

BRUNO REIS DE CARVALHO

**AVALIAÇÃO DE UM COMPLEXO ENZIMÁTICO EM
RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE COM DIFERENTES
IDADES**

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

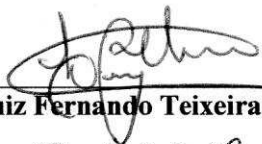
**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2013**

BRUNO REIS DE CARVALHO

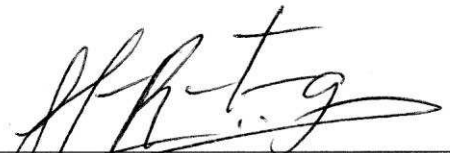
**Avaliação de um complexo enzimático em rações para frangos de
corte com diferentes idades**

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

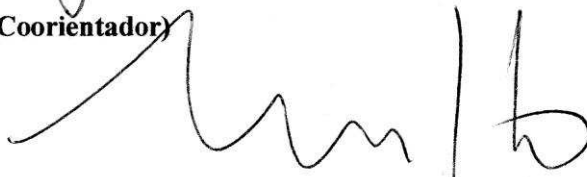
APROVADA EM: 16 de Julho de 2013



Prof. Luiz Fernando Teixeira Albino
(Coorientador)



Prof. Horácio Santiago Rostagno
(Coorientador)



Ramalho José Barbosa Rodrigueiro



Profª Melissa Izabel Hannas
(Orientadora)

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

C331a
2013 Carvalho, Bruno Reis de, 1987-
Avaliação de um complexo enzimático em rações para
frangos de corte com diferentes idades / Bruno Reis de Carvalho.
– Viçosa, MG, 2013.
x, 75f. : il. ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Melissa Izabel Hannas.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Frango de corte - Nutrição. 2. Enzimas na nutrição
animal. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 636.5085

Indo eles pelo caminho, entraram em um certo povoado. E certa mulher, chamada Marta, hospedou-o em sua casa.

Tinha ela uma irmã, chamada Maria, que se sentou aos pés do Senhor e ficou ouvindo seus ensinamentos.

Marta agitava-se de um lado para outro, ocupada em muitos serviços. Então aproximou-se de Jesus e disse:

– Senhor! Não te importas de que eu fique a servir sozinha? Ordena a minha irmã que venha ajudar-me!

Respondeu-lhe o Senhor:

– Marta! Marta! Andas inquieta e te preocupas com muitas coisas.

"Maria, entretanto, escolheu a melhor parte, e esta não lhe será tirada."

Lucas 10:38-42

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me dado a vida e as oportunidades que me tornaram quem sou hoje.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), especialmente ao Departamento de Zootecnia, propiciando a realização dessa conquista.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Professora Melissa Izabel Hannas, por toda orientação acadêmica e pessoal, pelo apoio, ensinamentos e, acima de tudo, pela amizade que se estende além dessas páginas.

Ao professor Luiz Fernando Teixeira Albino, meu imenso agradecimento por ter sido não só um orientador, mais um exemplo. Obrigado pelo incentivo, amizade e por acreditar no meu potencial.

Ao professor Horácio Santiago Rostagno, pelas colaborações, sugestões e conselhos durante os experimentos e por ter contribuído de forma essencial para minha formação profissional.

Ao Doutor Ramalho Rodrigueiro, por aceitar prontamente a participação nesse trabalho e pelas sugestões e conselhos de grande valia.

Aos meus pais, Domingos e Carminha, pelo exemplo, e aos meus irmãos, Rafael e Luisa, pelo apoio em todos os momentos.

Aos funcionários do setor de Avicultura, principalmente Elísio, José Lino, Adriano, Dedé e Vaniel pelo apoio durante a realização dos experimentos e amizade nesses anos de trabalho.

À família Aviário, principalmente aos amigos Valdir, Rodrigo, Rodolfo, Víctor, Sandra, Rosana, Bruno, Luana, Leandro, Diego, Dani e Cinthia por toda a ajuda, todo o apoio, ensinamentos e exemplos, e por transformar horas de trabalho em momentos inesquecíveis!

Ao Neto, pela ajuda nas planilhas, estatísticas, pelo tempo de dedicação que formaram uma amizade que vale mais que um título.

À todos os estagiários, em especial Diego, Maurílio, Matheuzinho e Bruna, pelo auxílio na realização dos experimentos.

Ao Helvio, mais que um companheiro, por todos os anos de apoio e convivência pelos quais não existe como agradecer.

À Empresa Alltech, em especial à Andrea Malaguido, pelo apoio nas pesquisas e na elaboração desse trabalho.

Aos demais professores, colegas e funcionários do Departamento de Zootecnia que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a finalização dessa importante etapa em minha vida.

BIOGRAFIA

BRUNO REIS DE CARVALHO, filho de Domingos Sávio de Carvalho Laviola e Maria do Carmo Pedrosa Reis de Carvalho, nasceu em 22 de novembro de 1987 na cidade de Carangola, estado de Minas Gerais.

Em março de 2007 ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa – MG, colando grau em julho de 2011.

Em agosto de 2011 iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Monogástricos, submetendo-se à defesa de tese no dia 16 de julho de 2013.

RESUMO

CARVALHO, Bruno Reis de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2013. **Avaliação de um complexo enzimático em rações para frangos de corte com diferentes idades.** Orientadora: Melissa Izabel Hannas. Coorientadores: Horácio Santiago Rostagno e Luiz Fernando Teixeira Albino.

Para avaliar um complexo enzimático em dietas com diferentes níveis nutricionais, foram realizados três experimentos de desempenho e dois ensaios de metabolismo no Setor de Avicultura da Universidade Federal de Viçosa. Nos experimentos de desempenho foram utilizados 2000 (de 1 a 21 dias), 1600 (de 21 a 35 dias) e 1200 (de 36 a 49 dias) pintos de corte machos, da linhagem Cobb, distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 8 tratamentos em esquema fatorial 2 x 4 (adição ou não do complexo enzimático em quatro níveis nutricionais diferentes), com dez repetições e 25, 20 e 15 aves por unidade experimental em cada fase, respectivamente. As dietas experimentais diferiram nos níveis de energia metabolizável, fósforo disponível e lisina digestível, sendo o nível nutricional 1 formulado para atender as exigências nutricionais das aves (Rostagno *et al.*, 2011) a partir do qual foram feitas reduções de 56kcal/kg, 0,075% de P.disp. e 0,019% na Lis Dig (NN2); 75kcal/kg, 0,1% de P.disp. e 0,025% na Lis Dig (NN3); ou 94kcal/kg, 0,125% de P.disp. e 0,031% na Lis Dig (NN4), com adição ou não do complexo enzimático. A suplementação do complexo enzimático em 200 gramas/ton. nas rações com as recomendações de Rostagno et al. (2011) apresentou resultados estatisticamente superiores ($P < 0,05$) à sua não adição, sendo que o NN2 na fase inicial e o NN3 nas demais, com a adição do complexo, demonstraram resultados iguais ($P < 0,05$) aos níveis sugeridos por Rostagno *et al.* (2011) sem adição do complexo enzimático. Para a avaliação dos valores de energia metabolizável e balanço de nitrogênio das dietas, foram realizados dois ensaios de metabolismo, sendo o primeiro com 336 pintos de corte de 13 a 21 dias de idade em 6 repetições e 7 animais por unidade experimental, e o segundo com 384 pintos de corte machos de 25 a 33 dias de idade com 8 repetições e 6 animais por unidade experimental, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, sendo os tratamentos iguais às respectivas fases do desempenho. Os resultados indicam que para rações formuladas em níveis abaixo das exigências nutricionais, a utilização do complexo enzimático permitiu liberação de 36, de 31 e de 87 kcal na EMAn na primeira fase e de 115, de 110 e de 13 kcal na segunda fase, respectivamente. Assim, pode-se concluir que o potencial de valorização do complexo

enzimático em rações para frangos de corte é dependente da fase de desenvolvimento do animal, podendo promover melhorias nos parâmetros de ganho de peso e conversão alimentar, bem como aumento da energia metabolizável das rações.

ABSTRACT

CARVALHO, Bruno Reis de, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, July 2013. **A Evaluation of an enzyme complex in diets for broilers with different ages.** Advisor: Melissa Izabel Hannas. Co-Advisors: Horacio Santiago Rostagno and Luiz Fernando Teixeira Albino.

To evaluate an enzyme complex in diets with different nutrient levels, three performance experiments and two bioassays were conducted in the Poultry Sector of the Federal University of Viçosa. In performance experiments were used 2000 (1-21 days), 1600 (21-35 days) and 1200 (35-49 days) male broiler chicks, Cobb, distributed in a completely randomized design with 8 treatments in 2 x 4 factorial arrangement (with or without addition of the enzyme complex in four different nutrient levels), with ten replications with 25, 20 and 15 birds in each phase, respectively. The experimental diets were formulated to be different in energy levels, available phosphorus and digestible lysine, and the nutritional level 1 was formulated to meet the nutritional requirements of poultries (Rostagno *et al.*, 2011) from which reductions were made: 56kcal/kg, 0,075% of P disp and 0.019% in Lys Dig (NN2); 75kcal/kg, 0.1% to P disp and 0.025% in Lys Dig (NN3) or 94kcal/kg, 0.125% P disp and 0,031% in Lys Dig (NN4), with or without addition of the enzyme complex. The supplementation of the enzyme complex (200 grams/ton) in diets formulated in the recommendations of Rostagno *et al.* (2011) showed statistically higher ($P < 0.05$) to diets without the complex, and NN2 in the initial phase and NN3 in the others phases with the addition of the complex showed similar results ($P < 0.05$) to the levels suggested by Rostagno *et al.* (2011). For the evaluation of metabolizable energy and nitrogen balance of diets, there were two metabolism trials, the first with 336 broiler chicks 13-21 days old in 6 replicates and 7 animals per experimental unit, and the second with 384 male broiler chicks of 25-33 days old with 8 reps and 6 animals per experimental unit were distributed in a completely randomized design with treatments equal to their performance phases. The results indicate that, under the requirements of diets, the use of the enzyme complex allowed the release of 36, 31 and 87 kcal AMEn in the first stage and 115, 110 and 13 kcal in the second stage, respectively. Thus, we can conclude that the potential for appreciation of the enzyme complex in diets for broilers is dependent on the stage of development of the animal and can promote improvements in the parameters of weight gain and feed conversion, and increased metabolizable energy of the feeds.

