celular do endosperma do grão, impedindo a ação das enzimas endógenas (CHOCT, 2006). Esses efeitos são muito importantes em grãos de cereais de baixa viscosidade como o milho, assim como para o farelo de soja, base da alimentação de aves no Brasil (MENEGETTI, 2013).

De acordo com Fischer et al. (2002) os efeitos benéficos da suplementação de carboidrases que degradam PNA's nas dietas dos não ruminantes são: aumentar a digestibilidade dos nutrientes, aumentar a energia metabolizável da ração, melhorar o desempenho, além de poder reduzir o custo da alimentação dos animais. Segundo Kocher et al. (2002), a liberação de nutrientes encapsulados através da utilização de enzimas exógenas é um mecanismo para melhorar a utilização da energia dietética.

Complexos enzimáticos contendo carboidrases, ao promover a hidrólise dos polissacarídeos não amiláceos, aumentam a disponibilidade de nutrientes para absorção pelas aves (MENG et al. 2004).

Trabalho realizado por Rutherford; Chung; Moughan (2007) demonstrou melhoria na digestibilidade de aminoácidos em dieta para frangos de corte à base de milho e soja suplementada com  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -glucanase e xilanase. Segundo os autores, a hidrólise das moléculas de polissacarídeos complexados promove a liberação dos nutrientes encapsulados na parede celular dos vegetais, permitindo a ação das enzimas endógenas. A liberação dos nutrientes encapsulados pode ser confirmada pelo aumento na digestibilidade dos aminoácidos da dieta.

Para Brito (2011), o conhecimento específico do milho e farelo de soja é de fundamental importância para entender os efeitos das várias enzimas que possuem ação na digestibilidade de frações normalmente indigestíveis encontradas nos mesmos. Apesar da digestibilidade de nutrientes do milho e do farelo de soja ser considerada alta, uma parte significativa deixa de ser aproveitada, ou mesmo, apresentam efeito anti-nutricional em toda a fisiologia digestiva das aves.

O milho contém 8% de PNA's sendo a maior parte na forma insolúvel, enquanto que, o farelo de soja apresenta em torno de 27%, sendo apenas 6% na forma solúvel (ACAMOVIC, 2001). Segundo Tavernari et al. (2008), o farelo de soja e o milho apresentam 30,3% e 8,1% de PNA's, respectivamente em suas constituições, com digestibilidade praticamente nula para aves. Conhecendo os substratos, pode-se traçar um perfil adequado de enzimas que promova melhor aproveitamento dessas frações indigestíveis.

De acordo com Brito (2011) a incapacidade das aves em digerir os PNA's assinala para a necessidade de suplementação das carboidrases que degradam esses compostos, principalmente nas fases iniciais de criação, quando os níveis de farelo de soja, principal fonte de proteína bruta, são altos, aumentando a quantidade de PNA's na dieta. As enzimas exógenas que hidrolisam estes compostos tiveram seu uso bastante amplificado nos últimos anos e ganham cada vez mais força por atuarem no aumento da disponibilização de energia, principal componente do custo dietético e de suma importância para um desempenho adequado das aves.

### **2.1.2 Fitases e seu substrato**

Entre as enzimas produzidas industrialmente, para alimentação animal, a fitase é a mais utilizada. Ela disponibiliza o fósforo fítico, forma complexada de fósforo encontrada nos ingredientes vegetais. A maior parte do fósforo presente nos insumos de origem vegetal, utilizados nas dietas de aves, está na forma de ácido fítico, que é a principal forma de estoque de fósforo nas sementes (ANGEL et al., 2002).

De acordo com Augspurger; Uglade (2009), do fósforo total encontrado nos alimentos de origem vegetal, entre 60 e 80% está na forma de fósforo fítico e a concentração depende da planta de onde foi derivado. O baixo aproveitamento deste fósforo de ingredientes vegetais por animais não ruminantes está diretamente relacionado à forma de armazenamento deste elemento nas plantas, pois sabidamente não ruminantes não sintetizam endogenamente e não possuem uma microbiota capaz de produzir fitase ao longo do trato digestório (SELLE; RAVIDRAN, 2007).

Os termos normalmente utilizados para nomear o substrato da enzima fitase são fitato e ácido fítico. Segundo Selle; Ravindran (2007), as fitases são enzimas que catalizam reações de quebra (hidrólise) das ligações que prendem o grupo fosfato, portanto aumentam a disponibilidade de fósforo pela hidrólise da molécula do fitato.

O ácido fítico ou fitato (hexafosfato de mio-inositol) consiste de seis porções de fósforo localizados nos seis carbonos do anel mio-inositol (SELLE et al., 2000). Segundo Lei et al. (1993), dependendo do pH, os grupamentos fosfato presentes na molécula de fitato atuam como agentes quelatante forte dos íons metálicos cálcio, magnésio, cobalto, manganês, zinco, entre outros, impedindo que esses minerais sejam absorvidos pelas aves.

De acordo com Cowieson; Acamovic; Bedford (2006), no trato digestório das aves o fitato pode interagir com minerais, formando sais insolúveis e também pode reduzir a digestibilidade de proteínas, carboidratos e lipídeos, formando complexos, os quais são menos solúveis e mais resistentes à ação de enzimas endógenas. A formação de complexo do ácido fítico e nutrientes pode comprometer o desempenho das aves. Segundo Dari (2006), os minerais e outros nutrientes, uma vez ligados à molécula de ácido fítico, tornam-se indisponíveis ao animal, ou seja, não são digeridos.

Duas classes de fitases são reconhecidas pela International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) e pela International Union of Biochemistry (IUB), 3-fitases que removem o primeiro ortofosfato na posição D-3 (L-1) do fitato e 6-fitases as quais iniciam preferencialmente a desfosforilação na posição L-6 (D-4) (RAGON et al., 2008). O número 3 e 6 refere-se ao sítio em que a fitase atua inicialmente no fitato, é o número do carbono no anel (hexafosfato de mio-inositol).

No geral as fitases bacterianas apresentam hidrólise na posição do carbono seis da molécula, enquanto que as fitases sintetizadas por fungos são denominadas 3-fitases pela especificidade em iniciar a quebra na posição do carbono três da molécula do fitato (KONIETZNY; GREINER, 2002).

Estudos indicam maior eficácia de liberação de fósforo fítico pela fitase de origem bacteriana em relação à fúngica. Segundo Augspurger; Ugalde (2009), a maior eficiência das fitases bacterianas pode ocorrer uma vez que as características

necessárias para ótima atividade da enzima são compatíveis com as características presentes no trato digestório das aves. As fitases bacterianas atuam em diferentes faixas de pH no trato digestório e apresentam resistência térmica durante peletização de rações.

Onyango; Bedford; Adeola (2005), estudando a atividade de fitase bacteriana e fúngica (*Escherichia coli* e *Peniophora lycii*) verificaram que a fitase bacteriana apresentava atividade muito maior em todos os segmentos do trato digestório de frangos de corte quando comparada à fitase fúngica.

Shaw et al. (2011), avaliaram a inclusão de fitase bacteriana produzida a partir do *Citrobacter braakii* sobre a mineralização óssea, utilizando diferentes reduções de fósforo na ração e três níveis de fitase. A maior inclusão de fitase resultou em percentagem de cinzas na tíbia semelhante a encontrada em aves alimentadas com o maior nível de fósforo na ração, sem suplementação enzimática.

Segundo resultados disponíveis na literatura a suplementação de fitase em rações para aves de corte e poedeiras, além de aumentar a retenção de cálcio e fósforo, aumentando os teores desses minerais nos ossos, melhora a digestibilidade de alguns aminoácidos e aumenta a energia metabolizável das rações, aumentando também a retenção de outros metais bivalentes como ferro, magnésio e zinco que se encontram ligados ao fitato (LIU et al., 2007; RUTHERFURD et al., 2012; TANG et al., 2012).

Pesquisas utilizando fitase em dietas de frangos de corte mostraram ser possível reduzir os níveis de nutrientes nas rações, mantendo satisfatório o desempenho das aves e minimizando a excreção de alguns elementos minerais (NAGATA, 2009; GOMIDE et al., 2011).

Outros benefícios, além de melhorar o desempenho dos animais, são obtidos com a utilização das fitases, que permite diminuir da excreção de fósforo pelas aves. Em algumas regiões com alta concentração de atividades avícolas, a poluição gerada pelos dejetos é um sério problema. De acordo com Jermutus et al. (2001) outro benefício associado ao uso de fitase é o quesito ambiental, pois o fósforo fítico, juntamente com o excesso de fósforo inorgânico adicionado às rações, são eliminados nas excretas, podendo ocorrer o processo de eutrofização de fontes

hídricas, que provocam a diminuição de oxigênio existente nas águas dos rios e lagos, além de contaminarem o solo.

### 2.1.3 Proteases

Segundo Moreira; Scapinello; Sakamoto (2004), as proteases são enzimas que atacam ligações peptídicas de proteínas e polipeptídeos e podem ser classificadas em duas, de acordo com a ação: as endopeptidases e as exopeptidases. As endopeptidases atuam preferencialmente na parte interna das cadeias de proteínas, quebrando grandes cadeias em segmentos de polipeptídeos menores.

Segundo Lemme; Ravindran; Bryden (2004), avaliações de digestibilidade indicam que uma considerável quantidade de aminoácidos e proteína passa pelo trato digestório das aves sem ser aproveitada e completamente digerida. Para Angel et al. (2011) esta proteína não digerida representa uma oportunidade para a suplementação de proteases exógenas na alimentação de frangos de corte para melhorar a digestibilidade.

De acordo com Meneghetti (2013), a utilização de proteases exógenas pode maximizar a disponibilidade de aminoácidos e direcioná-los para manutenção e crescimento dos animais, melhorando por consequência, o desempenho. Segundo Lima (2005), a adição de proteases exógenas na dieta de aves jovens pode suplementar a atividade proteolítica, liberando peptídeos menores e facilitando a ação das proteases endógenas.

Pesquisas realizadas por Bertechini et al. (2009) e Carvalho et al. (2009) testaram a capacidade de uma protease em aumentar a digestibilidade dos aminoácidos do farelo de soja e milho em rações para frangos de corte, respectivamente. Os autores utilizaram a mesma protease, em inclusão de 0 e 200 ppm, os resultados obtidos demonstram que a suplementação da protease melhora a digestibilidade dos aminoácidos do farelo de soja em média 5,3% e do milho em 3,18%.

A adição de protease, produzida a partir da fermentação de *Bacillus licheniformis*, em dietas de frangos de corte resultou na melhoria do peso corporal

(PEEK et al., 2009), eficiência alimentar e digestibilidade de proteínas (FREITAS et al., 2011).

Favero et al. (2009), ao suplementar uma protease (inclusão de 0 e 200 ppm) em dieta de frangos de corte formulada com milho, farelo de soja e farinha de carne e ossos, considerando reduções nutricionais de proteína bruta (7,5%), aminoácidos digestíveis (15%) e energéticas (3% de EMA), constataram recuperação do desempenho das aves alimentadas com rações contendo a protease.

Angel et al. (2011), avaliaram o efeito de uma protease monocomponente sobre a digestibilidade de aminoácidos e o desempenho de frangos de corte utilizando níveis reduzidos de proteína bruta e aminoácidos (lisina metionina e treonina). Os autores estudaram diferentes concentrações da protease (0, 100, 200, 400 e 800 mg/kg de ração) e observaram que, quando a suplementação de protease foi maior que 200 mg/kg o desempenho das aves foi similar ao controle positivo e também houve uma maior digestibilidade de aminoácido.

#### **2.1.4 Efeito da associação de enzimas em dietas de aves**

Estudos confirmam os efeitos positivos da suplementação enzimática nas rações das aves. Mais recentemente, as avaliações se concentram em definir efeitos aditivos dos diferentes grupos de enzimas. Segundo Campestrini; Silva; Appelt (2005), a utilização de complexos ou misturas de enzimas com característica aditivas é mais efetiva no aproveitamento do conteúdo energético e protéico da dieta, por agir de forma complementar e simultânea.

Os produtos enzimáticos disponíveis no mercado são diferentes, isto ocorre devido a fatores específicos inerentes às condições de produção das enzimas, tais como, o tipo de microrganismo utilizado para a produção, o meio de cultura, condições de fermentação, processamento e controle de qualidade (GILBERT; COONEY, 2011).

A resposta à utilização de enzimas combinadas em dietas de frangos de corte pode ser influenciada por muitos fatores, como concentração de substrato, doses de enzimas, as interações entre enzimas, qualidade e tipo de ingrediente utilizado na dieta, nível de nutrientes na dieta e idade dos animais (BEDFORD, 2000;

COWIESON; ADEOLA, 2005). Dados publicados sugerem que existe relação entre idade e a capacidade do trato digestório e que essa relação deve ser levada em consideração quando utilizar enzimas na dieta das aves (LESLIE et al., 2007).

Olukosi; Cowieson; Adeola (2007) utilizando combinação de fitase com complexo contendo amilase, xilanase e protease em dietas para frangos de corte, observaram que aves alimentadas com rações com níveis nutricionais reduzidos suplementadas com as enzimas apresentaram melhoria no desempenho e houve maior digestibilidade de nutrientes. Segundo os autores os frangos de corte foram mais beneficiados com a suplementação das enzimas na fase inicial de criação.

Cowieson; Ravindran (2008), utilizando complexo enzimático contendo protease, xilanase e amilase para frangos de corte, em dietas à base de milho e farelo de soja, considerando reduções nutricionais (63kcal/kg de EMA e 3% de aminoácidos), encontraram melhoria no ganho de peso e conversão alimentar para a aves que receberam dietas suplementadas com o complexo de enzimas.

Barbosa et al. (2008), avaliando a digestibilidade de nutrientes e o desempenho de frangos de corte alimentados com dietas sem e com reduções nutricionais, suplementadas com diferentes enzimas (fitase, amilase, protease e xilanase), verificaram que a combinação de enzimas melhora o aproveitamento da proteína, da energia e do fósforo, fato este que se traduziu em melhor desempenho, porém não foi totalmente suficiente para recuperar aves submetidas ao controle negativo com a suplementação enzimática em relação ao grupo de aves do controle positivo (dieta padrão).

Pesquisa realizada por Francesh; Geraert (2009) avaliou o efeito de combinações de enzimas contendo carboidrases (xilanase e glucanase) e fitase (6-fitase bacteriana) sobre o desempenho de frangos, considerando diferentes reduções nutricionais. A suplementação da combinação de enzimas aumentou o ganho de peso e melhorou a conversão alimentar das aves com maiores reduções nutricionais em comparação a aves que receberam dieta com reduções nutricionais sem suplementação de enzimas.

Barbosa et al. (2012), ao estudar o eficiência de enzimas exógenas em dietas de aves, encontraram melhoria no desempenho. A adição de fitase, amilase, xilanase

e protease em dietas de frangos de corte, com reduções de energia metabolizável, cálcio e fósforo, proporcionou consumo de ração, peso vivo e ganho de peso similar a dieta com níveis nutricionais adequados. Segundo os autores, a combinação de enzimas proporciona resultados positivos no desempenho das aves em dietas manipuladas nutricionalmente, sugerindo que combinações podem ser adotadas em dietas com níveis nutricionais reduzidos, visando manter o desempenho das aves.

Ávila et al. (2012) suplementando dietas, baseada em sorgo e farelo de soja, com complexo enzimático composto por carboidrases que degradam PNA's e fitase para frangos de corte, observaram que aves alimentadas com dietas com níveis nutricionais reduzidos suplementadas com a associação de enzimas tiveram seu desempenho restabelecido em comparação as aves do tratamento controle (dieta sem reduções nutricionais e de energia). O conteúdo de PNA's do sorgo varia entre 4,8 e 9,75% (MALATHI; DEVEGOWDA, 2001) e assim como no milho, a maior parte dos PNA's encontrados no sorgo estão sobre a forma insolúvel (CHOCT, 1997), portanto ambos são considerados cereais de baixa viscosidade.

Em experimento utilizando associações de enzimas Meneghetti (2013) avaliou a suplementação de carboidrases e fitase em dietas de frangos de corte com reduções de proteína bruta, aminoácidos, cálcio, fósforo disponível e energia metabolizável e observou que a inclusão de amilase,  $\beta$ -glucanase e fitase recuperou o ganho de peso e a conversão alimentar das aves na fase inicial de criação, apresentando resultado estatisticamente igual ao controle positivo.

Sorbara et al. (2009) avaliaram a inclusão de mistura de enzimas ( $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -glucanase e xilanase) e concluíram que a suplementação enzimática pode melhorar a capacidade digestiva das aves por aumentar a digestão dos nutrientes, resultando em maior absorção e maior consumo de ração e, conseqüentemente, em maior ganho de peso.