SUMÁRIO

1) INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2) REVISÃO DE LITERATURA	3
3) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13
CAPÍTULO 1	
Uso de complexo enzimático em rações com diferentes níveis nutricionais sobre o desempenho de frangos de corte.....	19
1) INTRODUÇÃO	20
2) MATERIAL E MÉTODOS	21
3) RESULTADOS.....	30
4) DISCUSSÃO	39
5) RESUMO E CONCLUSÃO	45
6) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
CAPÍTULO 2	
Uso de complexo enzimático em rações com diferentes níveis nutricionais sobre os valores de energia metabolizável e balanço de nitrogênio em frangos de corte.....	49
1) INTRODUÇÃO	50
2) MATERIAL E MÉTODOS	51
3) RESULTADOS	58
4) DISCUSSÃO	65
5) RESUMO E CONCLUSÃO	69
6) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
ANEXO 1.....	73

1. INTRODUÇÃO GERAL

Estratégias nutricionais utilizadas na formulação de rações influenciam os resultados na produção avícola. Uma dessas estratégias é a utilização de aditivos zootécnicos nas rações. Esses aditivos podem promover uma melhor eficiência dos animais na utilização dos nutrientes, permitindo assim um melhor aproveitamento dos ingredientes.

Com a restrição ao uso de antibióticos e quimioterápicos melhoradores de desempenho na produção animal, o número de trabalhos científicos com aditivos alternativos teve notável crescimento, com o desenvolvimento de substâncias que garantissem os índices de desempenho atuais.

Além de proporcionar melhorias no ganho de peso e conversão alimentar, esses aditivos são muitas vezes responsáveis por um benefício a saúde intestinal dos animais, na qualidade da carne e redução da excreção de agentes poluidores no solo, além de redução nos custos de produção.

Entre os aditivos destacam-se os ácidos orgânicos, probióticos, pré-bióticos, óleos essenciais, e as enzimas exógenas. Nesse grupo, as enzimas exógenas permitem aos animais um aproveitamento de nutrientes da dieta antes indisponíveis.

Enzimas são substrato - dependentes, e em função disso sua eficiência pode variar em função dos alimentos utilizados nas rações, da idade e linhagem das aves, do ambiente, das condições sanitárias e do manejo. Isso faz com que exista sub ou super valorização das enzimas em situações específicas, que define a necessidade de realizar esta pesquisa.

Assim, os objetivos deste trabalho foram:

01) Avaliar um complexo enzimático nas rações de frangos de corte com diferentes níveis nutricionais sobre o desempenho dos animais em diferentes idades;

02) Avaliar um complexo enzimático em rações com diferentes níveis nutricionais sobre os valores de energia metabolizável em dietas para frangos de corte em diferentes fases.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O uso de enzimas

Os aditivos destinados à alimentação animal são classificados segundo a legislação brasileira como qualquer substância ou microrganismo adicionados intencionalmente à ração, tendo ou não valor nutritivo, que melhorem as características dos alimentos destinados à alimentação animal ou do próprio produto final (MAPA, 2004).

Alguns aditivos, como aminoácidos, vitaminas e minerais, possuem propriedades nutricionais específicas que suprem diretamente as exigências dietéticas dos animais, sendo indispensável sua adição na formulação das rações. A ausência dessas substâncias irá ocasionar deficiências metabólicas no organismo, criando um efeito depressor sobre o desempenho produtivo dos animais.

Já outros aditivos atuam indiretamente sobre o valor nutricional dos alimentos, possuindo componentes que alteram as características da microflora intestinal (pré ou pró-bióticos), reduzem o número de patógenos (óleos essenciais, ácidos orgânicos e promotores de crescimento) ou auxiliam na degradação de nutrientes indisponíveis (enzimas exógenas). Entretanto, sua adição não é essencial na composição da dieta, sendo apenas uma estratégia para potencializar o desempenho dos animais.

Entretanto, o constante aumento na demanda de alimentos exige que novas tecnologias de aumento de produção sejam desenvolvidas, seja por melhorias nas condições ambientais, aumento no aproveitamento dos nutrientes ou modificações genéticas nos locais relacionados à produção. Visto a possibilidade no aumento da digestibilidade, o uso de determinados aditivos possibilitam o aproveitamento de nutrientes quando não utilizados são perdidos nas excretas.

A excreção de nutrientes como proteínas, carboidratos e minerais no ambiente aumentam a poluição dentro dos sistemas de criação com a liberação de gases, redução do bem estar animal, aumento da incidência de doenças e eutrofização dos cursos de água, quando dejetos não são manejados corretamente. Além disso, o custo desses nutrientes compõe grande parte do dispêndio da produção animal, sendo sua eliminação uma perda de recursos caros.

A não utilização de alguns nutrientes está relacionada geralmente à própria fisiologia do animal. Algumas plantas desenvolveram compostos que tornaram nutrientes específicos indisponíveis aos seus predadores ou reduziram sua palatabilidade, garantindo seu sucesso

reprodutivo. Animais monogástricos, por sua vez, não possuem atividade de certas enzimas específicas, ou as produzem de maneira ínfima, limitando o número substâncias potencialmente nutritivas.

Dessa forma, a suplementação de enzimas exógenas na ração permite o aumento da digestibilidade de compostos que antes seriam eliminados, disponibilizando substratos para a produção, seja ela carne, leite ou ovos.

2.2 As enzimas

As enzimas são classificadas como proteínas globulares de estrutura terciária ou quaternária em sua grande maioria, com número e sequência de aminoácidos definida (Champe & Harvey, 1989). Devido ao grande controle no processo de produção e ao volume de estudos na área, a utilização de enzimas não apresenta nenhum risco para humanos e animais e possui aceitação no mercado, pois além de aumentar os parâmetros produtivos reduz o impacto da atividade zootécnica sobre o meio ambiente.

Segundo Stryer (1995), enzimas podem ser consideradas eficientes catalisadores em sistemas biológicos que aceleram reações intra e extra celulares. Ao se classificar enzimas, devemos ressaltar sua atividade, estabilidade e especificidade ao substrato. A atividade enzimática é variável e influenciada por fatores como tipo e quantidade de substrato, pH, temperatura, presença de inibidores enzimáticos, e, por serem proteínas, podem ser inativadas e desnaturadas por pH extremos e calor, sendo também degradadas por outras enzimas proteolíticas (Nagashiro, 2007).

Existe uma gama de enzimas exógenas disponíveis no mercado de aditivos (Tabela 1). As principais são as proteases, amilases, celulasas, xilanases, galactosidases, glucanases, pectinases, lipases e fitases. Cada enzima possui um sítio ativo específico, atuando em determinada ligação química. Essa especificidade faz com que as enzimas possam ser adicionadas individualmente na ração ou combinadas, na forma de complexos e "*blends*".

A utilização de uma enzima isolada deve ser feita quando se tem por objetivo degradar um determinado fator antinutricional conhecido, quando o animal apresenta alguma deficiência específica ou quando o uso da enzima combinada à outras possa reduzir a atividade de ambas (Wenk, 1993). Já o uso dos complexos é recomendado quando a dieta apresenta variadas quantidades de fatores antinutricionais, em dietas com ingredientes alternativos com grande

variação na composição química, ou em animais sob efeito de grande estresse ou desafio sanitário, que reduzem a produção de enzimas endógenas, já que complexos possuem enzimas que atuam em diversos substratos. Os *blends* ou coquetéis são misturas físicas de enzimas que podem ou não atuar sobre o mesmo substrato, e se diferencia dos complexos por serem uma mistura de enzimas produzidas em separado, enquanto os complexos são enzimas produzidas em conjunto.

Tabela 1 – Resumo de enzimas utilizadas na ração de aves

Enzima	Substrato	Ação
Xilanase	Arabinosilanos	Redução da viscosidade da ração.
Glucanases	β - glucanos	Redução da viscosidade da ração e menor umidade na cama.
Pectinases	Pectinas	Redução da viscosidade da ração.
Celulases	Celulose	Degradação de celulose e liberação de nutrientes.
Proteases	Proteínas	Suplementação das enzimas endógenas; degradação mais eficiente de proteínas.
Amilases	Amido	Suplementação das enzimas endógenas; degradação mais eficiente do amido.
Fitase	Ácido fítico	Melhora a utilização do fósforo dos vegetais. Remoção do ácido fítico.
Galactosidades	Galactosídios	Remoção de galactosídios
Lipases	Lipídios e ác. graxos	Melhora a utilização de gorduras animais e vegetais.

Adaptado de Cleóphas *et al.* (1995)

2.2.1 Carboidrases

A maioria dos ingredientes utilizados na nutrição animal provém de fontes vegetais. Os polissacarídeos que compõem esses alimentos são fonte primária de energia para os animais, sendo primeiramente degradados à glicose ou frutose. Entretanto, parte dos componentes da parede celular desses vegetais são indigestíveis para animais monogástricos. Componentes como a celulose e lignina necessitam de enzimas específicas para que suas ligações tipo β sejam

hidrolizadas, sendo que as enzimas endógenas produzidas por aves e suínos são do tipo α , ligação constituinte das moléculas de amido. Para que as ligações do tipo β sofram lise, é necessária a adição de carboidrases à ração.

As carboidrases, juntamente com as fitases, estão entre as enzimas mais utilizadas na indústria de nutrição animal (Adeola & Cowieson, 2011). Isso se deve a atuação desse tipo de enzimas na liberação de um maior conteúdo energético das rações, componente mais oneroso das dietas e de grande importância no desempenho dos animais. Além disso, a lise da parede celular expõe o conteúdo celular. Autores (Marsman *et al.*, 1997; Francesch & Geraert, 2009; Adeola & Cowieson, 2011) citam que além de energia, o uso de carboidrases também aumenta a digestibilidade de aminoácidos e minerais presente no vegetais.

O termo carboidrase se refere a qualquer enzima que tenha a capacidade de hidrolisar carboidratos, entretanto 80% das enzimas utilizadas para essa finalidade são xilanases e glucanases (Adeola & Cowieson, 2011). Xilanos e glucanos participam de uma classe de polissacarídeos denominada polissacarídeos não amiláceos, importante fator antinutricional presente nas dietas vegetais.

Os polissacarídeos não amiláceos, também chamados PNAs, podem ser classificados dependendo da solubilidade de seus constituintes. Celuloses, ligninas e algumas hemiceluloses não se solubilizam em meio aquoso, sendo assim PNAs insolúveis. Já pectinas, gomas e a hemicelulose formam o grupo dos PNAs solúveis, sendo a hemicelulose constituída por arabinoxilanos, β -glucanos, D-xilanos, D-mananos e xiloglucanos, entre outros (Tavernari *et al.*, 2008).

Além de indigestíveis, os PNAs (principalmente os solúveis) conseguem se ligar a molécula de água, aumentando a viscosidade da digesta, o que reduz a taxa de passagem no intestino, além de reduzir a difusão de nutrientes e de enzimas digestivas (Rosa & Uttpatel, 2007). Segundo Vahouny (1982), ocorre também modificações na estrutura da mucosa do intestino, e mudanças na regulação hormonal devido a alteração na taxa de absorção de nutrientes. A proliferação de bactérias no trato gastro intestinal também possui sua taxa aumentada com a redução da velocidade de passagem do alimento (Souza, 2005).

Dessa forma, adição de carboidrases à ração gera um efeito benéfico aos parâmetros de desempenho de animais não ruminantes, além de permitir ao nutricionista maior flexibilização

das formulações, com a adição de alimentos alternativos com maiores teores de fibra, ou maior valorização da energia do milho e do farelo de soja, ingredientes mais utilizados nas rações no Brasil.

2.2.2 Fitases

Fitases são enzimas da família das hidrolases capazes de catalisar a reação de hidrólise do ácido fítico. O fósforo é um macromineral de extrema importância para os vertebrados, pois participa da constituição da matriz óssea, integra os fosfolipídios da membrana celular, forma a estrutura dos ácidos nucleicos e participa de diversos sistemas enzimáticos, principalmente aqueles relacionados com sistemas de alta energia via ATP.

Nos vegetais, cerca de 60 a 90% do fósforo se encontra complexado na forma de mio-inositol hexaquisfosfato (IP₆), ou ácido fítico. O ácido fítico é uma molécula com seis carbonos ligados a seis grupos fosfatos, encontrado em cotilédones (trigo, cevada e arroz) ou gérmen (milho) dos vegetais, funcionando como reserva de fósforo para as sementes, estoque de energia e fonte de cátions (Cheryan, 1980). O ácido fítico também protege a semente contra os danos oxidativos durante o período de dormência em que a semente é armazenada (Cuneo, 2000) além de ser responsável pelo processo de início de dormência (Reddy *et al.*, 1982). A concentração do ácido fítico nas plantas depende do estágio de maturidade, grau de processamento, cultivar, fatores climáticos, locação e ano de plantio (Manangui & Coon, 2006).

Para que o fósforo fítico seja liberado no trato gastrointestinal, é necessário a ação da fitase. Na ausência dessa enzima, o ácido fítico pode se ligar com outros nutrientes, reduzindo a digestibilidade dos mesmos para o organismo (Selle *et al.*, 2007).

As fitases podem ser classificadas como 3-fitase ou 6-fitase, dependendo de onde a hidrólise do grupamento fosfato no ácido fítico é iniciada. Quanto a origem, a fitase pode ser de origem microbiana ou vegetal. Entretanto, a fitase presente nas sementes é desconsiderada nas formulações de rações por aparecerem de forma variada e em pequenas quantidades (Barrier-Guillot *et al.*, 1996).

Os animais monogástricos não produzem fitase endógena. A fitase e fosfatases presentes na mucosa intestinal, sangue e fígado possuem alta eficiência em desfosforilar ácido fítico em fosfato livre para a utilização sistêmica (Oshima *et al.*, 1964; Birge and Avioli, 1981; Maenz & Classen, 1998). Entretanto, o que impede a digestão do ácido fítico não é a presença da fitase

endógena, mas sim a baixa solubilidade do ácido fítico no intestino delgado, o que depende da concentração de cátions no lúmen.

Para verificar esse fato, Schlemmer *et al.* (2001) avaliaram a solubilidade do inositol no intestino grosso (pH 6,2) e delgado de suínos (pH 6,6), e constataram que a solubilidade do IP6, IP5, IP4, IP3, IP2 foi de 2, 7, 8, 31, e 75% no intestino delgado, respectivamente. Os valores correspondentes para o intestino grosso foram de 2, 3, 0, 6, e 24%, mostrando que a solubilidade do ácido fítico é extremamente dependente do número de fosfatos na molécula.

No caso das fitases microbianas, a molécula de fitase se liga a ligação entre o carbono 3 (no caso da 3-fitase) ou entre o carbono 6 (no caso da 6-fitase) e liberar o grupo fosfato. Após a hidrólise do grupamento preferencial, a fitase realiza a sequencia de hidrólises no anel de inositol independentemente das condições ambientais e solubilidade do meio, o que garante sua maior atividade frente as fitases endógenas (Adeola & Cowieson, 2011).

Alguns autores citam que, apesar da fitase liberar o fósforo do ácido fítico, nenhuma fitase sozinha consegue liberar todos os átomos de fósforo da molécula, sendo para isso necessário uma ação conjunta entre a fitase e uma fosfatase não específica (Maenz, 2001).

Quanto aos efeitos no animal, diversos fatores podem interferir na resposta do animal à suplementação de fitase. Além da classe, idade e estado imunológico do animal, variações da fonte da enzima, bem como sua concentração, podem afetar de forma diferente o desempenho das aves, principalmente em rações peletizadas, visto que fitases fúngicas e bacterianas possuem diferentes modos e temperaturas ótimas de ação. Níveis de cálcio, fósforo, zinco, magnésio, cobre, aditivos, vitamina D, entre outros, também podem influenciar em tal resposta (Singh, 2008).

O aumento na digestibilidade do fósforo permite uma redução na inclusão de fosfato inorgânico à dieta, fonte essa que é não renovável e de alto custo, sendo o fósforo o terceiro nutriente mais oneroso nas formulações de rações, atrás de energia e proteína (Boling *et al.*, 2000).

A redução na excreção de minerais também é um objetivo na inclusão de fitase na ração. O impacto ambiental da produção de aves e suínos é alvo de constantes críticas, podendo causar contaminação do lençol freático e eutrofização de cursos de água. O uso de fitase, ao melhorar a digestibilidade do fósforo, reduz a eliminação desse mineral no ambiente, reduzindo o impacto dessa atividade.

Assim, o uso de fitase possui diversos benefícios à produção de aves e suínos, sendo hoje a enzima mais utilizada nas indústrias de produção animal.

2.2.3 Proteases

As enzimas proteolíticas, também conhecidas como proteases catalisam a hidrólise das ligações peptídicas em substratos proteicos, sendo classificadas de acordo com a posição onde agem. Proteases que clivam as ligações próximas ao grupo terminal do substrato são classificadas como exopeptidases, podendo ser subclassificadas em aminopeptidases (no caso de atuarem próximas ao grupamento amino) ou carboxipeptidases (quando atuam em terminais carboxílicos). Já enzimas que atuam no meio da cadeia são denominadas endopeptidases, sendo subdivididas de acordo com o grupo reativo no sítio ativo em que a lise é realizada, podendo ser serina-proteases, cisteína-proteases, aspártico-proteases ou aspártico-endopeptidases, metaloproteases ou metaloendopeptidases (Rao *et al.*, 1998).

As proteases, além de participar como agente essencial no processo digestivo, são responsáveis pelo turnover proteico, modulação enzimática, regulação da expressão gênica, esporulação de microrganismos e germinação de sementes. Seu papel na indústria é bastante conhecido, sendo empregada no tratamento de couros, produção de cervejas, queijos e pães e na fabricação de detergentes (Aehle, 2007).

Diversos benefícios são relatados com a adição de proteases endógenas nas rações, como o aumento da produção endógena de peptídeos, aumentando a digestibilidade dos aminoácidos (Bedford & Partridge, 2011), hidrólise de fatores antinutricionais, tais como a lectinas e inibidores de tripsina (Huo *et al.*, 1993; Ghazi *et al.*, 2002), e redução na excreção de nitrogênio (Dessimoni, 2011).

A utilização de proteases nas dietas para monogástricos ainda carece de informações específicas, tais como pH e temperaturas ótimos de atuação, cinética e substrato ideal bem como seu modo de ação. Pesquisas com dietas contendo proteases por vezes apresentam resultados inconsistentes, segundo Adeola & Cowieson (2011), já que proteases fúngicas e bacterianas, mesmo com respostas positivas *in vitro*, podem não apresentar os mesmos resultados *in vivo*.