Fortes et al. (2012) testando a inclusão de complexo de carboidrases e fitase em dietas controle positivo e controle negativo (reduções de 4% na EMA, 3% de proteína bruta e 10% nas recomendações dos aminoácidos), observaram que a suplementação enzimática proporcionou maior consumo de ração, peso médio e ganho de peso das aves aos 42 dias de idade. Lu et al. (2013), utilizando uma

mistura de carboidrase (xilanase e  $\beta$ -glucanase) com fitase em dietas de frangos de corte deficientes em energia, proteína, cálcio e fósforo encontraram melhoria significativa no desempenho das aves suplementadas com enzimas.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACAMOVIC, T. Commercial applications of enzymes technology for poultry production. **World's Poultry Science Journal**, v.57, p.225-243, 2001.
- ANGEL, R.; TAMIM, N .M.; APPLGATE, T. J.; DHANDU, A. S.; ELLESTAD, L. E; Phytic acid chemistry: influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. **Journal of Applied Poultry Research**, v.11, n.4, p.471-480, 2002.
- ANGEL, C. R.; SAYLOR, W.; VIEIRA, S. L; WARD, N. Effects of a monocomponent protease on performance and protein utilization in 7- to 22-day old broiler chickens. **Poultry Science**, v.90, p.2281-2286, 2011.
- AUGSPURGER, N. R; UGALDE, E. Comparative Phytase Utilization in Pigs and Broiler Chickens. Congresso sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos. CBNA. Campinas-SP. 2009.
- ÁVILA, E.; ARCE, J.; SOTO, C.; ROSAS, F.; CECCANTINI, M.; MELNTYRE, D. R. Evaluation of an enzyme complex containing nonstarch polysaccharide enzymes and phytase on the performance of broilers fed a sorghum and soybean meal diet. **Journal of Applied Poultry Research**, v.21, p.279-286, 2012.
- BARBOSA, N. A. A.; SAKOMURA, N. K.; FERNANDES, J. B. K.; DOURADO, L. R. B.; Enzimas exógenas no desempenho e na digestibilidade ileal de nutrientes em frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.6, p.755-762, 2008.
- BARBOSA, N. A. A.; SAKOMURA, N. K.; BONATO, M. A.; OVIEDO-RONDON, L. H. E. Enzimas exógenas em dietas de frangos de corte: desempenho. **Ciência Rural**, v.42, n.8, p.1497-1502, 2012.
- BEDFORD, M. R.; Exogenous enzymes in monogastric nutrition - Their current value and future benefits. **Animal Feed Science and Technology**, v.86, p.1-13, 2000.
- BEDFORD, M.R.; APAJALAHTI, J. Microbial interactions in the response to exogenous enzyme utilization. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm nutrition**. Londres: Cabi international, 2001. Cap.12, p.299-314.
- BERTECHINI, A. G.; BRITO, J. A. G. Utilização Correta de Enzimas em Rações de Aves In: Anais de AveExpo 2007 -II Fórum Internacional de Avicultura.1 ed.Curitiba : Animal World, v.800, p.237-241, 2007.
- BERTECHINI, A. G.; CARVALHO, J. C. C.; MESQUITA, F. R.; CASTRO, S. F.; MENEGHETTI, C.; SORBARA, J. O. B. Use of a protease to enhance the utilization of soybean meal amino acids by broilers. **Poultry Science**, v.88 (Suppl. 1), p.68. (Abstr.), 2009.

BRITO, J. A. G. Diseños Experimentales e Investigaciones Recientes con el Uso de Enzimas y sus Combinaciones In: XXII Congreso Latinoamericano de Avicultura 2011. ed. Buenos Aires-Argentina, Association Latinoamericana de Avicultura, 2011, CD-ROM.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M.; APPELT, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.259-272, 2005.

CARVALHO, J. C. C.; BERTECHINI, A. G.; FASSANI, E. J.; RODRIGUES, P. B.; PEREIRA, R. A. N. Desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja suplementadas com complexos enzimáticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.2, p.292-298, 2009.

CARVALHO, J. C. C.; BERTECHINI, A. G.; RIOS, R. L.; MESQUITA, F. R.; LIMA, E. M. C.; SORBARA, J. O. B. Use of a protease to enhance the utilization of corn amino acids by broilers. **Poultry Science**, v.88 (Suppl. 1), p.68. (Abstr.), 2009.

CHOCT, M. Enzyme supplementation of poultry diets based on viscous cereals. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. (Eds.) **Enzymes in farm animal nutrition**. Oxfordshire: Cab Publishing, 2001. 406p.

CHOCT, M. Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World's Poultry Science Journal**, v.62, p.5-15, 2006.

CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. **Feed Milling International**, p.13-26. 1997.

CHOCT, M.; DERSJANT-LI, Y.; MCLEISH, J.; PEISKER, M. Soy oligosaccharides and soluble non-starch polysaccharides: a review of digestion, nutritive and anti nutritive effects in pigs and poultry. **Journal of Animal Science**, v.23, n.10, p.1386-1398, 2010.

COWIESON, A. J. Strategic selection of exogenous enzymes for corn/soy-based poultry diets. **Poultry Science**, v.47, p.1-7, 2010.

COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science**, v.85, p.878-885, 2006.

COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Carbohydrase, protease, and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broilers chicks. **Poultry Science**, v.84, p.1860-1867, 2005.

COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Effect of exogenous enzymes in maize-based diets varying in nutrient density for young broilers: growth performance and digestibility of energy, minerals and amino acids. **British Poultry Science**, v.49, p.37-44, 2008.

DARI, R. L. Porque utilizar um blend de enzimas e não apenas uma? In: SEMINÁRIOS TÉCNICOS NUTRON, 2006, Campinas. **Anais...** Campinas: Nutron, 2006. CD-ROM.

ELIASSON, A. C. **Starch in food: structure, function and applications**. New York: Boca Raton CRC, 2004. 605 p.

FAVERO, A.; MAIORKA, A.; ROCHA, C.; APPELT, M. D.; SORBARA, J. O. B. Effect of protease enzyme on performance and ileal digestibility of broilers grown to 42 days of age in floor pens. In: INTERNATIONAL POULTRY SCIENTIFIC FORUM, 2009, Atlanta. Abstracts... Atlanta: **Poultry Science**, p.9, 2009.

FERNANDES, P. C. C.; MALAGUIDO, A. Uso de enzimas em dietas de frangos de corte. In: Conferencia Apinco de Ciência e Tecnologias Avícolas, 2004, Santos. **Anais...** Santos: FACTA, 2004. p.117-126.

FISCHER, G.; MAIER, J. C.; RUTZ, F.; BERMUDEZ, V. L. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, com ou sem adição de enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.402-410, 2002.

FORTES, B. D.; CAFÉ, M. B.; STRINGUINI, J. H.; BRITO, J. A. G.; REZENDE, P. L. P.; SILVA, R. D. Avaliação de programas nutricionais com a utilização de carboidrases e fitase em rações de frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, v.13, p.24-32, 2012

FRANCESCH, M.; GERAERT, P. A. Enzyme complex containing carbohydrases and phytase improve growth performance and bone mineralization of broilers fed reduced nutrient corn-soybean-based diets. **Poultry Science**, v.88, p.1915-1924, 2009.

FREITAS, D. M.; VIEIRA, S. L.; ANGEL, C. R.; FAVERO, A.; MAIORKA, A. Performance and nutrient utilization of broilers fed diets supplemented with a novel mono-component protease. **Journal of Applied Poultry Research**, v.20, p.322-334, 2011.

GILBERT, C.; COONEY, G. Thermo stability of feed enzymes and their practical application in the feed mill. In: Bedford, M. R. and G. G. Partridge (Eds.). *Enzymes in farm animal nutrition*, 2 Edn., CAB International, Oxfordshire, p.249-259, 2011.

GOMIDE, E. M.; RODRIGUES, P. B.; BERTECHINI, A. G.; FREITAS, R. T. F.; FASSANI, E. J.; REIS, M. P.; RODRIGUES, N. E. B.; ALMEIDA, E. C. Rações com níveis reduzidos de proteína bruta, cálcio e fósforo com fitase e aminoácidos para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.450-457, 2011.

GRACIA, M. I.; ARANÍBAR, M. J.; LÁZARO, R.; MEDEL, P.; MATEOS, G. G.  $\alpha$ -Amylase supplementation of broiler diets based on corn. **Poultry Science**, v.82, p.436-442, 2003.

HETLAND, H.; CHOCT, M.; SVIHUS, B. Role of insoluble no-starch polysaccharides in poultry nutrition. **World's Poultry Science Journal**, v.60, p.415-422, 2004.

JERMUTUS, L.; TESSIER, M.; PASAMONTES, L.; VAN LOON, A. P. G. M.; LEHMANN, M. Structure-based chimeric enzymes as an alternative to directed enzyme evolution: phytase as a test case. **Journal of Biotechnology**, v.85, p.15-24, 2001.

KHATTAK, F. M.; PASHA, T. N.; HAYAT, Z.; MAHMUD, A. Enzymes in Poultry Nutrition. **Journal of Applied Poultry Science**, v.16, p.1-7. 2006.

KOCHER, A.; CHOCT, M.; PORTER, M. D.; BROZ, J. Effects of feed enzymes on nutritive value of soybean meal fed to broilers. **British Poultry Science**, v.43, n.1, p.54-63, 2002.

KONIETZNY, U.; GREINER, R. Molecular and catalytic properties of phytase degrading enzymes (phytases). **Journal Food Science Technology**, v.37, p.791-812, 2002.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Savier, 2006. 1202p.

LEI, X. G.; KU, P. K.; MILLER, E. R.; YOKOYAMA, M. T. Supplementing corn soybean meal diets with microbial phytase linearly improves phytate phosphorus utilization by weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v.71, p.3359-3367. 1993.

LEMME, A.; RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W. L. Ileal digestibility of amino acids in feed ingredients for broilers. **World's Poultry Science Journal**, v.60, p.514-517, 2004.

LESLIE, M. A.; MORAN JR., E. T.; BEDFORD, M. R. The effect of phytase and glucanase on the ileal digestible energy of corn and soybean meal fed to broilers. **Poultry Science**, v.86, p.2350-2357, 2007.

LIMA, F. R. Aditivos zootécnicos: enzimas. In: PALERMO NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. I. **Farmacologia aplicada à avicultura**. São Paulo: ROCA, p.239-248, 2005.

LIU, N.; LIU, G. H.; LI, F. D.; SANDS, J. S.; ZHANG, S.; ZHENG, A. J.; RU, Y. J. Efficacy of phytases on egg production and nutrient digestibility in layers fed reduced phosphorus diets. **Poultry Science**, v.86, p.2337-2342, 2007.

MALATHI, V.; DEVEGOWDA, G. In vitro evaluation of nonstarch polysaccharide digestibility of feed ingredients by enzymes. **Poultry Science**, v.80, p.302-305, 2001.

LU, H.; ADEDOKUN, S. A.; PREYNAT, A.; LEGRAND-DEFRETIN, V.; GERAERT, P. A.; ADEOLA, O.; AJUWON, K. M. Impact of exogenous carbohydrases and phytase

on growth performance and nutrient digestibility in broilers. **Canadian Journal of Animal Science**, v.93, n.2, p.243-249, 2013.

MENEGHETTI, C. **Associação de enzimas em rações para frangos de Corte**. 2013. 93p Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras.

MENG, X.; SLOMINSKI, B. A.; GUENTER, W. The effect of fat type, carbohydrase, and lipase addition on growth performance and nutrient utilization of young broilers fed wheat-based diets. **Poultry Science**, v.83, n.10, p.1718-1727, 2004.

MORAES, H. K. G; RODRIGUES, A. C. P; OLIVEIRA, M. G. A.; ALBINO, L. F. T.; SILVA, F. A.; LOPES, R. C. S. O. Perfil enzimático de  $\alpha$ -amilase, lipase e tripsina do pâncreas e crescimento do fígado, intestino e pâncreas de frangos de corte na fase de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.2188-2192. 2009.

MOREIRA, I.; SCAPINELLO, C.; SAKAMOTO, M. U. Fisiologia da digestão e absorção de proteínas em aves. In: SAKOMURA, N. K. et al. Curso de fisiologia da digestão e metabolismo dos nutrientes em aves. Jaboticabal: UNESP, 2004. CD-ROM.

NAGASHIRO, C. **Enzimas en la nutrición de aves**. in Conferência Apinco 2007 de Ciência e Tecnologia avícolas. p.309-328, 2007.

NAGATA, A. K. Uso do conceito de proteína ideal em r rações com diferentes níveis energéticos, suplementadas com fitase para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.2, p.599-605, 2009.

OLUKOSI, O. A.; COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Age-related influence of a cocktail of xylanase, amylase, and protease or phytase individually or in combination in broilers. **Poultry Science**, v.86, p.77-86, 2007.

ONYANGO, E. M.; BEDFORD, M. R.; ADEOLA, O. Phytase activity along the digestive tract of the broiler chick: A comparative study of an *Escherichia coli* derived and *Peniophora lycii* phytase. **Canadian Journal of Animal Science**, v.85, p.61-68, 2005.

PEEK, H. W.; VAN DER KLIS, J. D.; VERMULEN, B; LANDMAN, W. J. M. Dietary protease can alleviate negative effects of a coccidiosis infection on production performance in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v.150, p.151-159, 2009.

RAGON, M.; AUMELAS, A.; CHEMARDIN, P.; GALVES, S.; MOULIN, G.T.; BOZE, H. Complete hydrolysis of myo-inositol hexakisphosphate by a novel phytase from *Debaryomyces castellii* CBS 2923. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.78, p.47-53, 2008.

- RAMOS, L. S. N.; LOPES, J. B.; FIGUEIREDO, A. V.; ALVES, A. A. Use of exogenous enzymes in diets of broilers chickens. **Revista Científica de Produção Animal**, v.9, p.84-94, 2007.
- RUTHERFURD, S. M.; CHUNG, T. K.; MOUGHAN, P. J. The effect of a commercial enzyme preparation on apparent metabolizable energy, the true ileal amino acid digestibility, and endogenous ileal lysine losses in broiler chickens. **Poultry Science**, v.86, p.665-672, 2007.
- RUTHERFURD, S. M.; CHUNG, T. K.; THOMAS, D. V.; ZOU, M. L.; MOUGHAN, P. J. Effect of a novel phytase on growth performance, apparent metabolizable energy, and the availability of minerals and amino acids in a low-phosphorus corn-soybean meal diet for broilers. **Poultry Science**, v.91, p.1118-1127, 2012.
- SAKOMURA, N. K.; DEL BIANCHI, M.; PIZAURO Jr., J. M.; CAFÉ, M. B.; FREITAS, E. R. Efeito da idade dos frangos de corte sobre a atividade enzimática e digestibilidade dos nutrientes do farelo de soja e da soja integral. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.924-935, 2004.
- SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V.; Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v.135, p.1-41, 2007.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V.; CALDWELL, R. A.; BRYDEN, W. L. Phytate and phytase: Consequences for protein utilization. **Nutrition Research Reviews**, v.13, p.255-278, 2000.
- SHAW, A. L.; HESS, J. B.; BLAKE, J. P.; WARD, N.E. Assessment of an experimental phytase enzyme product on live performance, bone mineralization, and phosphorus excretion in broiler chickens. **Journal Applied Poultry Research**, v.20, p.561-566, 2011.
- SHEPPY, C. The current feed enzyme market and likely trends. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm nutrition**. Londres: Cab International, p.1-10. 2001.
- SORBARA, J. O. B.; MURAKAMI, A. E.; NAKAGE, E. S.; PIRACES, F.; POTENÇA, A.; GUERRA, R. L. H. Enzymatic Programs for Broilers. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, p.233-240, 2009.
- TAVERNARI, F. C.; CARVALHO, T. A.; ASSIS, A. P.; LIMA, H. J. A. Polissacarídeos não amiláceo solúvel na dieta de suínos e aves. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.5, n.5, p.673-689, 2008.
- TANG, H. O; GAO, X. H.; JI, F.; TONG, S; LI, X. J. Effects of a thermostable phytase on the growth performance and bone mineralization of broilers. **Journal Applied Poultry Research**, v.21, p.476-483, 2012.

TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S. Efeito da adição da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.802-808, 2001.

TESTER, R. F.; KARKALAS, I.; QI, X. Starch structure and digestibility Enzyme-Substrate relationship. **World's Poultry Science Journal**, v.60, p.186-195, 2004.

WISEMAN, J. Variations in starch digestibility in non-ruminants. **Animal Feed and Science Technology**, v.130, p.66-77, 2006.

WYATT, C. L.; BEDFORD, M. R. Uso de enzimas nutricionais para maximizar a utilização de nutrientes pelo frango de corte em dietas à base de milho: Recentes processos no desenvolvimento e aplicação prática. In: SEMINÁRIO TÉCNICO FINNFEEDS, 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba.

YU, B.; WU, S. T.; LIU, C. C.; GAUTHIER, R.; CHIOU, P. W. S. Effects of enzyme inclusion in a maize-soybean diet on broiler performance. **Animal Feed Science and Technology**, v.134, p.283-294. 2007.

## **CAPÍTULO I**

### **SUPLEMENTAÇÃO DE ENZIMAS ASSOCIADAS EM RAÇÕES COM NÍVEIS REDUZIDOS DE MINERAIS E ENERGIA PARA FRANGOS DE CORTE**

## SUPLEMENTAÇÃO DE ENZIMAS ASSOCIADAS EM RAÇÕES COM NÍVEIS REDUZIDOS DE MINERAIS E ENERGIA PARA FRANGOS DE CORTE

### RESUMO

Um experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar associações de enzimas sobre o desempenho, características de carcaça e mineralização óssea de frangos de corte. Um total de 928 pintos, machos da linhagem Cobb-500<sup>®</sup> com um dia de idade foram utilizados. Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 8 repetições com 29 aves cada. Os tratamentos avaliados foram: 1- Controle Positivo (CP), padrão nutricional do manual da linhagem; 2- Controle Negativo (CN), com reduções de 75 Kcal/kg EMAn; 0,10 e 0,12 pontos percentuais para fósforo e cálcio, respectivamente; 3- CN + premix enzimático (amilase +  $\beta$ -glucanase, fitase e xilanase - 250 g/t de ração) e 4- CN + complexo enzimático (fitase, amilase, xilanase, glucanase, pectinase, celulase e protease - 200 g/t de ração). Observou-se redução ( $p < 0,05$ ) no desempenho das aves alimentadas com níveis nutricionais reduzidos. A suplementação de premix enzimático na fase de 1 a 22 dias promoveu recuperação ( $p < 0,05$ ) no ganho de peso e conversão alimentar igualando ao CP. Nas demais fases o uso das associações de enzimas proporcionou melhoria no ganho de peso e conversão alimentar, porém inferior ao CP. O rendimento de carcaça e cortes não foram influenciados ( $p > 0,05$ ) pelos tratamentos avaliados. As reduções de nutrientes e energia diminuíram ( $p < 0,05$ ) o peso de cinzas, cálcio e fósforo da tíbia. O uso de enzimas associadas resulta em melhoria no desempenho das aves alimentadas com níveis reduzidos de nutrientes e energia nas rações.

**Palavras-chave:** características ósseas, carboidrase, desempenho, fitase, rendimento de carcaça

## **SUPPLEMENTATION OF ENZYMES ASSOCIATED IN FEED WITH REDUCED LEVELS OF MINERALS AND ENERGY FOR BROILER**

### **ABSTRACT**

An experiment was conducted to evaluate associations of enzymes on performance, carcass characteristics and bone mineralization of broilers. A total of 928 chicks, male Cobb-500 strain with a day old were used. It was adopted a completely randomized design with 4 treatments and 8 replications. The treatments were: 1-Positive Control (PC), nutritional standard of the strain Guide; 2- Negative Control (NC) with reductions of 75 Kcal/kg AME, 0.10 and 0.12 percentage points for phosphorus and calcium respectively; 3- NC + premix enzyme (amylase +  $\beta$ -glucanase, xylanase and phytase - 250 g/t of feed) and 4- NC + enzyme complex (phytase, amylase, xylanase, glucanase, pectinase, cellulase and protease - 200 g/t of feed). There was decrease ( $p < 0.05$ ) on the performance of birds fed reduced nutrient levels. The enzyme premix supplementation at the phase of 1-22 days promoted recovery ( $p < 0.05$ ) in weight gain and feed conversion equaling the PC. In other phases the use of associations of enzymes provided improvement on weight gain and feed conversion, but lower than PC group. Carcass ad cuts yield was not influenced ( $p > 0.05$ ) by treatments evaluated. The reductions of nutrients and energy decreased ( $p < 0.05$ ) the weight of ash, calcium and phosphorus in the tibia. The use of enzymes associated improves performance of birds fed nutritional and energetic levels reduced in diets.

**Key words:** bone characteristics, carbohydrase, carcass yield, performance, phytase

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de enzimas em dietas para aves se baseia no máximo aproveitamento dos nutrientes e energia pelo animal. A suplementação de enzimas promove a hidrólise de substratos que normalmente não são digeridos pelas aves e que podem interferir na digestão e absorção de outras substâncias, atuando de forma negativa sobre o desempenho.

Segundo Lima (2005), o uso de enzimas exógenas na alimentação de não ruminantes é estabelecido visando reduzir os fatores anti-nutricionais, que estão presentes em maior ou menor quantidade na dieta, dependendo dos ingredientes utilizados, aumentando a disponibilidade dos nutrientes, degradando estruturas químicas específicas que as enzimas digestivas endógenas não conseguem degradar ou degradam parcialmente.

As rações de aves no Brasil são constituída basicamente de milho e farelo de soja. E apesar de apresentarem alta digestibilidade, possuem fatores que impedem um maior aproveitamento dos nutrientes e energia destes ingredientes pela aves. Segundo Hruby; Pierson (2005), a presença de fatores anti-nutricionais protéicos como inibidores de tripsina, lectina e polissacarídeos não amiláceos (PNA's) influenciam a variabilidade dos valores nutricionais do milho e da soja. Além dos polissacarídeos não amiláceos, o ácido fítico, principal forma de estoque de fósforo nas sementes, está presente na dieta e é um constituinte não digerido pelas aves. Segundo Rostagno et al. (2011), 0,34% do fósforo no farelo de soja e 0,19% no milho estão na forma de fósforo fítico.

O milho contém aproximadamente 8% de polissacarídeos não amiláceos, enquanto que o farelo de soja contém em torno de 27% de PNA's, sendo que, tanto no milho quanto na soja grande parte dos PNA's estão sobre a forma insolúvel (ACAMOVIC, 2001). Segundo Choct (2006) o efeito negativo dos PNA's insolúveis em não ruminantes ocorre através da não digestão e absorção de nutrientes como amido e proteínas encapsulados ou incorporados na parede celular do endosperma do grão, impedindo a ação das enzimas endógenas.

Pesquisas com ingredientes convencionais têm demonstrado efeito positivo no desempenho de frangos de corte a partir da suplementação de enzimas associadas com diferentes especificidades em dietas de aves (COWIESON; ADEOLA, 2005; YU;

CHUNG, 2004). A associação de enzimas possibilita alterações nas formulações das rações através de reduções de energia, proteína, aminoácidos, fósforo e cálcio pelo uso de carboidrases que degradam amido e polissacarídeos não amiláceos, proteases e fitases. As enzimas promovem o restabelecimento dos níveis nutricionais e de energia, pela melhoria da digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta, possibilitando a otimização no aproveitamento das rações e redução nos custos com alimentação.

Francesh; Geraert (2009), avaliando o efeito da associação de enzimas sobre o desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e soja, considerando reduções nutricionais, observaram aumento no ganho de peso e melhoria da conversão alimentar das aves suplementadas com enzimas.

Barbosa et al. (2012), ao estudar o eficiência de enzimas em dietas de aves, encontraram melhoria no desempenho. A adição de fitase, amilase, xilanase e protease em dietas de frangos de corte, com reduções de energia metabolizável, cálcio e fósforo, proporcionou consumo de ração e ganho de peso similar a dieta com níveis nutricionais adequados. Segundo os autores, a combinação de enzimas proporciona resultados positivos no desempenho das aves em dietas manipuladas nutricionalmente, sugerindo que associações de enzimas podem ser adotadas em dietas com níveis nutricionais reduzidos, visando manter o desempenho das aves.

Portanto, objetivou-se com esse trabalho avaliar o uso de enzimas associadas na forma de premix e complexo, em rações com reduções nutricionais e energéticas, sobre o desempenho, características de carcaça e mineralização óssea de frangos de corte.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Época e local de realização**

O experimento foi realizado, no período de fevereiro a março de 2013, no Setor de Avicultura do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da UFRB, em Cruz das Almas. O município de Cruz das Almas localiza-se na região do Recôncavo Baiano, a uma altitude de 226 metros, tendo como coordenadas

geográficas 12°24' de latitude sul e 39°40' de longitude oeste de Greenwich (Brasil, 1992).

## 2.2 Aves, instalações e equipamentos

Foram utilizados 928 pintos com um dia de idade, machos da linhagem Cobb-500<sup>®</sup>, provenientes de incubatório comercial, vacinados contra as doenças de Marek, Newcastle, Bronquite e Gumboro. As aves foram alojadas em galpão convencional de alvenaria, coberto com telhas de barro, com cortinas laterais usadas para controle parcial da temperatura e ventilação. Em cada parcela experimental, de 1,65 x 1,55 m, foi distribuído um bebedouro pendular e um comedouro tubular. O piso foi coberto com cama de maravalha.

O aquecimento das aves na fase inicial (1 a 10 dias de idade) de criação realizou-se por campânulas a gás, instaladas ao longo dos corredores no interior do galpão.

## 2.3 Delineamento experimental e tratamentos

Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 8 repetições, totalizando 32 parcela experimentais. Cada parcela foi composta por 29 aves (densidade de 11,3 aves/m<sup>2</sup>).

As dietas basais foram constituídas pelas rações: controle positivo, sem suplementação enzimática, formulada de acordo com recomendações nutricionais do manual da linhagem Cobb, e controle negativo, com reduções de 75 kcal/kg de EMAn e de 0,10 e 0,12 pontos percentuais para fósforo disponível e cálcio, respectivamente. A partir da ração controle negativo foram suplementados os produtos enzimáticos, constituindo os tratamentos, listados a seguir:

T1- Controle Positivo (CP), sem suplementação de enzimas;

T2- Controle Negativo (CN), sem suplementação de enzimas;

T3- CN + Premix enzimático (250g/ton);

T4- CN + Complexo enzimático (200g/ton).

O premix enzimático utilizado era composto por amilase (160 kNU/g) +  $\beta$ -glucanase (280 FGB/g), xilanase (160 FXU/g) e fitase (2000 U/g). As enzimas que

compõem este premix são obtidas através dos seguintes microrganismos de origem, respectivamente: *Bacillus amyloliquefaciens*, *Thermomyces lanuginosus* e *Citrobacter braakii*. Enquanto que, o complexo enzimático testado era composto pelas enzimas fitase (300 U/g), protease (700 U/g), xilanase (100 U/g),  $\beta$ -glucanase (200 U/g), celulase (40 U/g), amilase (30 U/g) e pectinase (4000 U/g), produzido a partir do microrganismo *Aspergillus niger*.

## 2.4 Rações e manejo experimental

Foram realizadas análises do milho, farelo de soja, fosfato bicálcico e calcário calcítico anteriormente para a formulação das rações experimentais (resultados apresentados na Tabela 1). Os resultados obtidos nas análises foram utilizados na formulação das rações. A composição, em nutrientes, dos demais ingredientes, correções para aminoácidos do milho e do farelo de soja, assim como o valor de energia metabolizável (EM) usados nas formulações seguiram os padrões estabelecidos nas Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2011).

Tabela 1. Conteúdo de proteína bruta (PB), cálcio (Ca), fósforo total (Pt) e extrato etéreo (EE) dos ingredientes utilizados nas rações experimentais.\*

Análise	Milho		Farelo de soja		Fosfato bicálcico	Calcário calcítico
	Fase de Criação				Integral	Integral
	Inicial/Engorda	Abate	Inicial/Engorda	Abate		
PB (%)	8,88	8,60	41,93	45,54	-	-
Ca (%)	0,08	0,05	0,40	0,35	24,42	38,40
Pt (%)	0,28	0,23	0,62	0,63	20,35	-
EE (%)	4,56	3,71	2,84	-	-	-

\* Valores expressos em base natural (matéria natural)

As rações foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais do manual da linhagem Cobb 500<sup>®</sup> (Cobb, 2012), seguindo um programa alimentar com rações: inicial (1-10 dias de idade), engorda (11-22 dias de idade) e abate (23-41 dias de idade) (Tabela 2).

Água e ração foram fornecidas à vontade em todo o período experimental. Os comedouros foram movimentados sistematicamente durante o dia para que tivesse

sempre ração disponível no “prato”. Os tratamentos foram sorteados para cada parcela experimental.

Tabela 2. Composição centesimal e níveis nutricionais calculados das rações para frangos de corte.

Ingredientes (%)	Ração/Fase					
	Inicial		Engorda		Abate	
	CP <sup>9</sup>	CN <sup>10</sup>	CP	CN	CP	CN
Milho	54,214	57,087	59,829	62,702	65,440	68,203
Farelo de Soja	38,932	38,302	33,050	32,420	27,089	26,550
Óleo soja	3,040	1,240	3,551	1,751	4,090	2,310
Fosfato Bicálcico	1,547	1,054	1,435	0,942	1,330	0,840
Calcário	0,731	0,733	0,709	0,711	0,717	0,719
Sal	0,464	0,463	0,380	0,379	0,320	0,320
Bic. Sódio 27%	0,100	0,100	0,150	0,150	0,200	0,200
Premix Vitamínico <sup>1</sup>	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix Mineral <sup>2</sup>	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
MHA 84% <sup>3</sup>	0,355	0,352	0,311	0,308	0,270	0,267
L-Lisina HCl 78%	0,177	0,188	0,175	0,186	0,145	0,156
L-Treonina 98%	0,044	0,045	0,033	0,034	0,035	0,036
Salinomicina 12% <sup>4</sup>	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Cloreto Colina 60%	0,096	0,096	0,077	0,077	0,067	0,067
Antioxidante <sup>5</sup>	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Enramicina 8% <sup>6</sup>	0,010	0,010	0,010	0,010	0,007	0,007
<i>Bacillus subtilis</i> <sup>7</sup>	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030
Inerte <sup>8</sup>	-	0,040	-	0,04	-	0,035
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
	Níveis nutricionais calculados					
Proteína Bruta (%)	21,50	21,50	19,50	19,50	18,25	18,25
EMAn (Kcal/kg)	3000	2925	3100	3025	3200	3125
Cálcio (%)	0,900	0,780	0,840	0,720	0,760	0,640
Fósforo disp. (%)	0,450	0,350	0,420	0,320	0,380	0,280
Sódio (%)	0,230	0,230	0,210	0,210	0,200	0,200
Lisina dig (%)	1,180	1,180	1,050	1,050	0,950	0,950
Met+Cis dig (%)	0,880	0,880	0,800	0,800	0,740	0,740
Treonina dig (%)	0,770	0,770	0,690	0,690	0,650	0,650
Triptofano dig (%)	0,242	0,240	0,213	0,211	0,196	0,194
Valina dig (%)	0,901	0,900	0,815	0,813	0,762	0,761

<sup>1</sup> Enriquecimento de vitaminas por kg de ração: vitamina A - 8.000 UI; vitamina D3 - 2.000 UI; vitamina E - 10 UI; vitamina K3 - 1,5 mg; vitamina B1 - 1,0 mg; vitamina B2 - 4,0 mg; vitamina B6 - 1,5 mg; vitamina B12 - 10 µg; ácido pantotênico - 8,0 mg; niacina - 25 mg; ácido fólico - 0,5 mg; biotina - 0,040 mg.

<sup>2</sup> Enriquecimento de microminerais por kg de ração: cobre - 9,0 mg; ferro - 50 mg; iodo - 1,0 mg; manganês - 70 mg; selênio - 0,3 mg e zinco - 60mg.

<sup>3</sup> Metionina hidróxi análoga.

<sup>4</sup> Salinomicina foi retirada da ração na última semana de criação (36 a 41 dias);

<sup>5</sup> Santoquim.

<sup>6</sup> A dosagem de enramicina reduziu para 4 mg/kg de ração entre 36 e 42 dias.

<sup>7</sup> *Bacillus subtilis* 3 x 10<sup>5</sup> UFC/g ração.

<sup>8</sup> A inclusão do inerte aumentou em 0,052 pontos percentuais em função da exclusão de salinomicina e ajuste da dosagem de enramicina na última semana de criação.

<sup>9</sup> Controle Positivo; <sup>10</sup> Controle Negativo.

Os produtos enzimáticos foram adicionados em substituição parcial ao inerte (areia lavada) das rações controle negativo (tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem de inerte (areia lavada) e enzimas (premix ou complexo) nas diferentes fases de criação para cada tratamento

Fase de criação	Tratamento	Inerte	Enzimas	Total
Inicial/Engorda	Controle Negativo (CN)	0,040	-	0,040
	CN+Premix Enzimático	0,015	0,025	0,040
	CN+ Complexo Enzimático	0,020	0,020	0,040
Abate	Controle Negativo (CN)	0,035	-	0,035
	CN+Premix Enzimático	0,010	0,025	0,035
	CN+ Complexo Enzimático	0,015	0,020	0,035

A temperatura e umidade foram monitoradas diariamente por meio de termohigrômetro, localizado na parte central do galpão. A partir dos dados coletados diariamente foram calculadas as médias semanais de temperatura (mínima, máxima e às 16horas) e umidade relativa, cujos valores encontram-se na tabela 4.

Tabelas 4. Médias de temperatura (°C) e umidade relativa (UR) no interior do galpão, a cada semana experimental

Semana	Temperatura			UR %
	Mínima	Máxima	16horas	
1 <sup>a</sup>	25.8	32.5	30.9	58.9
2 <sup>a</sup>	24.3	34.3	32.1	50.6
3 <sup>a</sup>	24.2	31.3	29.0	66.1
4 <sup>a</sup>	24.3	33.3	31.6	56.4
5 <sup>a</sup>	24.3	35.1	32.9	54.3
6 <sup>a</sup>	24.3	33.2	30.8	58.3

As aves e as rações foram pesadas no primeiro, 10<sup>o</sup>, 22<sup>o</sup>, 35<sup>o</sup> e 41<sup>o</sup> dia de idade, obtendo dessa forma o consumo de ração, o ganho de peso e a conversão alimentar nos períodos de 1 a 10, 1 a 22, 1 a 35 e de 1 a 41 dias de criação. A mortalidade em cada parcela foi registrada diariamente para controle da viabilidade de criação, correção do consumo de ração e conversão alimentar das aves, considerando a data da mortalidade para calcular a número de aves corrigido, seguindo recomendações propostas por Sakomura; Rostagno (2007).