A divergência entre os resultados de desempenho com uso de proteases não estão bem elucidados. Entretanto, essas respostas podem estar relacionadas à compatibilidade entre as enzimas endógenas e aquelas fornecidas na ração. Outro mecanismo passível dessa alteração é o

grau de gelatificação da proteína da soja. Em estudo realizado por Hrcakova *et al.* (2002) foi observado que o mesmo substrato tratado com diferentes proteases gerou um perfil diferente de liberação de aminoácidos, o que pode ocasionar um desbalanço aminoacídico no trato intestinal.

Apesar disso, a adição de proteases tem se mostrado benéfica na maioria das vezes, visto que a proteína é o nutriente mais oneroso das rações para monogástricos. Estudos ainda devem ser realizados para se compreender os efeitos desse tipo de enzima na fisiologia do animal, garantindo sua eficiência de utilização.

2.3 Produção de enzimas

Moléculas de enzimas, com sua estrutura tridimensional, são compostos muito complexos para serem sintetizados por meios químicos. Comercialmente, a produção de enzimas é feita a partir leveduras, fungos ou bactérias, podendo ainda ser de origem animal ou vegetal (Mascarell, J. & Ryan, M., 1997). Entre os microorganismos mais utilizados para a produção de enzimas, encontram-se os gêneros *Aspergillus sp.*, *Trichoderma sp.* e *Bacillus sp.* (Tabela 2).

Tabela 2. Principais microrganismos utilizados na produção de enzimas

Microrganismo	Principais enzimas produzidas
<i>Aspergillus niger</i>	α -amilase, β -glucanase, celulase
<i>Aspergillus ficuum</i>	Fitase
<i>Aspergillus oryzae</i>	α -amilase, protease neutra
<i>Bacillus licheniformis</i>	α -amilase
<i>Bacillus subtilis</i>	α -amilase, protease neutra, β -glucanase
<i>Trichoderma ciridar</i>	Xilanase, β -glucanase, celulase

Fonte: Mascarell, J. & Ryan, M., 1997. Adaptado.

A primeira etapa para a produção de enzimas é a seleção do microrganismo que produza a enzima desejada. Esses microrganismos geralmente são os mesmos presentes em culturas de cereais no campo, entretanto a seleção de uma cepa específica do microrganismo pode levar anos.

Um desafio desse processo é que as enzimas úteis para a nutrição animal são produzidas na natureza em pequenas quantidades, ou seus microrganismos são de difícil cultivo e podem criar compostos indesejáveis. Assim, soluções tem sido propostas, como diferentes substratos para cultivo ou transferindo-se o DNA responsável pela produção da enzima para outro microrganismo com maior capacidade de produção (Olsen, 2008).

Os microrganismos então são adicionados ao meio de cultura em tanques de fermentação com características controladas de temperatura, pressão, pH, taxa de respiração (CO₂ e O₂), oxigênio dissolvido, potencial redox, nível de espuma, fluxo de calor através do sistema de resfriamento, coeficientes de transferência de massa e de calor (Aehle, 2007). Os tanques podem ser de fluxo contínuo, com o substrato entrando à medida que é consumido, ou semi-contínuo, com os nutrientes sendo adicionados com o crescimento dos microrganismos. O substrato fermentativo é geralmente rico em amido e açúcares, podendo sofrer a adição de sais inorgânicos, e é previamente esterilizado antes de ser adicionado ao tanque.

O substrato pode ser adicionado em estado líquido (processo de fermentação submersa), onde é posteriormente filtrado e centrifugado, ou em estado de fermentação sólida, onde a água é adicionada ao substrato poroso em quantidades mínimas necessárias para garantir a fermentação e que não excedam a capacidade de retenção da matriz porosa. Esse último processo tem se mostrado mais vantajoso por ser de menor custo, de fácil manuseio e utiliza resíduos agroindustriais que em muitos casos são considerados problemas ambientais (Zanelato, 2011).

2.4 Uso na nutrição animal

O produto comercial da produção de enzimas pode se apresentar de diferentes formas. Algumas aplicações requerem produtos enzimáticos sólidos, de forma que a enzima bruta necessita ser transformada em granulados juntamente com um material inerte para sua adição nas rações. Outras aplicações necessitam de formulações líquidas, por serem mais fáceis de manusear, e podem ser dosadas juntamente com outros ingredientes líquidos (Olsen, 2008)

Dentro da formulação das rações, a adição de enzimas pode ser inserida de duas formas (Dourado, 2008). A primeira, chamada de uso "on top", consiste em utilizá-la em uma formulação dentro dos níveis nutricionais adequados para as aves, que supostamente atendem as exigências dos animais. Os nutrientes liberados com a adição da enzima serão destinados

diretamente à produção, o que permite uma melhoria do desempenho dos animais, obtendo-se assim maior rentabilidade.

Já a segunda opção, conhecida como "redução específica", preconiza a redução dos níveis de nutrientes nos quais se sabe haver atuação das enzimas dentro da formulação das rações, gerando menos gasto assim na aquisição de ingredientes, parte mais onerosa da produção. Entretanto, para que essa opção seja viável, é necessário definir pontualmente o valor da matriz da enzima. Assim, são necessárias constantes pesquisas para atualizar a matriz nutricional de acordo com que melhorias genéticas vão sendo obtidas nas linhagens comerciais dos animais.

O uso de enzimas exógenas na ração de animais monogástricos vem promovendo importantes benefícios nos sistemas de produção animal. Aves e suínos não conseguem aproveitar cerca de 15 a 25% dos valores nutricionais dos alimentos (Bedford & Partridge, 2011), seja por não produzirem enzimas em quantidade suficiente ou pela presença de fatores antinutricionais. Essa ineficiência na utilização dos nutrientes representa uma grande perda nos sistemas produtivos, visto que a nutrição é o maior constituinte do custo de produção, sendo que essa perda pode ser minimizada com a adição de enzimas às rações.

Animais monogástricos também possuem capacidade reduzida de fermentação intestinal, o que gera um problema visto que a maioria das dietas tem como principais ingredientes fontes vegetais. Dessa forma, a suplementação com enzimas exógenas pode ser considerada uma estratégia não só para melhorar a eficiência produtiva dos animais, mais para reduzir a quantidade de poluentes lançados ao meio ambiente. Ao promover o desempenho acima de níveis já estabelecidos, o uso de enzimas também se torna uma alternativa para atenuar os efeitos da retirada dos promotores de crescimento (Vieira, 2003).

A capacidade de liberação de nutrientes promovidas pelas enzimas exógenas reflete em melhorias nos parâmetros de desempenho, sendo que essas melhorias irão depender do tipo de enzima e de sua capacidade de liberação dos nutrientes, além dos fatores inerentes à ração e aos animais.

Em aves, a utilização de enzimas nas rações tem mostrado efeitos positivos sobre os parâmetros de desempenho. A suplementação de rações com fitase permite uma maior disponibilidade do fósforo, o que por sua vez gera um acréscimo no ganho e peso e conversão alimentar. Contudo, alguns autores tem verificado que a adição de fitases juntamente com outras

enzimas permite maior ganho de peso e conversão do que seu uso de forma individual (Cowieson & Adeola, 2005; Attia *et al.*, 2012).

Os níveis nutricionais utilizados na formulação das dietas também influenciam as respostas com a utilização de fitase. Alvarenga *et al.* (2011) reduziram os níveis de energia metabolizável, proteína bruta e fósforo disponível das dietas e suplementaram ou não as rações com fitase, observando que em menores níveis os animais aumentaram o consumo para compensar as deficiências nutricionais. Entretanto, a adição da enzima permitiu que os parâmetros de desempenho se mantivessem semelhantes aos animais que receberam dietas formuladas na exigência das aves, mesmo com níveis reduzidos de nutrientes.

Carboidrases também tem sido utilizadas para promover o desempenho dos frangos de corte, principalmente em dietas a base de cereais de inverno. Esses cereais, como trigo e centeio, possuem grande quantidade de polissacarídeos não amiláceos, o que justifica maior efeito das enzimas em dietas com essas ingredientes. Cowieson & Adeola (2005) suplementaram com diversas carboidrases dietas à base de arroz, e compararam os resultados com um controle positivo à base de milho e farelo de soja. A adição das enzimas reduziu os efeitos negativos da dieta com arroz, aumentando ganho de peso e a conversão alimentar dos frangos aos 28 dias de idade.

A adição de carboidrases pode não se mostrar eficiente em dietas à base de milho e soja. Esses ingredientes também apresentam fatores antinutricionais em sua composição, mas a quantidade desses compostos nem sempre afeta o desempenho dos animais. Yegani & Korver (2013) relatam que os níveis de PNAs do milho e da soja não proporcionam grandes problemas aos animais, e não encontraram melhorias na suplementação enzimática nessa situação.

Dietas com suplementação de proteases, embora não sejam tão comuns quanto fitases e carboidrases, também possibilitam melhorias nas características de desempenho. Dessimoni (2011) comparou a adição de proteases em dietas formuladas nas exigências dos animais ou com redução aminoacídica considerando uma digestibilidade 20 ou 40% superior a real, e concluiu que mesmo a valorização de 40% da digestibilidade não altera o desempenho dos animais, quando suplementados com proteases.

Proteases melhoram os parâmetros produtivos não só pelo aumento na digestibilidade dos aminoácidos. Freitas *et al.* (2011) suplementando dietas à base de milho e soja observaram melhorias nas características de desempenho de frangos de corte e na digestibilidade da proteína

bruta. Aliado a isso, os autores relataram um aumento na digestibilidade da gordura da dieta, causado pela adição da protease em dietas com proteína e energia elevadas. Um aumento na energia metabolizável aparente da dieta também foi observado por Marcarello *et al.*(2010), adicionando uma serina protease nas rações para perus.