Aos 22 de idade, 32 frangos foram abatidos (uma ave por parcela, totalizando 8 por tratamento) por deslocamento cervical para a coleta da tíbia visando a determinação dos teores de cinzas ósseas, cálcio e fósforo. Para esta finalidade, logo que as aves foram abatidas, os ossos foram retirados, identificados,

descarnados sem injúrias e, então, armazenados imediatamente em freezer para a posterior realização das análises.

Aos 42 dias de idade uma ave por parcela foi abatida as quais foram selecionadas no dia anterior (41 dias de idade) ao final da pesagem (desempenho) para determinação do rendimento de cortes (rendimento de carcaça, rendimento de peito, rendimento de coxa+sobrecoxa). Tanto as aves abatidas com 22 dias como aquelas abatidas com 42 apresentavam peso médio da unidade experimental com uma variação máxima de 2%.

A avaliação do rendimento de cortes foi realizada por meio da pesagem individual das aves antes do abate (peso vivo), após período de jejum de aproximadamente 4 horas, seguida de sangria, escaldagem, depenagem, evisceração e repouso da carcaça em gelo por 2 horas. O rendimento de carcaça foi obtido pela relação entre o peso da carcaça (sem vísceras, pés, cabeça e pescoço) e o peso vivo, ao passo que o rendimento de peito e de coxa + sobrecoxa foi obtido pela relação entre seu respectivo peso e o peso da carcaça. Após determinação dos pesos de cada corte, as tíbias (direita) foram individualmente coletadas, descarnadas sem injúrias aos ossos, identificadas e armazenadas imediatamente em freezer para análises de cinzas, cálcio e fósforo.

O fígado, das aves abatidas aos 42 dias de idade, foi pesado para determinação do peso relativo do órgão.

## **2.5 Análises laboratoriais**

Após o descongelamento, as tíbias coletadas aos 22 e 42 dias foram secas a 105°C, desengorduradas com éter de petróleo no extrator de gorduras, foram pesadas, trituradas em moinho de bola e amostras foram incineradas a 600°C por 12 horas sendo novamente pesadas após resfriamento em dessecador, para então determinação de cinzas ósseas na base seca desengordurada.

A solução mineral, necessária para a determinação de cálcio de fósforo, foi obtida após solubilização das cinzas ósseas em HCl 1:3. A determinação de cálcio se deu por espectrofotometria de absorção atômica, enquanto que a leitura do

fósforo na tíbia ocorreu através de espectrofotometria de luz UV/visível, conforme metodologia proposta pela AOAC, método 965-17 (AOAC, 1990).

As análises nos ossos foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, com exceção da leitura do cálcio que ocorreu no Laboratório de Análise Foliar do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras.

As análises de proteína bruta, cálcio, fósforo, extrato etéreo dos ingredientes utilizados na formulação das dietas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal do Paraná.

## 2.6 Modelo e análise estatística

O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{(ij)}$$

Sendo:

$Y_{ij}$  = Valor observado na variável analisada, quando submetido ao tratamento  $i$ , na repetição  $j$ , com  $j = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$  e  $8$ ;

$\mu$  = Média geral do experimento;

$T_i$  = Efeito do tratamento  $i$ , sendo  $i = 1, 2, 3$  e  $4$ ;

$e_{(ij)}$  = Erro experimental aleatório, associado a cada observação

Os resultados organizados e tabulados foram submetidos à avaliação da normalidade dos erros através do teste Shapiro e Wilk e, em seguida, submetidos a análise de variância utilizando-se o pacote estatístico SAS (Statistical Analysis System - SAS Institute, 2003) de acordo com o procedimento GLM (general linear model). Utilizou-se o teste de média SNK (Student Newman Keuls) para comparação dos diferentes tratamentos, adotando-se probabilidade máxima de 5%.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Desempenho

#### 3.1.1 Desempenho nas fases inicial e engorda

O consumo de ração das aves de 1 a 10 dias não foi influenciado ( $p > 0,05$ ) em função dos tratamentos avaliados.

Na fase de 1 a 10 dias (Tabela 5) as aves do grupo controle positivo apresentaram maior ( $p < 0,05$ ) ganho de peso em comparação aos demais grupos. O ganho de peso do controle negativo foi estatisticamente igual ao das aves alimentadas com complexo enzimático.

Tabela 5. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 10 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não associações enzimáticas.

Tratamento	CR (g/ave)	GP (g/ave)*	CA (g/g)*
Controle Positivo	292,9	242,1a	1,210a
Controle Negativo (CN)	293,4	231,6b	1,267b
CN + Premix enzimático	296,8	237,7ab	1,249b
CN + Complexo enzimático	289,2	232,7b	1,243b
Média	293,1	236,0	1,242
CV (%) <sup>1</sup>	2,59	2,97	2,24
Probabilidade	0,2793	0,0208	0,0032

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

A conversão alimentar, aos 10 dias, do grupo de aves do controle positivo foi estatisticamente melhor ( $p < 0,05$ ), já as aves do controle negativo (redução nutricional e energética) e aquelas que receberam enzimas nas dietas, independente da fonte, tiveram conversão alimentar estatisticamente igual.

O resultado de consumo de ração se assemelha ao encontrado por Carvalho et al. (2009), que não observaram diferença significativa no consumo com a utilização de associação de enzimas amilase, xilanase e  $\beta$ -glucanase, entretanto os autores também não verificaram diferenças para ganho de peso e conversão alimentar na fase de 1 a 7 dias de idade, o que discorda dos resultados obtidos.

Diferente do que foi observado no presente trabalho, Teixeira (2013) ao avaliar associações de enzimas observou que na fase pré-inicial aves alimentadas com rações, suplementadas com protease e xilanase ou protease, xilanase e  $\beta$ -glucanase recuperaram o ganho de peso e conversão alimentar em comparação ao controle positivo.

Os resultados de 1 a 22 dias indicaram melhores ( $p < 0,05$ ) respostas para as características de desempenho avaliadas no grupo controle positivo, assim como as aves que receberam dietas suplementadas com premix enzimático em relação aos demais tratamentos. Consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar

(Tabela 6) das aves alimentadas com dieta controle negativo foram inferiores ao controle positivo e iguais aos dos frangos suplementados com complexo enzimático.

Tabela 6. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 22 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não associações enzimáticas.

Tratamento	CR (g/ave)*	GP (g/ave)*	CA (g/g)*
Controle Positivo	1452,6a	1023,3a	1,419a
Controle Negativo (CN)	1372,1b	902,6b	1,521b
CN + Premix enzimático	1442,3a	1006,1a	1,434a
CN + Complexo enzimático	1370,6b	907,5b	1,511b
Média	1409,4	959,9	1,471
CV (%) <sup>1</sup>	1,32	2,41	2,26
Probabilidade	0,0001	0,0001	0,0001

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK (p<0,05).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

A adição do premix enzimático, na fase de 1 a 22 dias (Tabela 6), resultou em desempenho semelhante ao das aves que receberam dietas sem reduções dos níveis nutricionais. O efeito positivo sobre a recuperação do desempenho demonstra maior aproveitamento dos nutrientes da dieta, provavelmente em decorrência da ação das enzimas que compõem o premix (amilase + beta-glucanase, xilanase e fitase). A suplementação de enzimas na forma de complexo não foi eficiente em recuperar o desempenho das aves, mantendo igual ao controle negativo nesta fase.

Em experimentos utilizando associações de enzimas Meneghetti (2013) avaliou a suplementação de diferentes combinações. Em um dos experimentos utilizou carboidrases e fitase em dietas de frangos de corte e observou que a inclusão de amilase,  $\beta$ -glucanase e fitase na fase inicial (1 a 21 dias) recuperou o ganho de peso e a conversão alimentar das aves, apresentando resultado estatisticamente igual ao controle positivo, corroborando com presente trabalho quando a suplementação ocorreu através do premix enzimático.

Resultado observado no atual experimento, com a utilização do complexo enzimático, contradiz a resposta encontrada por Leite et al. (2011) que ao avaliar o mesmo complexo de enzimas usado neste trabalho (fitase, amilase, xilanase, glucanase, pectinase, celulase e protease), encontraram melhor conversão alimentar das aves aos 21 dias de idade. Brito et al. (2006), utilizando complexo com amilase,

protease e xilanase observaram aumento no ganho de peso e melhora na conversão alimentar na fase de 1 a 21 dias de idade.

Barbosa et al. (2012), ao estudar a eficácia de enzimas exógenas (fitase, amilase, xilanase e protease) em dietas de aves, encontraram melhoria no desempenho na fase inicial (1 a 21 dias), segundo os autores a adição da associação de enzimas em dietas de frangos de corte, à base de milho e farelo de soja, com reduções de cálcio, fósforo e energia, proporcionou consumo de ração e ganho de peso similares a dieta padrão. Resultados que se assemelham aos encontrados no presente trabalho quando as enzimas utilizadas foram amilase,  $\beta$ -glucanase, xilanase e fitase.

### 3.1.2 Desempenho na fase de abate e integral

Na fase de 1 a 35 dias (Tabela 7) o consumo de ração dos frangos do controle negativo foi menor ( $p < 0,05$ ) que os demais grupos de aves, entretanto não diferiu do consumo das aves que receberam complexo enzimático. Aves do controle positivo e aquelas suplementadas com premix tiveram maior consumo de ração.

Aos 35 dias de idade as aves submetidas à ração com redução nutricional e energética sem adição de enzimas (controle negativo) apresentaram menor ( $p < 0,05$ ) ganho de peso (12,49%) e pior conversão alimentar (8,57%) em relação às aves do controle positivo, que apresentaram melhores resultados. As aves alimentadas com as diferentes associações enzimáticas apresentaram ganho de peso e conversão alimentar semelhantes, maiores que o controle negativo, porém não foram efetivos em restaurar o valor nutricional da dieta padrão (controle positivo).

Tabela 7. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 35 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não associações enzimáticas.

Tratamento	CR (g/ave)*	GP (g/ave)*	CA (g/g)*
Controle Positivo	3501,2a	2191,1a	1,598a
Controle Negativo (CN)	3324,0b	1917,3c	1,735c
CN + Premix enzimático	3466,6a	2101,3b	1,651b
CN + Complexo enzimático	3399,3ab	2033,5b	1,674b
Média	3422,8	2060,8	1,664
CV (%) <sup>1</sup>	2,66	4,13	2,79
Probabilidade	0,0030	0,0001	0,0001

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

Estes resultados concordam em parte com os reportados por Meneghetti (2013) na fase de 1 a 35 dias, que ao suplementar dietas com diferentes associações de enzimas (amilase,  $\beta$ -glucanase e fitase e xilanase,  $\beta$ -glucanase e fitase) encontrou melhoria no ganho de peso, igualando ao controle positivo. O trabalho demonstra também melhoria na conversão alimentar com a suplementação das enzimas, porém sem equalizar ao controle positivo. O resultado para conversão aos 35 dias corrobora ao obtido no presente trabalho.

Os resultados diferem dos encontrados por Fischer et al. (2002) que ao avaliar o desempenho de frangos aos 35 dias de idade, utilizando complexo enzimático contendo protease, amilase e celulase, em dietas à base de milho e soja não observaram melhoria no desempenho. Leite et al. (2011) também não observaram efeito positivo da adição de enzimas sobre o desempenho de frangos de corte, no mesmo período de criação.

Como pode ser observado pelos resultados, as carboidrases (amilase,  $\beta$ -glucanase e xilanase) utilizadas nas associações de enzimas podem ter ação direta sobre a melhoria do desempenho das aves em relação ao controle negativo. Segundo Choct et al. (2004) a xilanase degrada os PNA's, como os arabinoxilanos em açúcares livres. Ao mesmo tempo, a presença da  $\beta$ -glucanase pode alterar a arquitetura das paredes celulares do milho, proporcionando maior contato do amido no interior do grão com a amilase (COWIESON; ADEOLA, 2005).

Os resultados do período total, de 1 a 41 dias (Tabela 8), indicam diferenças ( $p < 0,05$ ) no desempenho das aves para as características avaliadas (CR, GP e CA).

Tabela 8. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e viabilidade (V) de frangos de corte aos 41 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não associações enzimáticas.

Tratamento	CR (g/ave)*	GP (g/ave)*	CA (g/g)*	V(%)
Controle Positivo	4555,5a	2700,7a	1,687a	98,70
Controle Negativo (CN)	4339,7b	2439,0c	1,779d	96,15
CN + Premix enzimático	4495,1a	2616,0b	1,718b	96,12
CN + Complexo enzimático	4422,6ab	2534,4b	1,745c	96,55
Média	4453,2	2572,5	1,734	96,88
CV (%) <sup>1</sup>	2,53	3,19	1,44	2,97
Probabilidade	0,0044	0,0001	0,0001	0,2450

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

O consumo de ração aos 41 dias teve comportamento semelhante ao observado aos 35 dias de idade. As aves alimentadas com controle positivo (tabela 8) e aquelas que receberam ração onde houve suplementação de premix de enzimas apresentaram consumo de ração semelhante ( $p < 0,05$ ). O grupo de aves do controle negativo teve menor consumo, enquanto que aquelas suplementadas com complexo apresentaram consumo intermediário. O aumento do consumo de ração das aves suplementadas com premix enzimático, que provavelmente ocorreu pela melhora na eficiência digestiva, não foi refletido do ganho de peso.

O ganho de peso no período integral de criação foi destacadamente maior ( $p < 0,05$ ) para as aves alimentadas com dieta controle positivo e o grupo de aves alimentadas com dieta controle negativo apresentou pior resultado. Independente do produto enzimático utilizado, premix ou complexo, o ganho de peso dos frangos destes grupos não foi suficiente para restabelecer ao ganho de peso obtido com a dieta padrão, controle positivo.

Para conversão alimentar houve diferença ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, o grupo de aves que recebeu dieta controle positivo apresentou melhor conversão, enquanto que, as aves do controle negativo tiveram a pior conversão. Com relação aos frangos que recebem enzimas nas dietas, observa-se que aqueles suplementados com complexo enzimático apresentaram pior conversão alimentar (uma diferença de 1,55%) em relação ao grupo de aves que receberam premix enzimático.

Não houve diferença significativa para viabilidade de criação (tabela 8), a mortalidade média foi inferior à 3,2%.

A redução nutricional e energética estabelecida no tratamento controle negativo foi efetiva e suficiente para diferenciá-lo estatisticamente do desempenho das aves do controle positivo, sendo uma importante proposição inicial do estudo. O desenvolvimento dos animais depende do atendimento das exigências nutricionais, a medida que aumenta a deficiência de nutrientes da dieta a ave demonstra através da diminuição do desempenho.

Diferente do que foi observado no atual experimento, Fortes et al. (2012) testando a inclusão de complexo de carboidrases e fitase em dietas controle positivo

e controle negativo (reduções de 4% na EMA, 3% de proteína bruta e 10% nas recomendações dos aminoácidos), não encontraram diferenças entre os tratamentos controles sem enzimas. Entretanto a suplementação enzimática proporcionou maior consumo de ração, peso médio e ganho de peso das aves aos 42 dias de idade.

Os resultados do presente experimento confirmam resposta encontradas por Toledo et al. (2007), que ao avaliar o efeito de enzimas exógenas adicionadas à dietas de aves com ingredientes convencionais, com densidade nutricional padrão e baixa, observaram que a dieta com baixa densidade nutricional suplementada com enzimas apresentou melhora no desempenho, porém inferior ao das aves alimentadas com dieta padrão. Lu et al. (2013), utilizando uma mistura de carboidrase (xilanase e  $\beta$ -glucanase) com fitase em frangos alimentados com milho e farelo de soja em dietas deficientes em energia, proteína, cálcio e fósforo observaram melhoria significativa no desempenho das aves suplementadas com enzimas.

As altas temperaturas observadas nas 4, 5 e 6<sup>a</sup> semanas de criação quando as temperaturas máximas (tabela 4) foram maiores que 33°C podem ter influenciado o desempenho das aves. A temperatura ambiente afeta diretamente o consumo de ração, podendo afetar o ganho de peso das aves. Segundo Bertechini (2012), as aves têm dificuldade de trocar calor com o ambiente, sendo que grande parte da troca é feita pela respiração. O aumento da taxa respiratória em ambientes quentes leva a uma redução do consumo de ração.

Lana et al. (2000), observaram diminuição no consumo de ração e ganho de peso de frangos de corte criados em elevadas temperatura. De acordo com Tinôco (2001) aves expostas a altas temperaturas reduzem o consumo de ração, o ganho de peso, além de levar a piores valores de conversão alimentar.

Como pode ser observado (tabela 8), mesmo o maior consumo de ração aos 41 dias de idade, observado no controle positivo de 4555 g/ave, foi inferior ao consumo estimado no manual da linhagem (Cobb, 2012) que é de 4766 g/ave. Provavelmente as altas temperaturas na fase de engorda tiveram ação direta no baixo consumo e possivelmente no menor ganho de peso das aves. Entretanto, aves do controle

positivo mesmo apresentando consumo de ração e ganho de peso inferiores ao manual da linhagem, tiveram resultados melhores que as aves das demais dietas.