Uma das formas de mensurar a efetividade da adição de enzimas em animais é através da determinação da energia metabolizável. A energia é um produto resultante da oxidação dos nutrientes e é utilizada em diversos processos no organismo, que envolvem desde a manutenção até o máximo potencial produtivo da ave (Rodrigues *et al.*,2002). A adição de enzimas à ração promove uma maior disponibilidade de energia para o animal, possibilitando que parâmetros de desempenho sejam melhorados.

Devido à energia ser o componente mais caro das dietas, o aumento da utilização da energia através da adição de enzimas pode ser uma alternativa lucrativa. Apesar do milho e farelo de soja serem consideradas dietas de alta digestibilidade, melhorias no desempenho com adição de enzimas vem sendo relatados. Brito *et al.* (2006) encontraram aumento de 4,8% na digestibilidade da energia ao avaliar o efeito da adição de um complexo enzimático em diferentes níveis de processamento da soja.

Estudos com diferentes enzimas e complexos enzimáticos vem sendo realizados, com enfoque na melhoria da qualidade e segurança dos alimentos, no potencial de atividade em diferentes fases do desenvolvimento da aves, com dosagens diferentes, afim de promover melhor digestibilidade do efeito dessas enzimas no organismo do animal, de acordo com o tipo de alimento utilizado (Cowieson *et al.*, 2006).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEOLA, O. & COWIESON, A. J.; BOARD-INVITED REVIEW: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of Animal Science**, v. 89: p. 3189–3218, 2011.
- AEHLE, W. **Enzymes in Industry – production and applications**, 3rd ed., Wiley-VCH Verlag, 2007.
- ALBINO, L.F.T.; TAVERNARI, F.C. **Produção e Manejo de Frangos de Corte**. Série Didática, Editora UFV. 88p. 2008.
- ALVARENGA, R.R.; ZANGERÔNIMO, M.G. & ALVARENGA, R.R. de. Adição de fitase em rações para frangos de corte. **Pubvet**, v.2, n.17, 2008.
- ATTIA, Y. A., EL-TAHAWY, W. S., EL-HAMID , A., EL-HAMID, E. A., HASSAN, S. S., EL-KELAWAY, M. I. Effect of phytase with or without multienzyme supplementation on performance and nutrient digestibility of young broiler chicks fed mash or crumble diets. **Italian Journal of Animal Science**; volume 11:e56. 2012.
- BARRIER-GUILLOT, B.; CASADO, P.; MAUPETIT, P.; JONDREVILLE, C.; GATEL, F. Wheat phosphorus availability. 1. In vitro study; factors affecting endogenous phytasic activity and phytic phosphorus content. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Essex, v. 70, p. 62-68, 1996.
- BEDFORD, M.R. & PARTRIDGE, G.G. (2 °Ed.) **Enzymes in farm animal nutrition**. Oxford: CAB PUBLISHING, 2011.
- BIRGE, S. J., and R. C. AVIOLI. 1981. Intestinal phosphate transport and alkaline phosphatase activity in the chick. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism** 240:384–390.

- BRITO C.O., ALBINO L.F.T., ROSTAGNO H.S., GOMES, P.C., CARVALHO, D. C. O., CORASSA, A. Adição de complexo multienzimático em dietas à base de soja extrusada e desempenho de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 35(2):457-461, 2006.
- BOLING, S.D. DOUGLAS, M.W. JOHNSON, M.L. *et al.* The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens. **Poultry Science**. v.79, p. 535- 538, 2000.
- CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. Enzimas. In: **Bioquímica ilustrada**. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, p.53-66. 1989.
- CHERRY, J.R.; FIDANTSEF. A.L.; Directed evolution of industrial enzymes: an update. **Current Opinion in Biotechnology**. V.14, p.438-443, 2003.
- CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 13, p. 297-355, 1980.
- CLEÓPHAS, G.M.L.; Van HARTINGSVELDT, W.; SOMERS, W.A.C. *et al.* Enzymes can play an important role in poultry nutrition. *World Poultry*, v.11, n.4, p.12 – 15. 1995.
- COWIESON, A. J. & ADEOLA, O. Carbohydrases, Protease, and Phytase Have an Additive Beneficial Effect in Nutritionally Marginal Diets for Broiler Chicks. **Poultry Science**, 2005.
- COWIESON, A. J.; HRUBY, M.; PIERSON, E. E. M. Evolving enzyme technology: Impact on commercial poultry nutrition. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 19, n. 1, p. 1-15, 2006
- CUNEO, Florencia; AMAYA-FARFAN, J.; CARRARO, Francisco. Distribuição dos fitatos em farelo de arroz estabilizado e tratado com fitase exógena. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1, Apr. 2000
- DESSIMONI, G. V. Planos nutricionais com suplementação de protease em dietas de frangos de corte. Tese de doutorado. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina, 2011.

- DOURADO, L. R. B. Enzimas exógenas em dietas para frangos de corte. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2008.
- FRANCESCH, M.; AND GERAERT, P. A. Enzyme complex containing carbohydrases and phytase improves growth performance and bone mineralization of broilers fed reduced nutrient corn-soybean-based diets. **Poultry Science**, 88 :1915–1924. 2009
- FREITAS, D. M. VIERIA, 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**. 20 :322–334, 2011
- GHAZI, S., ROOKE, J.A., GALBRAITH, H. AND BEDFORD, M.R. The potential for the improvement of the nutritive value of soya-bean meal by different proteases in broiler chicks and broiler cockerels. **British Poultry Science**. 43, 70–77, 2002.
- HRCKOVA, M., RUSNAKOVA, M. and ZEMANOVIC, J.. Enzymatic hydrolysis of defatted soy flour by three different proteases and their effect on the functional properties of resulting protein hydrolysates. **Czech Journal of Food Science**. 20:7–14.2002
- HUO, G.C., FOWLER, V.R., INBORR, J. AND BEDFORD, M.R. (1993) The use of enzymes to denature antinutritive factors in soybean. In: *2nd Workshop on ANFs in Legume Seed*, v Wageningen, the Netherlands, paper 60.
- MAENZ, D. D., and H. L. CLASSEN. Phytase activity in the small intestinal brush border membrane of the chicken. **Poultry Science**. 77:557–563,1998
- MAENZ, D. D. Enzymatic characteristics of phytases as they relate to their use in animal feeds. Pages 61–84 in **Enzymes in Farm Animal Nutrition**. M. R. Bedford and G. G. Partridge, ed. CABI Publishing. 2001.
- MANANGI, M.K. & COON, C.K.. Evaluation of phytase enzyme with chicks fed basal diets containing different soyabean meal samples. **Journal of Applied Poultry Research**.15(2):292-306. 2006
- MARSMAN, G. J., H. GRUPPEN, A. F. VAN DER POEL, R. P. KWAKKEL, M. W. VERSTEGEN, AND A. G. VORAGEN. The effect of thermal processing and enzyme treatments of soybean

meal on growth performance, ileal nutrient digestibilities, and chyme characteristics in broiler chicks. **Poultry Science**. 76:864–872. 1997.

MASCARELL J., RYAN, M., Technical aspects of enzyme utilization : Dry vs liquid enzymes. In : Moran d-Feh r P. (ed.). **Feed manufacturing in Southern Europe: New challenges**. Zaragoza : CIHEAM, 1997 . p. 161 -174 (Cahiers Options Méditerranéennes; n . 26)

MASCARELLO, N. C .M.; FURTADO, F. V .F.; XAVIER, P.S. *et al.* 2010 Efeito da Adição de uma Serina Protease em Dietas de Perus. Simpósio de Ensino e Pesquisa, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 13, DE 30 DE NOVEMBRO DE 2004. Regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. Brasília, 30 DE NOVEMBRO DE 2004.

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

OLSEN, HS. Enzymes at work. Novozymes A/S. 2008 Disponível em: http://www.novozymes.com/en/about-us/brochures/documents/enzymes_at_work.pdf Acesso: 10/05/2013

OSHIMA, M., T. G. TAYLOR, and A. WILLIAMS. 1964. Variations in the concentration of phytic acid in the blood of the domestic fowl. **Biochemistry Journal**. 92:42–46.

RAO, M. B.; *et al.* Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Molecular and Reviews**. v.62, n. 3, p. 597-635, 1998.

REDDY, N.R., SATHE, S.K., SALUNKHE, D.K. Phytates in legumes and cereals. **Advances in Food Research**, v.28, p.1-92, 1982.

ROSA, A.P.; UTPATEL, R. Uso de enzimas nas dietas para frangos de corte. *In*: VIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 2007, Chapecó, SC. Anais. Chapecó, 2007, p.102-115.

- SCHLEMMER, U.; JANY, K.-D.; BERK, A.; SCHULZ, E.; AND RECHKEMMER, G. Degradation of phytate in the gut of swine—Pathway of gastro-intestinal inositol phosphate hydrolysis and enzymes involved. **Archives of Animal Nutrition**. 55:255–280. 2001
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**. v.135, p.1- 41, 2007.
- SOUZA, R.M. Uso de complexo enzimático em rações fareladas e peletizadas para frangos de corte. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005
- STRYER, L. **Bioquímica**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. 1000p.
- SINGH, P.K. Significance of phytic acid and supplemental phytase in chicken nutrition: a review. **World's Poultry Science Journal**, Vol. 64, 2008
- TAVERNARI, F.C.; CARVALHO, T.A.; ASSIS, A.P.; LIMA, H.J.D. Polissacarídeo não-amiláceo solúvel na dieta de suínos e aves. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.5, n.5, p.673-689. 2008.
- VAHOUNY, G. V., Dietary fiber, lipid metabolism and atherosclerosis, **Federation Proceeding**. 41:2801–2896. 1982
- VIEIRA S. L. Oportunidade para o uso de enzimas em dietas vegetarianas. Simpósio Brasil sul de Avicultura, 4., 2003, Chapecó. Anais... Chapecó: EMBRAPA, 2003, p.91 95.
- YEGANI, M & KORVER, D. R. Effects of corn source and exogenous enzymes on growth performance and nutrient digestibility in broiler chickens. **Poultry Science**. v.92, p. 1208-1220, 2013.
- ZANELATO, A. I.. Produção de enzimas celulolíticas por fermentação em estado sólido em bioreator de leito fixo. Dissertação de Mestrado.Universidade Estadual Julio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, SP. 116 f. : il.; 2011
- WENK, C. What are the benefits of carbohydrases in the nutrition of monogastric farm animals? *In*: SYMPOSIUM KARTAUSE ITTINGEN, 1993, **Switzerland**. **Enzymes in animal nutrition: proceedings**. Switzerland. [s.n.], p.41-48. 1993.

CAPÍTULO 1

USO DE COMPLEXO ENZIMÁTICO EM RAÇÕES COM DIFERENTES NÍVEIS NUTRICIONAIS SOBRE O DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

1. INTRODUÇÃO

A sustentabilidade nos últimos anos é um dos maiores desafios da produção animal. Com o aumento da exigência do mercado, diversos segmentos da produção animal buscam inovações que permitam a sustentabilidade sem que existam riscos ao consumidor e ao meio ambiente. Assim, indústria abre mão da utilização de quimioterápicos melhoradores de desempenho e adota na formulação das dietas estratégias para reduzir a excreção de minerais no ambiente, tais como a utilização de aminoácidos industriais e aditivos que possam aumentar a digestibilidade das dietas.

Nesse cenário, o uso de enzimas exógenas passa a ser uma excelente alternativa para atender as exigências do consumidor. A utilização de nutrientes antes indisponíveis aos animais permite melhorias no ganho de peso e redução na conversão alimentar, ao mesmo tempo que reduzem a excreção desses compostos no ambiente. Além disso, não existem contra indicações ao uso de enzimas nas rações fornecidas aos animais, o que contribui para uma visão positiva frente ao mercado consumidor.

Dependendo do tipo de enzimas utilizados na dieta, pode-se reduzir níveis energéticos das rações, aumentar a disponibilidade de fósforo, cálcio e aminoácidos. Entretanto, um desbalanço na oferta de nutrientes pode ser prejudicial ao metabolismo animal, devendo-se conhecer previamente as especificidades das enzimas perante diferentes substratos presentes nas rações.

O uso de enzimas na alimentação animal depende de diversos fatores, tais como a idade e status imunológico do animal, temperatura ambiental, tipo de dieta fornecida, manejo, entre outros. Os ingredientes utilizados na formulação das rações fazem com que a ação desse aditivo também possa se dar de diferentes maneiras, já que a maioria dos estudos é baseado em dietas à base de milho e farelo de soja, bem como a forma de inclusão também gera diferentes resultados.

Diante disso, foram desenvolvidos três experimentos para avaliar um complexo enzimático em rações com diferentes níveis nutricionais sobre o desempenho de frangos de corte nas fases de 1 a 21 dias, 21 a 35 dias e 36 a 49 dias de idade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi previamente aprovada pelo Comitê de Ética (CEUA/UFV) sob o processo nº 23/2013, estando de acordo com os princípios éticos da experimentação animal.

2.1. Experimento I - Complexo de enzimas em rações com diferentes níveis nutricionais sobre o desempenho de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade.

O experimento foi realizado no setor de avicultura da Universidade Federal de Viçosa no período de setembro a outubro de 2012, sendo utilizados 2000 pintos machos da linhagem Cobb com peso médio de 37,9g, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado e alojados em galpão dividido em boxes de 1,0 m x 1,5 m, forrados com cama de maravalha.

Os tratamentos experimentais podem ser observados na tabela 1. O complexo enzimático (C.E.) utilizado foi produzido à partir do fungo *Aspergillus niger* em estado de fermentação sólida, composto pelas enzimas fitase (300u/g), protease (700u/g), xilanase (100u/g), β -glucanase (200u/g), celulase (40u/g), amilase (30u/g) e pectinase (4000u/g), cedido gentilmente pela empresa Alltech, e cuja recomendação foi de 200g/ton, em substituição ao amido.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 2x4 (com e sem adição do complexo enzimático em 4 níveis nutricionais), totalizando 8 tratamentos e 10 repetições de 25 aves por unidade experimental. Foram utilizadas rações fareladas à base de milho e soja, sendo que as rações controle (NN1 e NN1+CE) foram formuladas para atenderem as exigências nutricionais das aves para essa fase (Rostagno *et al.*, 2011), e a partir delas realizadas reduções de 56kcal, 0,075% de fósforo disponível e 0,019% na lisina digestível (NN2 e NN2+CE); 75kcal, 0,1% de fósforo disponível e 0,025% na lisina digestível (NN3 e NN3+CE); e 94kcal, 0,125% de fósforo disponível e 0,031% na lisina digestível (NN4 e NN4+CE), com adição ou não do complexo enzimático nas dietas. A composição centesimal das dietas estão apresentados na tabela 2.

Tabela 1: Tratamentos com diferentes níveis nutricionais para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, com e sem suplementação do complexo enzimático (CE).

	Tratamento	Energia Metabolizável (kcal/kg)	Fósforo disponível (%)	Cálcio (%)	Lisina digestível (%)
T1	Nível Nutricional 1 (NN1)	3000	0,400	0,852	1,170
T2	Nível Nutricional 1+ Complexo Enzimático (NN1+ CE)	3000	0,400	0,852	1,170
T3	Nível Nutricional 2 (NN2) ¹	2944	0,325	0,777	1,151
T4	Nível Nutricional 2+ Complexo Enzimático (NN2+CE) ¹	2944	0,325	0,777	1,151
T5	Nível Nutricional 3 (NN3) ²	2925	0,300	0,752	1,145
T6	Nível Nutricional 3+ Complexo Enzimático (NN3+CE) ²	2925	0,300	0,752	1,145
T7	Nível Nutricional 4 (NN4) ³	2906	0,275	0,727	1,139
T8	Nível Nutricional 4+ Complexo Enzimático (NN4+CE) ³	2906	0,275	0,727	1,139

¹Valorização de 75% da matriz nutricional do complexo enzimático;

² Valorização de 100% da matriz nutricional do complexo enzimático;

³ Valorização de 125% da matriz nutricional do complexo enzimático;

As aves foram pesadas ao primeiro dia e aos 21 de idade para determinação do ganho de peso. Foram registrados os fornecimentos e as sobras de rações para posterior cálculo do consumo e da conversão alimentar. Durante o período experimental foram registradas as mortes para correção do consumo e cálculo de viabilidade. As temperaturas mínimas e máximas foram registradas diariamente utilizando-se dois termômetros dentro do galpão, na altura dos animais.

Os parâmetros avaliados foram: ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e viabilidade.

Tabela 2: Composição centesimal das rações experimentais do experimento 1.

Alimento	NN 1	NN 2	NN 3	NN 4
Milho	57,39	60,52	61,40	62,54
Farelo de Soja	36,12	34,84	34,55	34,04
Óleo de Soja	2,51	1,00	0,52	-
Fosfato Bicálcico	1,55	1,15	1,01	0,88
Calcário	0,98	1,05	1,07	1,09
Sal comum	0,48	0,48	0,48	0,48
DL-Metionina, 99%	0,272	0,265	0,260	0,259
L-Lisina HCl, 78,5%	0,169	0,180	0,179	0,185
L-Treonina, 98%	0,040	0,038	0,037	0,037
Suplemento Mineral ¹	0,110	0,110	0,110	0,110
Suplemento Vitaminico ²	0,110	0,110	0,110	0,110
Amido ³	0,100	0,100	0,100	0,100
Cloreto de Colina 60%	0,100	0,100	0,100	0,100
Anticoccidiano ⁴	0,055	0,055	0,055	0,055
Antioxidante	0,010	0,010	0,010	0,010
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição química calculada				
Proteína Bruta (%)	21,19	20,86	20,80	20,66
Energia Met. (kcal/kg)	3.000	2.944	2.925	2.906
Fibra Bruta (%)	2,907	2,893	2,894	2,886
Gordura (%)	5,210	3,798	3,347	2,858
Cálcio (%)	0,852	0,777	0,752	0,727
Fósforo Total (%)	0,632	0,558	0,534	0,510
Fósforo Disp. (%)	0,400	0,325	0,300	0,275
Fósforo Dig. (%)	0,347	0,296	0,278	0,261
Sódio (%)	0,210	0,210	0,210	0,210
Lisina Total (%)	1,273	1,253	1,247	1,240
Lisina Dig. (%)	1,170	1,151	1,145	1,139
Metionina Total (%)	0,578	0,568	0,563	0,560
Metionina Dig. (%)	0,552	0,542	0,538	0,535
Met + Cis Total (%)	0,921	0,908	0,903	0,898
Met + Cis. Dig. (%)	0,842	0,829	0,824	0,820
Treonina Total (%)	0,866	0,851	0,847	0,843
Treonina Dig. (%)	0,761	0,748	0,744	0,740
Arginina Dig. (%)	1,340	1,310	1,304	1,292
Valina Total (%)	1,011	0,994	0,991	0,984
Valina Dig. (%)	0,901	0,886	0,883	0,877

¹Premix mineral contendo por kg de ração: Ferro - 55,0 mg; Cobre - 11,0 mg; Manganês - 77,0 mg; Zinco - 71,5 mg; Iodo - 1,10 mg; Selênio - 0,330 mg;

² Suplemento vitamínico contendo por kg de ração: Vit. A - 8250 U.I.; Vit. D3 - 2090 U.I.; Vit. E - 31,0 U.I.; Vit. B1 - 2,20 mg; Vit. B2 - 5,50 mg; Vit. B6 - 3,08 mg; Vit. B12 - 0,013 mg; Ácido Pantotênico - 11,0 g; Biotina - 0,077 mg; Vit. K3 - 1,65 mg; Ácido Fólico - 0,77 mg; Ácido nicotínico - 33,0 mg;

³ Nas dietas com complexo enzimático, o mesmo foi adicionado em substituição ao amido;

⁴ Coxistac: (Salinomicina sódica 12%)

2.2. Experimento II - Complexo de enzimas em rações com diferentes níveis nutricionais sobre o desempenho de frangos de corte de 21 a 35 dias de idade com ou sem suplementação de complexo enzimático.