Entre outros motivos, a não eficácia da suplementação enzimática em proporcionar desempenho semelhante ao grupo controle positivo pode ter ocorrido em função da maior inclusão de lipídeos (óleo) na dieta controle positivo, que sabidamente tem menor impacto sobre o incremento calórico, quando comparado aos carboidratos e proteínas. O incremento calórico representa toda perda de energia durante os processos de digestão, absorção e metabolismo de nutrientes (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2007).

Assim, aves do controle positivo além de serem submetidas à rações com maior energia líquida, considerando que energia líquida é a diferença entre energia metabolizável e o incremento calórico, podem ter sido menos afetadas pelo estresse calórico e respondido melhor nestas condições.

### 3.1.3 Características de carcaça

Como pode ser observado na tabela 9 a seguir, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para as características de carcaça (rendimento de carcaça, rendimento de peito, rendimento coxa + sobrecoxa) e peso relativo de fígado de frangos de corte aos 42 dias de idade em função dos tratamentos avaliados.

Tabela 9. Rendimento de carcaça (RC), rendimento de peito (RP), rendimento coxa + sobrecoxa (RCS) e peso relativo de fígado (PRF) de frangos de corte aos 42 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não associações enzimáticas.

Tratamento	RC(%)	RP(%)	RCS(%)	PRF(%)
Controle Positivo	75,83	36,53	29,90	1,79
Controle Negativo (CN)	73,82	35,84	29,88	2,03
CN + Premix enzimático	75,17	37,30	30,32	1,86
CN + Complexo enzimático	75,73	36,41	29,73	1,68
Média	75,14	36,52	29,96	1,84
CV (%) <sup>1</sup>	2,34	8,67	5,81	14,15
Probabilidade	0,1088	0,8333	0,9155	0,0801

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

O rendimento de carcaça, peito, coxa e sobrecoxa aos 42 dias de idade não foram influenciados ( $p < 0,05$ ) pelo diferencial nutricional (0,1 e 0,12 pontos percentuais de fósforo disponível e cálcio) e energético (75 kcal de EMA) das rações, independente do uso das associações enzimáticas. Os resultados obtidos no presente trabalho estão de acordo com os encontrados por Fortes et al. (2012) e

Meneghetti (2013) que utilizando suplementação de mistura de enzimas em dietas à base de milho e farelo de soja não verificaram influência dos tratamentos sobre o rendimento de carcaça e cortes. Meneghetti (2013) avaliou peso de fígado e não encontrou diferença significativa, corroborando com o resultado obtido no presente trabalho.

Os resultados desta pesquisa estão de acordo com os dados descritos por Santos et al. (2008), que ao avaliar a inclusão de xilanase, amilase e protease em dietas de frangos de corte não encontraram diferença significativa no peso relativo de fígado.

### 3.2 Características ósseas

#### 3.2.1 Mineralização óssea aos 22 dias de idade

Os resultados de cinzas, fósforo e cálcio na tíbia aos 22 dias estão apresentados nas tabelas 10 e 11 respectivamente.

Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) no teor de cinzas na tíbia, aos 22 dias de idades das aves. Já para peso (mg) de cinzas pode-se observar diferenças, sendo que, aves do controle positivo apresentaram maior peso das cinzas, enquanto, o controle negativo teve o menor valor de cinzas. Independente da fonte de suplementação (premix ou complexo), o peso de cinzas foi maior que o controle negativo.

O peso de cinzas apresentou comportamento semelhante ao observado em ganho de peso aos 41 dias de idade. Aves que tiveram maior ganho de peso apresentaram maior peso de cinzas.

Tabela 10. Teor de cinzas (g/100g) e cinzas (mg) na tíbia das aves aos 22 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não associações enzimáticas.

Tratamento	Teor de cinzas	Cinzas*
Controle Positivo	53,56	1095,4a
Controle Negativo (CN)	52,60	830,5c
CN + Premix enzimático	53,09	1010,9b
CN + Complexo enzimático	53,12	967,8b
Média	53,09	976,1
CV (%) <sup>1</sup>	3,15	8,19
Probabilidade	0,7315	0,0001

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

Assim como teores de cinzas, os teores (g/100g) de fósforo e cálcio na tíbia, aos 22 dias de idade, não foram influenciados ( $p>0,05$ ) em função das reduções de nutrientes e energia, ou menos em função dos diferentes produtos enzimáticos avaliados.

Tabela 11. Teor de fósforo - TP (g/100g), fósforo - PP (mg), teor de cálcio - TCa (g/100g) e cálcio - Pca (mg) na tíbia das aves aos 22 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não associações enzimáticas.

Tratamento	TP	PP*	TCa	PCa*
Controle Positivo	9,75	199,8a	16,11	329,3a
Controle Negativo (CN)	9,47	149,5c	15,85	249,8c
CN + Premix enzimático	9,70	184,7ab	15,62	297,3b
CN + Complexo enzimático	9,67	176,1b	16,30	297,0b
Média	9,65	177,5	15,97	293,4
CV (%) <sup>1</sup>	4,69	8,96	3,61	7,72
Probabilidade	0,6194	0,0001	0,1202	0,0001

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p<0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

O comportamento do fósforo (mg) e cálcio na tíbia (mg) foi semelhante ao observado no peso de cinzas aos 22 dias de idade, o controle negativo apresentou menor fósforo e cálcio. Os maiores pesos foram observados no controle positivo. A suplementação de premix enzimático proporcionou fósforo na tíbia (mg) igual ao controle positivo, porém não diferiu do complexo enzimático. Já para cálcio (mg) aves suplementadas com enzimas tiveram mesmo peso.

Francesch; Geraert (2009) verificaram efeito da utilização de enzimas (xilanase, glucanase e fitase) sobre a mineralização óssea. Os autores estudaram a suplementação da combinação de enzimas em diferentes controles negativos. A redução de nutrientes na dieta resultou em diminuição de mineralização óssea (cinzas, cálcio e fósforo) em comparação ao controle positivo. Aos 21 dias a suplementação enzimática aumentou a mineralização óssea das aves, resultando em mineralização semelhante a do controle positivo (dieta padrão). Resultado diferente do obtido no presente trabalho, onde houve influencia das dietas apenas no peso e não nos teores (%) de cinzas, cálcio e fósforo.

Resultados encontrado aos 22 dias para teor de cinzas contradizem respostas obtidas por Shaw et al. (2011), que avaliaram a inclusão de fitase bacteriana produzida a partir do *Citrobacter braakii* (microrganismo de origem), mesma fitase utilizada no premix enzimático, utilizaram três níveis de fósforo na ração e três níveis

de fitase. A maior inclusão de fitase resultou em percentagem de cinzas na tíbia aos 21 dias de idade semelhante ao encontrado em aves alimentadas com o maior nível de fósforo na ração.

### 3.2.2 Mineralização óssea aos 42 dias de idade

Os resultados de cinzas, cálcio e fósforo nas tíbias, aos 42 dias de idade, estão apresentados nas Tabelas 12 e 13 respectivamente.

Não houve efeito ( $p>0,05$ ) das reduções de nutrientes e energia, ou menos da suplementação dos diferentes produtos enzimáticos sobre os teores de cinzas, cálcio e fósforo aos 42 dias de idade. Peso (mg) de cálcio na tíbia também não foi afetado pelos tratamentos.

Tabela 12. Teor de cinzas (g/100g) e cinzas (mg) na tíbia das aves aos 42 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não associações enzimáticas.

Tratamento	Teor de cinzas	Cinzas*
Controle Positivo	61,05	2834,1a
Controle Negativo (CN)	59,69	2464,5b
CN + Premix enzimático	61,22	2672,5ab
CN + Complexo enzimático	61,20	2622,4ab
Média	60,79	2648,4
CV (%) <sup>1</sup>	2,31	8,44
Probabilidade	0,1117	0,0230

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p<0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

Peso de cinzas (Tabela 12) e fósforo (Tabela 13) aos 42 dias de idade tiveram comportamento semelhante. O grupo controle positivo e aves suplementadas com produtos enzimáticos apresentaram peso de cinzas e fósforo iguais, porém os tratamentos com enzimas não diferiram do controle negativo.

Tabela 13. Teor de fósforo - TP (g/100g), fósforo - PP (mg), teor de cálcio - TCa (g/100g) e cálcio - Pca (mg) na tíbia das aves aos 42 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não associações enzimáticas.

Tratamento	TP	PP*	TCa	PCa
Controle Positivo	11,34	526,7a	18,35	852,1
Controle Negativo (CN)	10,96	452,3b	18,06	744,5
CN + Premix enzimático	11,20	489,5ab	18,66	817,3
CN + Complexo enzimático	10,94	469,4ab	18,24	783,9
Média	11,11	484,5	18,33	799,4
CV (%) <sup>1</sup>	4,66	10,02	5,14	11,10
Probabilidade	0,3509	0,0290	0,6345	0,1165

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p<0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

Onyango; Bedford; Adeola (2005) verificaram que a suplementação de fitase na dieta de baixo fósforo restabeleceu a taxa de crescimento à dieta controle com fósforo adequando, mas as cinzas da tíbia permaneceu baixa.

Os resultados de cinzas e fósforo corroboram com os obtidos por Oliveira et al. (2008), os autores não encontraram efeito da inclusão de fitase sobre os teores de cinzas e fósforo das tíbias de frangos de corte recebendo dietas com níveis diferentes de fósforo e fitase.

O resultado obtido para teor cinzas diferem dos encontrados por Walk et al. (2011) que avaliando várias combinações entre enzimas fitase, xilanase e protease, com reduções de cálcio e fósforo disponível na dieta, encontraram efeito significativo das suplementações enzimáticas sobre o teor de cinzas.

Possivelmente as reduções nos teores dietéticos de cálcio e fósforo, além da redução de energia, limitaram não apenas o crescimento muscular das aves, mas também o crescimento esquelético, aves apresentaram ossos menores, mas com teores de cinzas, cálcio e fósforo semelhantes.

#### **4 CONCLUSÕES**

De acordo com as respostas obtidas, nas condições experimentais aqui descritas, conclui-se que o desempenho e as características ósseas foram parcialmente recuperados com a suplementação de enzimas associadas, em rações com níveis de cálcio, fósforo e energia reduzidos.

As associações enzimáticas não afetam o rendimento de carcaça e cortes.

A associação de enzimas na forma de premix enzimático proporciona melhores resultados de desempenho das aves alimentadas com níveis marginais dos minerais supracitados e energia.

Entretanto, nota-se a necessidade de novos estudos, levando em consideração entre outros fatores, a influência do clima na definição das reduções de nutrientes e energia das dietas estabelecidas para o uso das enzimas.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACAMOVIC, T. Commercial applications of enzymes technology for poultry production. **World's Poultry Science Journal**, v.57, p.225-243, 2001.
- AOAC -ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. ed. Arlington, v.1,1990.
- BARBOSA, N. A. A.; SAKOMURA, N. K.; BONATO, M. A.; OVIEDO-RONDON, L. H. E. Enzimas exógenas em dietas de frangos de corte: desempenho. **Ciência Rural**, v.42, n.8, p.1497-1502, 2012.
- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: 2 ed. UFLA, 2012. 373p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Irrigação. Departamento Nacional de Meteorologia. Normais climatológicas: 1961-1990. Brasília, 1992. 84p.
- BRITO C. O.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; DIONIZIO, M. A.; CARVALHO, D. C. O. Adição de complexo multienzimático em dietas à base de soja extrusada e desempenho de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.457-461, 2006.
- CARVALHO, J. C. C.; BERTECHINI, A. G.; FASSANI, E. J.; RODRIGUES, P. B.; PEREIRE, R. A. N. Desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja suplementadas com complexos enzimáticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.2, p.292-298, 2009.
- CHOCT, M. Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World's Poultry Science Journal**, v.62, p.5-15, 2006.
- CHOCT, M.; KOCHER, A.; WATERS, D. L.; PETTERSSON, D.; ROSS, G. A. comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v.92, p.53-61, 2004.
- COBB-VANTRESS – Suplemento: Desempenho e Nutrição para frangos de corte Cobb 500. 14p. 2012. Cobb-vantress.
- COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Carbohydrase, protease, and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broilers chicks. **Poultry Science**, v.84, p.1860-1867, 2005.
- FISCHER, G.; MAIER, J. C.; RUTZ, F.; BERMUDEZ, V. L. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, com ou sem adição de enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.402-410, 2002.

FORTES, B. D.; CAFÉ, M. B.; STRINGUINI, J. H.; BRITO, J. A. G.; REZENDE, P. L. P.; SILVA, R. D. Avaliação de programas nutricionais com a utilização de carbohidrases e fitase em rações de frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, v.13, p.24-32, 2012

FRANCESCH, M.; GERAERT, P. A. Enzyme complex containing carbohydrases and phytase improve growth performance and bone mineralization of broilers fed reduced nutrient corn-soybean-based diets. **Poultry Science**, v.88, p.1915-1924, 2009.

HRUBY, M.; PIERSON, E. E. M. The use of enzymes in broiler nutrition. In: Fórum Internacional de Avicultura, 1., 2005, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Editora Animalworld. p.142-147, 2005. .

LANA, G. R. Q.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; LANA, A. M. Q. Efeito da temperatura ambiente e da restrição alimentar sobre o desempenho e a composição da carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1117-1123, 2000.

LEITE, P. R. S; COSTA; LEANDRO, N. S. M.; STRINGHINI, J. H; CAFÉ, M. B; GOMES, N. A. JARDIM FILHO, R. M. Desempenho de frangos de corte e digestibilidade de rações com sorgo ou milho e complexo enzimático. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.3, p.280-286, 2011.

LIMA, F. R. Aditivos zootécnicos: enzimas. In: PALERMO NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. I. **Farmacologia aplicada à avicultura**. São Paulo: ROCA, p.239-248, 2005.

LU, H.; ADEDOKUN, S. A.; PREYNAT, A.; LEGRAND-DEFRETIN, V.; GERAERT, P. A.; ADEOLA, O.; AJUWON, K. M. Impact of exogenous carbohydrases and phytase on growth performance and nutrient digestibility in broilers. **Canadian Journal of Animal Science**, v.93, n.2, p.243-249, 2013.

MENEGHETTI, C. **Associação de enzimas em rações para frangos de Corte**. 2013. 93p Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras.

OLIVEIRA, M. C.; MARQUES, R. H.; GRAVENA, R. A.; BRUNO, L. D. G.; RODRIGUES, E. A.; MORAES, V. M. B. Qualidade óssea de frangos alimentados com dietas com fitase e níveis reduzidos de fósforo disponível. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.30, n.3, p.263-268, 2008.

ONYANGO, E. M.; BEDFORD, M. R.; ADEOLA, O. Phytase activity along the digestive tract of the broiler chick: A comparative study of an *Escherichia coli* derived and *Peniophora lycii* phytase. **Canadian Journal of Animal Science**, v.85, p.61-68, 2005.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRS, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas**

**Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais.** Viçosa: 3 ed. UFV, 2011, 252p.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos.** Jaboticabal: Funep, 2007. 283p.

SANTOS, F. R.; HRUBY, M.; PIERSON, E. E. M.; REMUS, J. C.; SAKOMURA, N. K. Effect of phytase supplementation in diets on nutrient digestibility and performance in broiler chicks. **Journal of Applied Poultry Research**, v.17, n.2, p.191-201, 2008.

**SAS Statistical Analysis System**, SAS Institute Inc., SAS User's Guide, Cary, USA: SAS Inst., 2003.

SHAW, A. L.; HESS, J. B.; BLAKE, J. P.; WARD, N.E. Assessment of an experimental phytase enzyme product on live performance, bone mineralization, and phosphorus excretion in broiler chickens. **Journal Applied Poultry Research**, v.20, p.561-566, 2011.

TEIXEIRA, L. V. **Misturas enzimáticas em rações para frangos de Corte.** 2013. 72p Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras.

TINÔCO, I. F. F. Avicultura industrial: novos conceitos de materiais, concepções e técnicas construtivas disponíveis para galpões avícolas brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.3, n.1, p.1-26, 2001.

TOLEDO, G. S. P; COSTA, P. T. C; SILVA, J. H.; CECCANTINI, M. L; POLETTO, C. Broilers fed diets varying in energy and protein supplemented with a pool of enzymes. **Ciência Rural**, v.37, p.518-523, 2007.

WALK, C. L.; COWIESON, A. J.; REMUS, J. C.; NOVAK C. L.; MCELROY A. P. Effects of dietary enzymes on performance and intestinal goblet cell number of broilers exposed to a live coccidia oocyst vaccine. **Poultry Science**, v.90, p.91-98, 2011.

YU, B.; CHUNG, T. K. Effects of multiple-enzyme mixtures on growth performance of broilers fed corn-soybean meal diets. **Journal Applied Poultry Research**, v.13, p.178-182, 2004.

## **CAPÍTULO II**

### **ASSOCIAÇÃO DE FITASE, PROTEASE E CARBOIDRASES PARA FRANGOS DE CORTE**

## ASSOCIAÇÃO DE FITASE, PROTEASE E CARBOIDRASES PARA FRANGOS DE CORTE

### RESUMO

O experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar a associação de enzimas sobre o desempenho, característica de carcaça e mineralização óssea de frangos de corte. Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado com 3 tratamentos e 8 repetições de 29 aves cada, totalizando 696 pintos machos Cobb-500<sup>®</sup>. As rações foram à base de milho e farelo de soja. Os tratamentos foram: 1 - Controle Positivo, padrão nutricional do manual da linhagem; 2 - Controle Negativo - CN, (reduções de: fase inicial - 50 Kcal/kg EMAn; 0,836; 0,0382; 0,054; 0,060 pontos percentuais para proteína bruta (PB), lisina, metionina+cistina e treonina digestíveis, respectivamente; fase engorda e abate - 80 Kcal/kg EMAn; 0,8445; 0,0155; 0,033; 0,0645; 0,038 pontos percentuais para PB, lisina, metionina+cistina, treonina e valina digestíveis, respectivamente. As reduções de fósforo disponível e cálcio foram de 0,15 e 0,176 pontos percentuais respectivamente para todas as fases) e 3 - CN + premix enzimático (amilase+ $\beta$ -glucanase, xilanase, fitase e protease - 500 g/t de ração). O premix de enzimas melhorou ( $p < 0,05$ ) o desempenho das aves em comparação a dieta com níveis reduzidos de nutrientes e energia, porém não se igualou ao controle positivo. A suplementação de enzimas proporcionou melhor ( $p < 0,05$ ) rendimento de peito às aves. As reduções de nutrientes e energia diminuíram ( $p < 0,05$ ) o peso de cinzas, cálcio e fósforo da tíbia; o premix de enzimas proporcionou recuperação parcial dos mesmos.

**Palavras-chave:** aves de corte, desempenho, enzimas, nutrição

## ASSOCIATION PHYTASE, PROTEASE AND CARBOHYDRASES FOR BROILER

### ABSTRACT

The experiment was conducted to evaluate the association of enzymes on performance and bone mineralization of broilers. It was adopted a completely randomized design with 3 treatments and 8 replicates of 29 birds each, totaling 696 male of strain Cobb-500<sup>®</sup> chicks. The diets were based on corn and soybean meal. The treatments were: 1 - Positive Control (PC), nutritional standard of the strain Guide; 2 - Negative Control - NC (reductions: initial phase - 50 Kcal/kg AMEn, 0.836, 0.0382, 0.054, and 0.060 percentage points for crude protein (CP), lysine, methionine + cystine and threonine, respectively, growing and slaughter phases - 80 Kcal/kg AMEn, 0.8445, 0.0155, 0.033, 0.0645, 0.038 percentage points for CP, lysine, methionine + cystine, threonine and valine digestible, respectively. The reductions available phosphorus and calcium were 0.176 and 0.15 percentage points for all phases and 3 - NC + enzyme premix (amylase +  $\beta$ -glucanase, xylanase, phytase and protease - 500 g/t of feed). The premix enzyme improved ( $p < 0.05$ ) broiler performance compared to diet with reduced levels of nutrients and energy, but not equaled the PC group. The supplemental enzymes provided better ( $p < 0.05$ ) breast yield to birds. The reductions of nutrients and energy decreased ( $p < 0.05$ ) the weight of ash, calcium and phosphorus in the tibia, the premix of enzymes provided partial recovery of the same.

**Key words:** broilers, enzymes, nutrition, performance

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de enzimas na alimentação de aves é uma realidade não apenas por razões econômicas, mas principalmente, devido à eficiência técnica e uniformidade da resposta. Trabalhos demonstram que dependendo do tipo de enzima utilizada, pode-se observar uma maior utilização de energia e aminoácidos pelas aves, além de reduzir ou eliminar os efeitos de fatores anti-nutricionais que interferem na utilização dos nutrientes da dieta.

Pesquisas confirmam os efeitos positivos da suplementação enzimática nas rações das aves. Estudos com frangos de corte alimentados com milho e farelo de soja têm comprovado que a utilização de associações de enzimas exógenas pode melhorar o aproveitamento dos nutrientes da dieta, obtendo desempenho animal mais uniforme.

Segundo Olukosi; Cowieson; Adeola, (2007), para que a suplementação de enzimas exógenas na alimentação de animais apresente efeito positivo dependerá do substrato e das características dos ingredientes utilizados nas dietas. Muitas avaliações com enzimas têm se concentrado em definir efeitos aditivos das associações de diferentes grupos de enzimas. Segundo Campestrini; Silva; Appelt (2005), a utilização de complexos ou misturas de enzimas com característica aditivas é mais efetiva no aproveitamento do conteúdo energético e protéico da dieta.

Segundo Sheppy (2001) a suplementação de amilase exógena em dietas animais complementa a amilase endógena e auxilia na exposição do amido mais rapidamente, conduzindo ao aumento na utilização do nutriente, com consequente melhoria nas taxas de crescimento. Complexos enzimáticos contendo diferentes carboidrases, ao promover a hidrólise dos polissacarídeos não amiláceos, aumentam a disponibilidade de nutrientes para absorção pelas aves (MENG; SLOMINSKI; GUENTER, 2004), melhorando a utilização da energia da dieta.

De acordo com Liu et al. (2007), a suplementação de fitase em rações para aves disponibiliza, além dos minerais fósforo e cálcio, energia metabolizável, aminoácidos, e outros metais bivalentes como ferro, magnésio e zinco que se encontram ligados ao fitato, forma complexada de fósforo encontrada nos vegetais.

O uso de proteases exógenas pode aumentar a taxa de utilização da proteína da dieta por frangos de corte. Segundo Lemme; Ravindran; Bryden (2004),

avaliações de digestibilidade indicam que uma considerável quantidade de aminoácidos e proteína passa pelo trato digestório das aves sem ser aproveitada e completamente digerida. Para Angel et al. (2011) a proteína não digerida representa uma oportunidade para a suplementação de proteases exógenas na alimentação de frangos de corte.

A utilização, em dietas de aves, de enzimas associadas como carboidrases (degradam amido e polissacarídeos não amiláceos), proteases e fitases possibilita alterações nas formulações das rações por meio de reduções de energia, proteína, aminoácidos, fósforo e cálcio. As enzimas promovem o restabelecimento dos níveis nutricionais e energético através da eliminação ou diminuição dos fatores anti-nutricionais e melhoria da digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta, resultando em maior desempenho das aves.

Portanto, objetivou-se com esse trabalho avaliar o uso das enzimas amilase,  $\beta$ -glucanase, xilanase, fitase e protease associadas na forma de premix, em rações com reduções nutricionais e energéticas, sobre o desempenho, características de carcaça e mineralização óssea de frangos de corte.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Época e local de realização**

O experimento foi realizado, no período de fevereiro a março de 2013, no Setor de Avicultura do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da UFRB, em Cruz das Almas. O município de Cruz das Almas localiza-se na região do Recôncavo Baiano, a uma altitude de 226 metros, tendo como coordenadas geográficas 12°24' de latitude sul e 39°40' de longitude oeste de Greenwich (Brasil, 1992).

### **2.2 Aves, instalações e equipamentos**

Foram utilizados 696 pintos com um dia de idade, machos da linhagem Cobb-500<sup>®</sup>, provenientes de incubatório comercial, vacinados contra as doenças de Marek, Newcastle, bronquite e gumboro. As aves foram alojadas em galpão convencional de alvenaria, coberto com telhas de barro, com cortinas laterais usadas para controle parcial da temperatura e ventilação. Em cada parcela experimental, de 1,65 x 1,55

m, foi distribuído um bebedouro pendular e um comedouro tubular. O piso foi coberto com cama de maravalha.

O aquecimento das aves na fase inicial (1 a 10 dias de idade) de criação realizou-se por campânulas a gás, instaladas ao longo dos corredores no interior do galpão.

### 2.3 Delineamento experimental e tratamentos

Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado, com 3 tratamentos e 8 repetições, totalizando 24 parcelas experimentais. Cada parcela foi composta por 29 aves (densidade de 11,3 aves/m<sup>2</sup>).

As dietas basais foram constituídas pelas rações: controle positivo, sem suplementação enzimática, formulada de acordo com recomendações nutricionais do manual da linhagem Cobb, e controle negativo, com reduções nutricionais e energéticas baseada na matriz do premix enzimático. A partir da dieta controle negativo foi suplementado o premix enzimático, constituindo os tratamentos.

T1- Controle Positivo (CP), sem suplementação de enzimas

T2- Controle Negativo (CN), sem suplementação de enzimas

T3- CN + Premix enzimático (500g/ton)

O premix enzimático testado foi composto por amilase (80 kNU/g) +  $\beta$ -glucanase (140 FGB/g), xilanase (160 FXU/g), fitase (2000 U/g) e protease (30.000 U/g); as enzimas que compõem este premix são obtidas através dos seguintes microrganismos de origem, respectivamente: *Bacillus amyloliquefaciens*, *Thermomyces lanuginosus*, *Citrobacter braakii* e *Bacillus licheniformis*.

As reduções nutricionais e energéticas estabelecidas no tratamento controle negativo estão apresentadas na tabela a seguir. As reduções convencionadas no presente experimento foram estabelecidas em função das recomendações comerciais do premix de enzimas avaliado.

Tabela 1. Reduções nutricionais e energéticas (percentagem de redução - PR e redução na dieta - RD) estabelecidas no tratamento controle negativo, em relação ao controle positivo, ao longo do período experimental.

Nutrientes e Energia	Fase de Criação					
	Inicial		Engorda		Abate	
	PR	RD	PR	RD	PR	RD
Fósforo disponível (%)	33,3	0,150	35,71	0,150	39,47	0,150
Cálcio (%)	19,6	0,176	20,95	0,176	23,16	0,176
EMAn	1,67	50 <sup>1</sup>	2,58	80 <sup>1</sup>	2,5	80 <sup>1</sup>
Proteína Bruta (%)	3,9	0,836	4,33	0,845	4,63	0,845
Lisina digestível (%)	3,2	0,038	1,48	0,0155	1,63	0,0155
Metionina+Cistina digestível (%)	6,1	0,054	4,1	0,033	4,4	0,033
Treonina digestível (%)	7,8	0,060	9,3	0,064	9,8	0,064

<sup>1</sup> Kcal/kg de EMAn.

## 2.4 Rações e manejo experimental

Foram realizadas análises do milho, farelo de soja, fosfato bicálcico e calcário calcítico (resultados apresentados na Tabela 2). Os resultados obtidos nas análises foram utilizados na formulação das rações. A composição, em nutrientes, dos demais ingredientes, correções para aminoácidos do milho e do farelo de soja, assim como o valor de energia metabolizável (EM) usados nas formulações seguiram os padrões estabelecidos nas Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (Rostagno et al., 2011).

Tabela 2. Conteúdo de proteína bruta (PB), cálcio (Ca), fósforo total (Pt) extrato etéreo (EE), dos ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais.\*

Análise	Milho		Farelo de soja		Fosfato bicálcico	Calcário calcítico
	Fase de Criação					
	Inicial/Engorda	Abate	Inicial/Engorda	Abate	Integral	Integral
PB (%)	8,88	8,60	41,93	45,54	-	-
Ca (%)	0,08	0,05	0,40	0,35	24,42	38,40
Pt (%)	0,28	0,23	0,62	0,63	20,35	-
EE (%)	4,56	3,71	2,84	-	-	-

\* Valores expressos em base natural (matéria natural)

As rações foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais do manual da linhagem Cobb 500<sup>®</sup> (Cobb, 2012), seguindo um programa alimentar com rações: inicial (1-10 dias de idade), engorda (11-22 dias de idade) e abate (23-41 dias de idade) (Tabela 3).

Água e ração foram fornecidas, à vontade em todo o período experimental. Os comedouros foram movimentados sistematicamente durante o dia para que tivesse

sempre ração disponível no “prato”. Os tratamentos foram sorteados para cada parcela experimental.

Tabela 3. Composição centesimal e níveis nutricionais calculados das rações para frangos de corte.

Ingredientes (%)	Ração/Fase					
	Inicial		Engorda		Abate	
	CP <sup>9</sup>	CN <sup>10</sup>	CP	CN	CP	CN
Milho	54,214	60,036	59,829	66,577	65,440	71,119
F. Soja	38,932	35,753	33,050	29,527	27,089	24,122
Óleo soja	3,040	1,066	3,551	0,941	4,090	1,750
Fosf, Bicálcico	1,547	0,823	1,435	0,711	1,330	0,610
Calcário	0,731	0,768	0,709	0,740	0,717	0,743
Sal	0,464	0,463	0,380	0,379	0,320	0,320
Bic. Sódio 27%	0,100	0,100	0,150	0,150	0,200	0,200
Premix Vitamínico <sup>1</sup>	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix Mineral <sup>2</sup>	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
MHA 84% <sup>3</sup>	0,355	0,308	0,311	0,289	0,270	0,250
L-Lisina HCl 78%	0,177	0,209	0,175	0,244	0,145	0,209
L-Treonina 98%	0,044	0,013	0,033	0,000	0,035	0,001
Salinomicina 12% <sup>4</sup>	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Cloreto Colina 60%	0,096	0,096	0,077	0,077	0,067	0,067
Antioxidante <sup>5</sup>	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Enramicina 8% <sup>6</sup>	0,010	0,010	0,010	0,010	0,007	0,007
<i>Bacillus subtilis</i> <sup>7</sup>	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030
Inerte <sup>8</sup>	-	0,065	-	0,065	-	0,312
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
Níveis nutricionais calculados						
Proteína Bruta (%)	21,50	20,664	19,50	18,655	18,25	17,405
EMAn (Kcal/kg)	3000	2950	3100	3020	3200	3120
Cálcio (%)	0,900	0,724	0,840	0,664	0,760	0,584
Fósforo disp. (%)	0,450	0,300	0,420	0,270	0,380	0,230
Sódio (%)	0,230	0,230	0,210	0,210	0,200	0,200
Lisina dig (%)	1,180	1,142	1,050	1,0345	0,950	0,9345
Met+Cis dig (%)	0,880	0,826	0,800	0,767	0,740	0,707
Treonina dig (%)	0,770	0,710	0,690	0,626	0,650	0,586
Triptofano dig (%)	0,242	0,228	0,213	0,198	0,196	0,180
Valina dig (%)	0,901	0,864	0,815	0,775	0,762	0,723

<sup>1</sup> Enriquecimento de vitaminas por kg de ração: vitamina A - 8.000 UI; vitamina D3 - 2.000 UI; vitamina E - 10 UI; vitamina K3 - 1,5 mg; vitamina B1 - 1,0 mg; vitamina B2 - 4,0 mg; vitamina B6 - 1,5 mg; vitamina B12 - 10 µg; ácido pantotênico - 8,0 mg; niacina - 25 mg; ácido fólico - 0,5 mg; biotina - 0,040 mg.

<sup>2</sup> Enriquecimento de microminerais por kg de ração: cobre - 9,0 mg; ferro - 50 mg; iodo - 1,0 mg; manganês - 70 mg; selênio - 0,3 mg e zinco - 60mg.

<sup>3</sup> Metionina hidróxi análoga.

<sup>4</sup> Salinomicina foi retirada da ração na última semana de criação (36 a 41 dias);

<sup>5</sup> Santoquim.

<sup>6</sup> A dosagem de enramicina reduziu para 4 mg/kg de ração entre 36 e 42 dias.

<sup>7</sup> *Bacillus subtilis* 3 x 10<sup>5</sup> UFC/g ração.

<sup>8</sup> A inclusão do inerte aumentou em 0,052 pontos percentuais em função da exclusão de salinomicina e ajuste da dosagem de enramicina na última semana de criação.

<sup>9</sup> Controle Positivo; <sup>10</sup> Controle Negativo.

A associação de enzimas foi adicionada em substituição parcial ao inerte (areia lavada) das rações controle negativo (Tabela 4).

Tabela 4. Porcentagem de inerte (areia lavada) e enzimas (premix) nas diferentes fases de criação para cada tratamento.

Fase de criação	Tratamento	Inerte	Enzimas	Total
Inicial/Engorda	Controle Negativo (CN)	0,065	-	0,065
	CN+Premix Enzimático	0,015	0,050	0,065
Abate	Controle Negativo (CN)	0,312	-	0,312
	CN+Premix Enzimático	0,262	0,050	0,312

A temperatura e umidade foram monitoradas diariamente por meio de termo-higrômetro, localizado na parte central do galpão. A partir dos dados coletados diariamente foram calculadas as médias semanais de temperatura (mínima, máxima e às 16horas) e umidade relativa, cujos valores encontram-se na tabela 5.

Tabela 5. Médias de temperatura (°C) e umidade relativa (UR) no interior do galpão, a cada semana experimental

Semana	Temperatura			UR %
	Mínima	Máxima	16horas	
1 <sup>a</sup>	25.8	32.5	30.9	58.9
2 <sup>a</sup>	24.3	34.3	32.1	50.6
3 <sup>a</sup>	24.2	31.3	29.0	66.1
4 <sup>a</sup>	24.3	33.3	31.6	56.4
5 <sup>a</sup>	24.3	35.1	32.9	54.3
6 <sup>a</sup>	24.3	33.2	30.8	58.3

As aves e as rações foram pesadas no primeiro, 10<sup>o</sup>, 22<sup>o</sup>, 35<sup>o</sup> e 41<sup>o</sup> dia de idade, obtendo dessa forma o consumo de ração, o ganho de peso e a conversão alimentar nos períodos de 1 a 10, 1 a 22, 1 a 35 e de 1 a 41 dias. A mortalidade em cada parcela foi registrada diariamente para controle da viabilidade de criação, correção do consumo de ração e conversão alimentar das aves, considerando a data da mortalidade para calcular a número de aves corrigido, seguindo recomendações propostas por Sakomura; Rostagno (2007).