O experimento foi realizado no setor de avicultura da Universidade Federal de Viçosa no período de novembro a dezembro de 2012. Foram utilizados 1600 pintos machos da linhagem Cobb com peso médio de 805,5g, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado e alojados em galpão dividido em boxes de 1,0 m x 1,5 m, forrados com maravalha. De 1 a 20 dias os animais foram criados em círculo de proteção, recebendo uma dieta à base de milho e farelo de soja sem qualquer adição de enzimas.

Os tratamentos podem ser observados na tabela 3. O complexo enzimático (C.E.) utilizado foi produzido à partir do fungo *Aspergillus niger* em estado de fermentação sólida, composto pelas enzimas fitase (300u/g), protease (700u/g), xilanase (100u/g), β -glucanase (200u/g), celulase (40u/g), amilase (30u/g) e pectinase (4000u/g), cedido gentilmente pela empresa Alltech, e cuja recomendação foi de 200g/ton, em substituição ao amido.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 2x4 (com e sem adição do complexo enzimático em 4 níveis nutricionais), totalizando 8 tratamentos e 10 repetições de 20 aves por unidade experimental. Foram utilizadas rações fareladas à base de milho e farelo de soja, sendo que as rações controle (NN1 e NN1+CE) foram formuladas para atenderem as exigências nutricionais das aves para essa fase (Rostagno *et al.*, 2011), e a partir delas realizadas reduções de 56kcal, 0,075% de fósforo disponível e 0,019% na lisina digestível (NN2 e NN2+CE); 75kcal, 0,1% de fósforo disponível e 0,025% na lisina digestível (NN3 e NN3+CE); e 94kcal, 0,125% de fósforo disponível e 0,031% na lisina digestível (NN4 e NN4+CE), com adição ou não do complexo enzimático nas dietas. A composição centesimal das dietas estão apresentados na tabela 4.

Tabela 3: Tratamentos com diferentes níveis nutricionais para frangos de corte de 21 a 35 dias de idade, com e sem suplementação do complexo enzimático (CE).

	Tratamento	Energia Metabolizável (kcal/kg)	Fósforo disponível (%)	Cálcio (%)	Lisina digestível (%)
T1	Nível Nutricional 1 (NN1)	3150	0,340	0,730	1,050
T2	Nível Nutricional 1+ Complexo Enzimático (NN1+CE)	3150	0,340	0,730	1,050
T3	Nível Nutricional 2 (NN2) ¹	3094	0,265	0,655	1,031
T4	Nível Nutricional 2+ Complexo Enzimático (NN2+CE) ¹	3094	0,265	0,655	1,031
T5	Nível Nutricional 3 (NN3) ²	3075	0,240	0,630	1,025
T6	Nível Nutricional 3+ Complexo Enzimático (NN3+CE) ²	3075	0,240	0,630	1,025
T7	Nível Nutricional 4 (NN4) ³	3056	0,215	0,605	1,019
T8	Nível Nutricional 4+ Complexo Enzimático (NN4+CE) ³	3056	0,215	0,605	1,019

¹Valorização de 75% da matriz nutricional do complexo enzimático;

² Valorização de 100% da matriz nutricional do complexo enzimático;

³ Valorização de 125% da matriz nutricional do complexo enzimático;

As aves foram pesadas aos 21 dias e aos 35 dias de idade para determinação do ganho de peso. Foram registrados os fornecimentos e as sobras de rações para posterior cálculo do consumo e da conversão alimentar. Durante o período experimental foram registradas as mortes para correção do consumo e cálculo de viabilidade. As temperaturas mínimas e máximas foram registradas diariamente utilizando-se dois termômetros dentro do galpão, na altura dos animais

Os parâmetros avaliados foram: ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e viabilidade.

Tabela 4: Composição centesimal das rações experimentais do experimento 2.

Alimento	NN 1	NN 2	NN 3	NN 4
Milho	61,16	64,30	65,27	66,32
Farelo de Soja	31,33	30,04	29,68	29,25
Óleo de Soja	4,02	2,51	2,02	1,51
Fosfato Bicálcico	1,27	0,87	0,73	0,60
Calcário	0,86	0,93	0,95	0,98
Sal comum	0,46	0,46	0,46	0,46
DL-Metionina, 99%	0,240	0,231	0,228	0,225
L-Lisina HCl, 78,5%	0,164	0,174	0,176	0,180
L-Treonina , 98%	0,027	0,025	0,024	0,024
Suplem. Mineral ¹	0,100	0,100	0,100	0,100
Suplem. Vitaminico ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Amido ³	0,100	0,100	0,100	0,100
Cloreto de Colina 60%	0,100	0,100	0,100	0,100
Anticoccidiano ⁴	0,055	0,055	0,055	0,055
Antioxidante	0,010	0,010	0,010	0,010
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição química calculada				
Proteína Bruta (%)	19,29	18,96	18,87	18,76
Energia Met. (kcal/kg)	3.150	3.094	3.075	3.056
Fibra Bruta (%)	2,719	2,705	2,702	2,697
Gordura (%)	6,769	5,357	4,982	4,415
Cálcio (%)	0,730	0,655	0,630	0,605
Fósforo Total (%)	0,563	0,489	0,465	0,440
Fósforo Disp. (%)	0,340	0,265	0,240	0,215
Fósforo Dig. (%)	0,303	0,251	0,234	0,217
Sódio (%)	0,200	0,200	0,200	0,200
Lisina Total (%)	1,144	1,124	1,118	1,111
Lisina Dig. (%)	1,050	1,031	1,025	1,019
Metionina Total (%)	0,523	0,512	0,508	0,505
Metionina Dig. (%)	0,500	0,489	0,485	0,482
Met + Cis Total (%)	0,840	0,826	0,820	0,816
Met + Cis. Dig. (%)	0,767	0,753	0,748	0,744
Treonina Total (%)	0,779	0,765	0,761	0,757
Treonina Dig. (%)	0,683	0,670	0,666	0,662
Arginina Dig. (%)	1,201	1,171	1,163	1,153
Valina Total (%)	0,919	0,902	0,897	0,892
Valina Dig. (%)	0,819	0,804	0,800	0,795

¹Premix mineral contendo por kg de ração: Ferro – 37,5 mg; Cobre - 7,5 mg; Manganês - 53,0 mg; Zinco – 48,8 mg; Iodo - 0,75 mg; Se -0,225

²Suplemento vitamínico contendo por kg de ração: Vit. A - 5625 U.I.; Vit. D3 -1425 U.I.; Vit. E - 21 U.I.; Vit. B1 - 1,50 mg; Vit. B2 -3,75 mg; Vit. B6 -2,10 mg; Vit. B12 - 0,009 mg; Ácido Pantotênico - 7,5 g; Biotina - 0,053 mg; Vit. K3 - 1,65 mg; Ácido Fólico - 0,525 mg; Ácido nicotínico - 22,5 mg;;

³Nas dietas com complexo enzimático, o mesmo foi adicionado em substituição ao amido;

⁴Coxistac: (Salinomicina sódica 12%)

2.3. Experimento III - Complexo de enzimas em rações com diferentes níveis nutricionais sobre o desempenho de frangos de corte de 36 a 49 dias de idade.

O experimento foi realizado no setor de avicultura da Universidade Federal de Viçosa no período de outubro a novembro de 2012, foram utilizados 1200 pintos machos da linhagem Cobb com peso médio de 1854,7g, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado e alojados em galpão dividido em boxes de 1,0 m x 1,5 m, forrados com maravalha. De 1 a 35 dias os animais foram criados em círculo de proteção, recebendo uma dieta à base de milho e farelo de soja específicos pra cada fase, sem qualquer adição de enzimas.

Os tratamentos podem ser observados na tabela 5. O complexo enzimático (C.E.) utilizado foi produzido à partir do fungo *Aspergillus niger* em estado de fermentação sólida composto pelas enzimas fitase (300u/g), protease (700u/g), xilanase (100u/g), β -glucanase (200u/g), celulase (40u/g), amilase (30u/g) e pectinase (4000u/g), cedido gentilmente pela empresa Alltech, e cuja recomendação foi de 200g/ton, em substituição ao amido.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 2x4 (com e sem adição do complexo enzimático em 4 níveis nutricionais), totalizando 8 tratamentos e 10 repetições de 15 aves por unidade experimental. Foram utilizadas rações fareladas à base de milho e farelo de soja, sendo que as rações controle (NN1 e NN1+CE) foram formuladas para atenderem as exigências nutricionais das aves para essa fase (Rostagno *et al.*, 2011), e a partir delas realizadas reduções de 56kcal, 0,075% de fósforo disponível e 0,019% na lisina digestível (NN2 e NN2+CE); 75kcal, 0,1% de fósforo disponível e 0,025% na lisina digestível (NN3 e NN3+CE); e 94kcal, 0,125% de fósforo disponível e 0,031% na lisina digestível (NN4 e NN4+CE), com adição ou não do complexo enzimático nas dietas. A composição centesimal das dietas estão apresentados na tabela 6.