Aos 22 de idade, 24 frangos foram abatidos (uma ave por parcela, totalizando 8 por tratamento) por deslocamento cervical, para a coleta da tíbia visando a determinação dos teores de cinzas ósseas, cálcio e fósforo. Para esta finalidade, logo que as aves foram abatidas, os ossos foram retirados, identificados, descarnados sem injúrias e, então, armazenados imediatamente em freezer para a posterior realização das análises.

Aos 42 dias de idade uma ave por parcela foi abatida, totalizando 24 aves, as quais foram selecionadas no dia anterior (41 dias de idade) ao final da pesagem (desempenho) para determinação do rendimento de cortes (rendimento de carcaça, rendimento de peito, rendimento de coxa+sobrecoxa). Tanto as aves abatidas com 22 dias como aquelas abatidas com 42 apresentavam peso médio da unidade experimental com uma variação máxima de 2%.

A avaliação do rendimento de cortes foi realizada por meio da pesagem individual das aves antes do abate (peso vivo), após período de jejum de aproximadamente 4 horas, seguida de sangria, escaldagem, depenagem, evisceração e repouso da carcaça em gelo por 2 horas. O rendimento de carcaça foi obtido pela relação entre o peso da carcaça (sem vísceras, pés, cabeça e pescoço) e o peso vivo, ao passo que o rendimento de peito e de coxa + sobrecoxa foi obtido pela relação entre seu respectivo peso e o peso da carcaça.

Após determinação dos pesos de cada corte, as tíbias (direita) foram individualmente coletadas, descarnadas sem injúrias aos ossos, identificadas e armazenadas imediatamente em freezer para análises de cinzas, cálcio e fósforo.

O fígado, das aves abatidas aos 42 dias de idade, foi pesado para determinação do peso relativo do órgão.

## **2.5 Análises laboratoriais**

Após o descongelamento, as tíbias coletadas aos 22 e 42 dias foram secas a 105°C, desengorduradas com éter de petróleo no extrator de gorduras, foram pesadas, trituradas em moinho de bola e amostras foram incineradas a 600°C por 12 horas sendo novamente pesadas após resfriamento em dessecador, para então determinação de cinzas ósseas na base seca desengordurada.

A solução mineral, necessária para a determinação de cálcio e fósforo, foi obtida após solubilização das cinzas ósseas em HCl 1:3. A determinação de cálcio se deu por espectrofotometria de absorção atômica, enquanto que a leitura do fósforo na tibia ocorreu através de espectrofotometria de luz UV/visível, conforme metodologia proposta pelo AOAC, método 965-17 (AOAC, 1990).

As análises nos ossos foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, com exceção da leitura do cálcio que ocorreu no Laboratório de Análise Foliar do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras.

As análises de proteína bruta, cálcio, fósforo total, extrato etéreo dos ingredientes utilizados na formulação das dietas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal do Paraná.

## 2.6 Modelo e análise estatística

O modelo estatístico adotado foi a seguir:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{(i)j}$$

Sendo:

$Y_{ij}$  = Valor observado na variável analisada, quando submetido ao tratamento  $i$ , na repetição  $j$ , com  $j = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$  e  $8$ ;

$\mu$  = Média geral do experimento;

$T_i$  = Efeito do tratamento  $i$ , sendo  $i = 1, 2$  e  $3$ ;

$e_{(i)j}$  = Erro experimental aleatório, associado a cada observação

Os resultados organizados e tabulados foram submetidos à avaliação da normalidade dos erros através do teste Shapiro e Wilk e, em seguida, submetidos a análise de variância utilizando-se o pacote estatístico SAS (Statistical Analysis System - SAS Institute, 2003) de acordo com o procedimento GLM (general linear model). Utilizou-se o teste de média SNK (Student Newman Keuls) para comparação dos diferentes tratamentos, adotando-se probabilidade máxima de 5%.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Desempenho

#### 3.1.1 Desempenho nas fases inicial e engorda

A avaliação evidencia a significância ( $p < 0,05$ ) para todas as características de desempenho na fase de 1 a 10 dias de idade das aves. Como pode ser observado (Tabela 6) o consumo de ração para as aves do grupo controle negativo (com

redução nutricional e energética) foi inferior ao das aves suplementadas com premix de enzimas, porém não diferiu do consumo das aves do controle positivo.

Aves submetidas à ração controle negativo apresentaram menor ( $p < 0,05$ ) ganho de peso (7,85%) e pior conversão alimentar (6,36%) aos 10 dias, em relação as aves alimentadas com ração controle positivo. A suplementação da associação enzimática melhorou ( $p < 0,05$ ) o ganho de peso e a conversão alimentar, mas foi inferior ao grupo que recebeu dieta controle positivo (Tabela 6).

Tabela 6. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 10 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não premix enzimático.

Tratamento	CR (g/ave)	GP (g/ave)*	CA (g/g)*
Controle Positivo	293ab	242a	1,210a
Controle Negativo (CN)	287b	223c	1,287c
CN + Premix enzimático	296a	235b	1,257b
Média	292	233,3	1,251
CV (%) <sup>1</sup>	2,36	2,73	1,80
Probabilidade	0,0442	0,0001	0,0001

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

Na fase inicial de criação há certa ineficiência das aves em sintetizar amilase. Pesquisa desenvolvida por Sakomura et al. (2004), demonstra que a atividade da  $\alpha$ -amilase em frangos de corte aumenta de forma linear com a idade. Além da digestão de amido ser menor na fase inicial, a quantidade de proteína da dieta é maior, portando a inclusão de farelo de soja, principal fonte de proteína da ração, é maior nesta fase. O farelo de soja contém considerável quantidade de polissacarídeos não amiláceos (entre 27 e 30%). Deste modo, na fase inicial, há grande quantidade de substrato para a ação das enzimas amilase, xilanase,  $\beta$ -glucanase e protease, utilizadas no premix.

Sendo assim, pode-se observar que houve ação das enzimas sobre os substratos na fase de 1 a 10 dias, o que resultou em melhoria do desempenho das aves em relação ao tratamento com reduções nutricionais e de energia, porém não foi eficiente em igualar ao controle positivo.

Na fase de 1 a 22 dias houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) para as variáveis estudadas em função das reduções de nutrientes e energia e do premix enzimático avaliado. Consumo de ração dos frangos de corte na fase de crescimento foi igual

para o controle positivo e o tratamento suplementado com premix enzimático e maior que o consumo do grupo que recebeu ração com redução nutricional e energética.

Tabela 7. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 22 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não premix enzimático.

Tratamento	CR (g/ave)*	GP (g/ave)*	CA (g/g)*
Controle Positivo	1452a	1023a	1,419a
Controle Negativo (CN)	1246b	744c	1,678c
CN + Premix enzimático	1453a	977b	1,488b
Média	1383,7	914,7	1,528
CV (%) <sup>1</sup>	2,86	3,69	2,74
Probabilidade	0,0001	0,0001	0,0001

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

Trabalhos demonstram efeitos positivos da suplementação de proteases na fase inicial de criação. Resultados diferentes dos encontrados na atual pesquisa, foram observados por Angel et al. (2011), que avaliaram o efeito de protease monocomponente sobre o desempenho de frangos de corte utilizando níveis reduzidos de proteína bruta e aminoácidos. Os autores constataram melhoria significativa no desempenho das aves na fase inicial de criação, igualando os resultados obtidos com a dieta padrão (controle positivo).

O grupo de aves que recebeu ração controle negativo apresentou menor ganho de peso e pior conversão alimentar (Tabela 7). Fato este plenamente justificável pelo menor consumo absoluto de nutrientes e de energia, deixando claro a sensibilidade das aves à mudanças acentuadas no perfil nutricional e energético da dieta, reduções propostas pelo controle negativo.

O maior ganho de peso e melhor conversão ( $p < 0,05$ ) entre os grupos avaliados foram observados nas aves do controle positivo. Apesar de a suplementação enzimática promover melhora no ganho de peso e conversão alimentar, não foi suficiente em recuperar completamente os resultados para estas variáveis a equiparar-se ao tratamento padrão.

O consumo de ração das aves suplementadas com a associação de enzimas foi igual ao controle positivo (1 a 10 dias e 1 a 22 dias), porém o consumo das aves que receberam enzimas não se refletiu no ganho de peso, que foi inferior ao controle positivo. Segundo Sorbara et al. (2009), o uso de enzimas, durante a fase de

crescimento, pode melhorar a capacidade digestiva da aves por acelerar a digestão dos nutrientes, resultando em maior absorção de nutrientes e maior consumo de ração e a consequência é maior ganho de peso. O que não se observou no presente trabalho.

Os resultados encontrados de 1 a 22 dias corroboram com os obtidos por Teixeira (2013), que ao avaliar duas diferentes mistura de enzimas (protease mais xilanase e protease, xilanase mais  $\beta$ -glucanase) em dietas a base de milho ou sorgo observou que, na fase de 1 a 21 dias, o desempenho das aves, independente da associação de enzimas utilizada nas rações, foi inferior para ganho de peso e a conversão alimentar foi pior, comparado aos seus respectivos controles positivos para ambos os ingredientes.

### 3.1.2 Desempenho fase abate e integral

Na fase de 1 a 35 dias (Tabela 8) os resultados mostram menor consumo de ração ( $p < 0,05$ ) para as aves do grupo controle negativo em relação aos demais grupos. Os frangos do controle positivo e do grupo suplementado com enzimas apresentaram mesmo consumo.

Tabela 8. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 35 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não premix enzimático.

Tratamento	CR (g/ave)*	GP (g/ave)*	CA (g/g)*
Controle Positivo	3501a	2191a	1,598a
Controle Negativo (CN)	3091b	1761c	1,756c
CN + Premix enzimático	3505a	2058b	1,702b
Média	3365,7	2003,3	1,685
CV (%) <sup>1</sup>	3,18	3,75	1,67
Probabilidade	0,0001	0,0001	0,0001

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

O ganho de peso aos 35 dias foi destacadamente maior para as aves alimentadas com ração padrão, seguida pelo tratamento onde houve suplementação de enzimas, evidenciando necessidade de ajustes nas reduções nutricionais e energéticas do produto enzimático avaliado, nestas condições.

A melhor conversão alimentar foi observada nas aves do controle positivo, seguida pelo grupo de aves que receberam premix de enzimas, que recuperou parcialmente a CA das aves em função da redução estabelecida.

Resultados diferentes aos observados no presente trabalho foram obtidos por Meneghetti (2013), que ao avaliar diferentes associações de enzimas observou que a suplementação de protease, fitase, amilase e  $\beta$ -glucanase na fase de 1 a 35 dias de idade não proporcionou diferenças entre os tratamentos para o consumo de ração e para ganho de peso das aves. Já para conversão alimentar aves que receberam as enzimas na dieta apresentaram conversão igual a do controle positivo.

Os resultados do período total de criação, 1 a 41 dias (Tabela 9), indicam diferenças ( $p < 0,05$ ) no desempenho das aves (CR, GP e CA) entre os tratamentos estudados.

Frangos de corte que receberam dieta controle positivo e dieta suplementada com a associação de enzimas apresentaram consumo de ração estatisticamente igual e superior ao consumo do grupo de aves controle negativo.

Tabela 9. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e viabilidade (V) de frangos de corte aos 41 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não premix enzimático.

Tratamento	CR (g/ave)*	GP (g/ave)*	CA (g/g)*	V(%)
Controle Positivo	4555a	2701a	1,687a	98,7
Controle Negativo (CN)	4068b	2237c	1,820c	95,7
CN + Premix enzimático	4512a	2558b	1,764b	96,1
Média	4378,3	2498,6	1,757	96,8
CV (%) <sup>1</sup>	3,03	3,75	1,70	2,93
Probabilidade	0,0001	0,0001	0,0001	0,0948

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

A deficiência de minerais e possivelmente dos aminoácidos na dieta tiveram ação direta sobre o consumo de ração. O menor consumo de ração observado nos frangos que receberam dieta controle negativo, sem suplementação enzimática, pode ter ocorrido pela deficiência de cálcio e fósforo (0,176 e 0,15 pontos percentuais para cálcio e fósforo disponível respectivamente). Segundo Viveros et al. (2002), as aves tentam compensar a deficiência nos níveis nutricionais através do aumento do ingestão de ração, entretanto a deficiência de minerais provoca redução do consumo. Quando há suplementação das enzimas, em especial a fitase, na dieta o fósforo e cálcio são mais aproveitados, o que se reflete no aumento do consumo.

Como pode ser notado na tabela 9, o ganho de peso e conversão alimentar estão de acordo com o que foi observado nas fases anteriores, aves alimentadas com ração controle positivo tiveram melhores ( $p < 0,05$ ) resultados. O grupo de aves com redução em cálcio, fósforo, proteína, aminoácidos e energia apresentou menor ganho de peso e pior conversão alimentar.

As aves suplementadas com as associações de enzimas apresentaram ganho de peso e conversão intermediários, sem recuperar completamente o desempenho proporcionado pelo controle positivo. Apesar do consumo de ração do grupo de aves suplementadas com enzimas ter sido igual ao controle positivo em todas as fases de criação, não resultou em ganho de peso igual ao controle positivo.

Os resultados encontrados contradizem os obtidos por Souza et al. (2008), que não verificaram diferença na conversão alimentar das aves que receberam dietas com deficiência nutricional suplementadas com enzimas em relação à ração padrão.

Os resultados de desempenho diferem dos encontrados por Walk et al. (2011) que avaliando diferentes combinações de enzimas para frangos de corte, com reduções de cálcio e fósforo, não encontraram efeito significativo das suplementações enzimáticas sobre o consumo de ração e ganho de peso. Já para conversão alimentar os melhores resultados foram observados nas aves suplementadas com associação de fitase e xilanase, apresentando melhor conversão que o controle positivo. A conversão das aves alimentadas com protease, fitase e xilanase foi semelhante ao controle positivo.

Cowieson; Singh; Adeola (2006) avaliaram suplementação da combinação de fitase com complexo contendo xilanase, amilase e protease em rações de frangos de corte em dois experimentos, utilizando três grupos controles negativos onde reduziu energia, fósforo, cálcio e aminoácidos. Os autores observaram efetividade da combinação das enzimas nas diversas reduções de nutrientes comparando com aves do grupo controle positivo. Diferente do que foi observado no atual experimento, os dados encontrados pelos autores acima citados indicam que as enzimas amilase, xilanase protease e fitase podem ser utilizadas, em dietas da baixa densidade nutricional, mantendo o desempenho das aves semelhante o controle positivo.

Provavelmente as reduções nutricionais e energéticas propostas no presente experimento foram maiores do que as enzimas utilizadas seriam capazes de restabelecer através da liberação dos nutrientes da dieta, nas condições em que o experimento foi conduzido.

Entre outros motivos, a não eficácia da suplementação enzimática em proporcionar desempenho semelhante ao grupo controle positivo pode ter ocorrido em função da maior inclusão de lipídeos (óleo) na dieta controle positivo que sabidamente tem menor impacto sobre o incremento calórico quando comparado aos carboidratos e proteínas. O incremento calórico representa toda perda de energia durante os processos de digestão, absorção e metabolismo de nutrientes (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2007). Em ambientes com altas temperaturas dieta com menor incremento calórico pode ter ação benéfica sobre o desempenho.

Altas temperaturas foram observadas 4, 5 e 6ª semanas de criação quando as temperaturas máximas (tabela 5) foram maiores que 33°C pode ter influenciado diretamente no desempenho das aves. A temperatura ambiente afeta diretamente o consumo de ração, podendo afetar o ganho de peso das aves. Segundo Bertechini (2012), as aves têm dificuldade de trocar calor com o ambiente, sendo que grande parte da troca é feita pela respiração. O aumento da taxa respiratória em ambientes quentes leva a uma redução do consumo de ração.

Oliveira et al. (2006) avaliando a influencia da temperatura sobre o desempenho de frangos de corte na fase final de criação observaram que o consumo de ração das aves mantidas a 32°C foi 11,7% menor que o daquelas criadas a 25°C. Segundo Lu; Wen; Zhang (2007) a exposição de frangos a altas temperaturas provoca redução na ingestão de alimentos, resultando em efeitos negativos na taxa de crescimento.

Assim, aves do controle positivo além de serem submetidas à rações com maior energia líquida, considerando que energia líquida é a diferença entre energia metabolizável e o incremento calórico, podem ter sido menos afetadas pelo estresse calórico e respondido melhor nestas condições.

Cowieson; Ravindran. (2008) afirmam que é possível aumentar o valor nutritivo de uma dieta à base de milho e farelo de soja através da utilização de enzimas exógenas. Os autores avaliaram a inclusão de xilanase, amilase e protease e

concluíram que a suplementação de enzimas em dieta com deficiência nutricional (redução de 63 kcal/kg de EMAn e 3% de aminoácidos) melhoraram o desempenho das aves em comparação a controle positivo não suplementado. Resultados que discordam do encontrados no presente trabalho, que apesar de melhorar o ganho de peso e a conversão alimentar, o tratamento com adição de enzimas não se igualou ao controle positivo.

Os resultados encontrados no presente trabalho corroboram os obtidos por Barbosa et al. (2008), que ao avaliar o desempenho de frangos de corte alimentados com dietas sem e com reduções nutricionais (redução de 130 e 145 kcal/kg de EMAn nas fases inicial e final, respectivamente, e 0,13 e 0,12 pontos percentuais para fósforo e cálcio) suplementadas com fitase, amilase, protease e xilanase, verificaram que a combinação de enzimas melhorou o desempenho, porém não foi totalmente eficiente em recuperar aves submetidas ao controle negativo com enzimas, em relação ao controle positivo.

A viabilidade de criação não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos estudados, sendo que a média de mortalidade foi inferior a 3,3%.

### 3.1.3 Características de carcaça

Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para rendimento de carcaça, rendimento de coxa+sobrecoxa e peso relativo de fígado aos 42 dias de idade no presente experimento.

Tabela 10. Rendimento de carcaça (RC), rendimento de peito (RP), rendimento coxa + sobrecoxa (RCS) e peso relativo de fígado (PRF) de frangos de corte aos 42 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não premix enzimático.

Tratamento	RC (%)	RP (%)	RCS (%)	PRF (%)
Controle Positivo	75,83	36,53ab	29,90	1,79
Controle Negativo (CN)	75,38	35,21b	29,43	1,96
CN + Premix enzimático	74,59	37,40a	29,60	1,81
Média	75,27	36,38	29,64	1,85
CV (%) <sup>1</sup>	2,58	4,24	5,31	13,17
Probabilidade	0,4478	0,0319	0,8312	0,3744

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

Carvalho et al. (2009), trabalhando com dietas suplementadas com carboidrases, não verificaram efeito das enzimas para os rendimentos de carcaça

das aves aos 42 dias de idade. Resultados encontrados por Neto et al. (2012), demonstraram que não houve diferença significativa no rendimento de carcaça em frangos de corte suplementados com enzimas, confirmando os resultados obtido no presente trabalho.

O rendimento de peito foi influenciado ( $p < 0,05$ ) pelas reduções nutricionais e de energia da dieta. Aves alimentadas com ração suplementada com premix de enzimas apresentaram maior rendimento de peito, porém não diferente do controle positivo.

Provavelmente houve maior ação da protease contida no premix, recuperando a deficiência de proteína e principalmente de lisina, que foi de 3,2% na fase inicial e 1,5% nas fases de engorda e abate em relação a dieta controle positivo.

Normalmente a deficiência de lisina na dieta tem efeito direto sobre o rendimento de peito. Trabalho desenvolvido por Tesseraud et al. (2001) evidencia que a deficiência de lisina reduz especificamente o crescimento do músculo do peito. Portanto, o maior rendimento de peito para as aves suplementadas com premix enzimático observado no presente trabalho, possivelmente pode ser justificado principalmente pela ação da protease.

O resultado do rendimento de peito corrobora com o encontrado por Wang; Garlich; Shih (2006), que verificaram aumento no rendimento deste corte em aves alimentadas com rações suplementadas com protease.

## **3.2 Características ósseas**

### **3.2.1 Mineralização óssea aos 22 dias de idade**

Os resultados de cinzas, fósforo e cálcio na tíbia aos 22 dias estão apresentados nas tabelas 11 e 12 respectivamente. Todos os dados estão expressos na base (matéria) seca desengordurada.

Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) no teor de cinzas na tíbia, aos 22 dias de idades das aves. Entretanto, para peso (mg) de cinzas pode-se observar diferenças ( $p < 0,05$ ), sendo que, aves do controle positivo apresentaram maior peso das cinzas. O controle negativo teve o menor valor de cinzas.

Tabela 11. Teor de cinzas (g/100g) e cinzas (mg) na tíbia das aves aos 22 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não premix enzimático.

Tratamento	Teor de cinzas	Cinzas*
Controle Positivo	53,56	1095,4a
Controle Negativo (CN)	52,91	727,2c
CN + Premix enzimático	53,30	991,4b
Média	53,26	938,0
CV (%) <sup>1</sup>	1,88	8,06
Probabilidade	0,4417	0,0001

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

Resultados encontrados para cinzas aos 22 dias de idade contradizem respostas obtidas por Rutherford et al. (2012), que ao avaliar diferentes níveis de inclusão fitase, mesma utilizada no presente trabalho (microrganismo de origem *Citrobacter braakii*), em dieta a base de milho e farelo de soja, observaram que o teor de cinzas aos 22 dias de idade foi influenciado pela suplementação da enzima. Aves que receberam dieta controle negativo apresentaram menor teor de cinzas, enquanto que aves da dieta padrão e aquelas suplementada com fitase apresentaram mesmo teor de cinzas.

Aos 22 dias de idade o teor de fósforo na tíbia não foi influenciado ( $p > 0,05$ ) em função das reduções de nutrientes e energia, ou menos em função da suplementação da associação de enzimas. O peso de fósforo (mg) no osso apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ), demonstrando comportamento semelhante ao observado no peso de cinzas aos 22 dias de idade. O controle negativo proporcionou menor fósforo, enquanto que, aves do controle positivo apresentaram maior peso de fósforo. Aves com suplementação de enzimas apresentaram peso de fósforo intermediário.

Tabela 12. Teor de fósforo - TP (g/100g), fósforo - PP (mg), teor de cálcio – TCa (g/100g) e cálcio - Pca (mg) na tíbia das aves aos 22 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não premix enzimático.

Tratamento	TP	PP*	TCa	PCa*
Controle Positivo	9,75	199,8a	16,11	329,3a
Controle Negativo (CN)	9,61	132,0c	15,59	214,1c
CN + Premix enzimático	9,64	179,2b	16,06	299,1b
Média	9,67	170,3	15,92	280,8
CV (%) <sup>1</sup>	4,17	9,32	3,81	9,49
Probabilidade	0,7488	0,0001	0,1932	0,0001

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

Estes resultados discordam dos obtidos por Tang et al. (2012) que avaliando a inclusão de fitase em rações com níveis reduzidos de fósforo e cálcio observaram diferenças significativas nos teores de cinzas e fósforo da tíbia aos 21 dias de idade, o teor de cálcio não foi influenciado pelas diferentes dietas. Quando houve suplementação de fitase os teores de cinzas e o fósforo foram iguais a dieta controle positivo (sem reduções de fósforo e cálcio).

Rutherford et al. (2012), ao avaliar peso de fósforo na tíbia aos 22 dias de idade observaram recuperação total do fósforo para aves suplementadas com fitase igualando a dieta padrão, resultado diferente do obtido no presente trabalho.

### 3.2.2 Mineralização óssea aos 42 dias de idade

Os resultados de cinzas, cálcio e fósforo nas tíbias, aos 42 dias de idade, estão apresentados nas tabelas 13 e 14 respectivamente.

Tabela 13. Teor de cinzas (g/100g) e cinzas (mg) na tíbia das aves aos 42 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não premix enzimático.

Tratamento	Teor de cinzas	Cinzas*
Controle Positivo	61,05	2834,1a
Controle Negativo (CN)	60,63	2293,9c
CN + Premix enzimático	59,63	2616,2b
Média	60,43	2581,4
CV (%) <sup>1</sup>	1,87	7,69
Probabilidade	0,0557	0,0001

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) no teor de cinzas na tíbia, aos 42 dias de idades das aves. Entretanto, para peso (mg) de cinzas pode-se observar diferenças. O controle positivo apresentou maior peso ( $p < 0,05$ ), seguido pelo grupo de aves que recebeu suplementação enzimática.

Os resultados obtidos para teores de cinzas diferem dos encontrados por Meneghetti (2013), que encontrou teores de cinzas da tíbia maiores para as aves suplementação com diferentes associações de carboidrases, fitase e protease, em comparação aos tratamentos com reduções nutricionais e de energia.

Aos 42 dias de idade os teores (g/100g) de fósforo e cálcio na tíbia não foram influenciados ( $p > 0,05$ ) pelas reduções de nutrientes e energia. Portanto, os menores

níveis de cálcio e fósforo da dieta controle negativo foram suficientes para manter os teores desses minerais e de cinzas nos ossos iguais ao controle positivo.

Os resultados obtidos no presente experimento discorda dos encontrados por Fukayama et al. (2008), que observaram que aves alimentadas com dietas controle negativo (reduções de energia, proteína, cálcio e fósforo) apresentaram teores de cinzas, cálcio e fósforo inferior ao controle positivo, porém, com a suplementação da enzima fitase em dieta com níveis reduzidos de nutrientes e energia, houve melhora na deposição desses minerais, igualando ao controle positivo.

Tabela 14. Teor de fósforo - TP (g/100g), fósforo - PP (mg), teor de cálcio - TCa (g/100g) e cálcio - PCa (mg) na tibia das aves aos 42 dias de idade, alimentadas com rações contendo ou não premix enzimático.

Tratamento	TP	PP*	TCa	PCa*
Controle Positivo	11,34	526,7a	18,35	852,1a
Controle Negativo (CN)	10,87	411,3c	18,60	703,4b
CN + Premix enzimático	10,80	473,9b	17,80	780,6a
Média	11,00	470,6	18,25	778,7
CV (%) <sup>1</sup>	5,02	9,39	4,88	8,86
Probabilidade	0,1320	0,0002	0,2039	0,0013

\*Médias com letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>CV – Coeficiente de variação

Aves do controle positivo apresentaram maior peso de fósforo e cálcio na tibia aos 42 dias de idade. A utilização de níveis reduzidos de fósforo disponível e cálcio, 0,15 e 0,176 pontos percentuais respectivamente, com suplementação de enzimas, ao longo do ciclo de criação, resultou em maior conteúdo (peso) de fósforo e cálcio, comparado ao controle negativo, sendo que o peso de cálcio aos 42 dias foi igual ao controle positivo.

Olukosi; Cowieson; Adeola (2007) sugerem que as carboidrases que degradam PNA's permitem uma ação mais efetiva das fitases, isso porque ao degradar a parede celular dos vegetais da dieta, as carboidrases facilitam o acesso da fitase na molécula de fitato e liberam do fósforo.

#### 4 CONCLUSÕES

Nas condições experimentais aqui descritas, pode-se concluir que a utilização da associação de amilase,  $\beta$ -glucanase, xilanase, fitase e protease em rações para frangos de corte melhora o desempenho e rendimento de peito das aves em comparação a dieta com níveis reduzidos de nutrientes e energia.

A suplementação das enzimas associadas proporciona recuperação parcial dos pesos de cinzas, cálcio e fósforo.

Percebe-se a importância de novos estudos com enzimas, levando em consideração, entre outros fatores, as distintas regiões do país e a influência do clima de cada região para definir as reduções nutricionais e energéticas estabelecidas para o uso das enzimas.

#### 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGEL, C. R.; SAYLOR, W.; VIEIRA, S. L.; WARD, N. Effects of a monocomponent protease on performance and protein utilization in 7- to 22-day old broiler chickens. **Poultry Science**, v.90, p.2281-2286, 2011.

AOAC -ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. ed. Arlington, v.1, 1990.

BARBOSA, N. A. A.; SAKOMURA, N. K.; FERNANDES, J. B. K.; DOURADO, L. R. B.; Enzimas exógenas no desempenho e na digestibilidade ileal de nutrientes em frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.6, p.755-762, 2008.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: 2 ed. UFLA, 2012. 373p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Irrigação. Departamento Nacional de Meteorologia. Normas climatológicas: 1961-1990. Brasília, 1992. 84p.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M.; APPELT, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.259-272, 2005.

CARVALHO, J. C. C.; BERTECHINI, A. G.; FASSANI, E. J.; RODRIGUES, P. B.; PEREIRE, R. A. N. Desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja suplementadas com complexos enzimáticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.2, p.292-298, 2009.

COBB-VANTRESS – Suplemento: Desempenho e Nutrição para frangos de corte Cobb 500. 14p. 2012. Cobb-vantress.

COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Effect of exogenous enzymes in maize-based diets varying in nutrient density for young broilers: growth performance and digestibility of energy, minerals and amino acids. **British Poultry Science**, v.49, p.37-44, 2008.

COWIESON, A. J.; SINGH, D. N.; ADEOLA, O. Prediction of ingredient quality and the effect of a combination of xylanase, amylase, protease and phytase in the diets of broiler chicks. 1. Growth performance and digestible nutrient intake. **British Poultry Science**, v.47, n.4, p.477-489, 2006.

FUKAYAMA, E. H.; SAKOMURA, N. K.; DOURADO, L. R. B.; NEME, R.; FERNANDES, J. B. K.; MARCATO, S. M. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.4, p.629-635, 2008.

LEMME, A.; RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W. L. Ileal digestibility of amino acids in feed ingredients for broilers. **World's Poultry Science Journal**, v.60, p.514-517, 2004.

LIU, N.; LIU, G. H.; LI, F. D.; SANDS, J. S.; ZHANG, S.; ZHENG, A. J.; RU, Y. J. Efficacy of phytases on egg production and nutrient digestibility in layers fed reduced phosphorus diets. **Poultry Science**, v.86, n.11, p.2337-2342, 2007.

LU, Q.; WEN, J.; ZHANG, H. Effect of chronic heat exposure on fat deposition and meat quality in two genetic types of chicken. **Poultry Science**, v.86, n.1, p.1059-1064, 2007.

MENEGHETTI, C. **Associação de enzimas em rações para frangos de Corte**. 2013. 93p Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, MG.

MENG, X.; SLOMINSKI, B. A.; GUENTER, W. The effect of fat type, carbohydrase, and lipase addition on growth performance and nutrient utilization of young broilers fed wheat-based diets. **Poultry Science**, v.83, n.10, p.1718-1727, 2004.

NETO, R. M.; CECCANTINI, M. L.; FERNANDES, J. I. Productive Performance, Intestinal Morphology and Carcass Yield of Broilers Fed Conventional and Alternative Diets Containing Commercial Enzymatic Complex. **International Journal of Poultry Science**, v.11, p.505-516, 2012.

OLIVEIRA, G. A.; OLIVEIRA, R. F. M.; DONZELE, J. L.; CECON, P. R.; VAZ, R. G. M. V.; ORLANDO, U. A. D. Efeito da temperatura ambiental sobre o desempenho e as características de carcaça de frangos de corte dos 22 aos 42 dias. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1398-1405, 2006.

OLUKOSI, O. A.; COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Age-related influence of a cocktail of xylanase, amylase, and protease or phytase individually or in combination in broilers. **Poultry Science**, v.86, p.77-86, 2007.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRS, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. Viçosa: 3 ed.UFV, 2011, 252p.

RUTHERFURD, S. M.; CHUNG, T. K.; THOMAS, D. V.; ZOU, M. L.; MOUGHAN, P.J. Effect of a novel phytase on growth performance, apparent metabolizable energy, and the availability of minerals and amino acids in a low-phosphorus corn-soybean meal diet for broilers. **Poultry Science**, v.91, p.1118-1127, 2012.

SAKOMURA, N. K.; DEL BIANCHI, M.; PIZAURO Jr., J. M.; CAFÉ, M. B.; FREITAS, E. R. Efeito da idade dos frangos de corte sobre a atividade enzimática e digestibilidade dos nutrientes do farelo de soja e da soja integral. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.924-935, 2004.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: FUNEP, 2007. 283p.

SAS Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., SAS User's Guide, Cary, USA: SAS Inst., 2003.

SOUZA, R. M.; BERTECHINI A. G.; SOUSA, R. V.; RODRIGUES, P. B.; CARVALHO, J. C. C.; BRITO, J. A. G. Efeitos da suplementação enzimática e da forma física da ração sobre o desempenho e as características de carcaça de frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.2, p.584-590, 2008.

SHEPPY, C. The current feed enzyme market and likely trends. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm nutrition**. Londres: Cab International, 2001. p. 1-10.

SORBARA, J. O. B.; MURAKAMI, A. E.; NAKAGE, E. S.; PIRACES, F.; POTENÇA, A.; GUERRA, R. L. H. Enzymatic Programs for Broilers. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, p.233-240, 2009.

TANG, H. O; GAO, X. H.; JI, F.; TONG, S; LI, X. J. Effects of a thermostable phytase on the growth performance and bone mineralization of broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.21, p.476-483, 2012.

TEIXEIRA, L. V. **Misturas enzimáticas em rações para frangos de Corte**. 2013. 72p Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras.

TESSERAUD, S.; TEMIN, S.; LÊ BIHAN-DUVAL, E; CHAGNEAU, A.M. Increased responsiveness to dietary lysine deficiency of pectoralis major muscle protein

turnover in broilers selected on breast development. **Journal of Animal Science**, v.79, n.4, p.927-933, 2001

VIVEROS, A.; BRENES, A.; ARIJA, I.; CENTENO, C. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, v.81, p.1172-1183, 2002.

WALK, C. L.; COWIESON, A.L; REMUS, J. C.; NOVAK, C. L.; MCELROY, A.P. Effects of dietary enzymes on performance and intestinal goblet cell number of broilers exposed to a live coccidia oocyst vaccine. **Poultry Science**, v.90, p.91-98, 2011.

WANG, J. J.; GARLICH, J. D.; SHIH, J. C. H. Beneficial effects of versazyme, a keratinase feed additive, on body weight, feed conversion, and breast yield of broilers chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, v.15, p.544-550, 2006.