As aves foram pesadas aos 36 dias e aos 46 dias de idade para determinação do ganho de peso. Foram registrados os fornecimentos e sobra de rações para posterior cálculo do consumo e da conversão alimentar nas respectivas fases. Durante o período experimental foram registradas as mortes para correção do consumo e cálculo de viabilidade. As temperaturas mínimas e máximas foram registradas diariamente utilizando-se dois termômetros dentro do galpão, na altura dos animais

Tabela 5: Tratamentos com diferentes níveis nutricionais para frangos de corte de 36 a 49 dias de idade, com e sem suplementação do complexo enzimático (CE).

	Tratamento	Energia Metabolizável (kcal/kg)	Fósforo disponível (%)	Cálcio (%)	Lisina digestível (%)
T1	Nível Nutricional 1 (NN1)	3225	0,290	0,630	1,000
T2	Nível Nutricional 1+ Complexo Enzimático (NN1+CE)	3225	0,290	0,630	1,000
T3	Nível Nutricional 2 (NN2) ¹	3169	0,215	0,555	0,981
T4	Nível Nutricional 2+ Complexo Enzimático (NN2+CE) ¹	3169	0,215	0,555	0,981
T5	Nível Nutricional 3 (NN3) ²	3150	0,190	0,530	0,975
T6	Nível Nutricional 3+ Complexo Enzimático (NN3+CE) ²	3150	0,190	0,530	0,975
T7	Nível Nutricional 4 (NN4) ³	3131	0,165	0,505	0,969
T8	Nível Nutricional 4+ Complexo Enzimático (NN4+CE) ³	3131	0,165	0,505	0,969

¹Valorização de 75% da matriz nutricional do complexo enzimático;

² Valorização de 100% da matriz nutricional do complexo enzimático;

³ Valorização de 125% da matriz nutricional do complexo enzimático;

Os parâmetros avaliados foram: ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar, viabilidade e índice de eficiência produtiva, calculado pela fórmula ((Peso médio final, kg) x (100 – Mortalidade)/ (Idade de abate) x (Conversão alimentar)) x 100.

Tabela 6: Composição centesimal das rações experimentais do experimento 3.

Alimento	NN 1	NN 2	NN 3	NN 4
Milho	63,20	66,33	67,31	68,36
Farelo de Soja	29,01	27,72	27,35	26,92
Óleo de Soja	4,69	3,18	2,69	2,18
Fosfato Bicálcico	1,02	0,62	0,48	0,35
Calcário	0,77	0,84	0,86	0,89
Sal comum	0,44	0,44	0,44	0,44
DL-Metionina, 99%	0,223	0,214	0,212	0,208
L-Lisina HCl, 78,5%	0,172	0,182	0,184	0,188
L-Treonina , 98%	0,024	0,024	0,023	0,023
Suplemento Mineral ¹	0,075	0,075	0,075	0,075
Suplemento Vitaminico ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Amido ³	0,100	0,100	0,100	0,100
Cloreto de Colina 60%	0,100	0,100	0,100	0,100
Anticoccidiano ⁴	0,055	0,055	0,055	0,055
Antioxidante	0,010	0,010	0,010	0,010
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição química calculada				
Proteína Bruta (%)	18,40	18,06	17,98	17,86
Energia Met. (Mcal/kg)	3.225	3.169	3.150	3.131
Fibra Bruta (%)	2,631	2,617	2,614	2,610
Gordura(%)	7,473	6,061	5,595	5,119
Fósforo Total (%)	0,509	0,435	0,411	0,386
Fósforo Disp. (%)	0,290	0,215	0,190	0,165
Fósforo Dig. (%)	0,267	0,215	0,198	0,181
Cálcio (%)	0,630	0,555	0,530	0,505
Sódio (%)	0,195	0,195	0,195	0,195
Lisina Total (%)	1,090	1,070	1,063	1,057
Lisina Dig. (%)	1,000	0,981	0,975	0,969
Metionina Total (%)	0,496	0,485	0,481	0,477
Metionina Dig. (%)	0,473	0,462	0,459	0,455
Met + Cistina Total(%)	0,801	0,786	0,782	0,776
Met + Cist. Dig. (%)	0,730	0,716	0,712	0,707
Treonina Total (%)	0,743	0,729	0,725	0,721
Treonina Dig. (%)	0,650	0,638	0,634	0,630
Arginina Dig. (%)	1,134	1,104	1,096	1,086
Valina Total(%)	0,875	0,858	0,854	0,848
Valina Dig. (%)	0,780	0,765	0,761	0,756

¹Premix mineral contendo por kg de ração: Ferro – 37,5 mg; Cobre - 7,5 mg; Manganês - 53,0 mg; Zinco – 48,8 mg; Iodo - 0,75 mg; Se -0,225

² Suplemento vitamínico contendo por kg de ração: Vit. A - 5625 U.I.; Vit. D3 -1425 U.I.; Vit. E - 21 U.I.; Vit. B1 - 1,50 mg; Vit. B2 -3,75 mg; Vit. B6 - 2,10 mg; Vit. B12 - 0,009 mg; Ácido Pantotênico - 7,5 g; Biotina - 0,053 mg; Vit. K3 - 1,65 mg; Ácido Fólico - 0,525 mg; Ácido nicotínico - 22,5 mg;;

³ Nas dietas com complexo enzimático, o mesmo foi adicionado em substituição ao amido;

⁴ Coxistac: (Salinomicina sódica 12%)

2.4 Análises Estatísticas

Os dados foram analisados de acordo com modelo inteiramente casualizado utilizado procedimento ANOVA contido no programa computacional SAEG da Universidade Federal de Viçosa, com os fatores sem e com adição de complexo enzimático (2), níveis de nutrientes (4) e interações como efeitos fixos. Diferenças entre as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste SNK com a significância de $P < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Experimento I - Desempenho no período de 1 a 21 dias de idade

Na tabela 7 encontram-se os valores de temperatura, registrados nos termômetros de máxima e mínima, em pontos estratégicos do galpão, no período de 1 a 21 dias.

Tabela 7: Temperaturas registradas no período de 1 a 21 dias, em °C.

Período	Termômetro 1		Termômetro 2		Média		Mediana	
	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.
1-7 dias	32,0	21,1	31,7	21,7	31,9	21,5	32	21,5
8-14 dias	31,7	20,7	32,6	20,1	32,1	20,2	31,5	20,5
15-21 dias	30,8	21,8	31,5	19,8	31,1	20,8	32,1	20,2

Segundo Albino & Tavernari (2008), as temperaturas de conforto na fase inicial são maiores que nas demais, entre 32° e 26°C, devido ao fato do pintinho não possuir um sistema termorregulatório eficiente, necessitando de uma fonte de calor externa. As temperaturas registradas nessa fase foram suficientes para garantir aos animais conforto térmico.

De 1 a 21 dias de idade, não foi observado interação significativa ($P < 0,05$) entre os níveis de nutrientes e a adição do complexo enzimático. Na análise dos fatores isoladamente (Tabela 8), foi observado que independente da adição do complexo enzimático a redução dos níveis nutricionais promoveu uma redução do ganho de peso, consumo de ração e índice de eficiência produtiva, e aumento da conversão alimentar.

Tabela 8: Ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e viabilidade de frangos de corte consumindo rações com e sem complexo enzimático (CE) e com diferentes níveis nutricionais no período de 01 a 21 dias de idade.

	Nível Nutricional				P valor	Complexo Enzimático		P valor	CV (%)
	NN1	NN2	NN3	NN4		Sem C.E.	Com C.E.		
GP (g)	667 ^A	634 ^B	603 ^C	590 ^C	0,0000	617	630	0,0545	5,06
CR (g)	1002 ^A	975 ^{AB}	965 ^{AB}	951 ^B	0,0189	971	976	0,6532	5,31
CA	1,53 ^A	1,55 ^{AB}	1,59 ^{BC}	1,63 ^C	0,0002	1,59	1,56	0,1264	4,82
Viab(%)	98,40	97,40	98,40	98,00	0,5503	97,5	98,6	0,0542	3,22

NN1 (níveis nutricionais recomendados por Rostagno et al., 2011); **NN2** (NN1 com redução de 56kcal; 0,075% P.dip. e 0,019% Lis); **NN3**(NN1 com redução de 75kcal; 0,1% Pdip e 0,025% Lis); **NN4** (NN1 com redução de 94kcal; 0,125% Pdip e 0,031% Lis)

^{x,y} Complexo enzimático- Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK(P<0,05)

^{A,B,C} Níveis Nutricionais -Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK(P<0,05)

Não houve interação para nível nutricional x complexo enzimático (P<0,05)

A redução dos níveis nutricionais promoveu diminuição média de 8,7% no ganho de peso dos animais, sendo que a maior redução dos níveis nutricionais promoveu a maior redução (11,54%). As demais reduções (NN2 e NN3) apresentaram valores intermediários (4,95% e 9,60%, respectivamente) para ganho de peso nessa fase.

Para o consumo de ração entre 1 e 21 dias de idade, foi observado redução de até 5,1% para o menor nível nutricional (NN4), sendo que os níveis NN2 e NN3 proporcionaram resultados intermediários (2,7% e 3,7%, respectivamente).

As reduções no ganho de peso e no consumo de ração também refletiram em piora da conversão alimentar (1,31; 3,92 e 6,45%) para os níveis nutricionais NN2, NN3 e NN4, respectivamente.

A análise isolada do fator adição do complexo enzimático (CE) não apresentou resultados significativos sobre os parâmetros de ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e viabilidade. Entretanto, verificou-se que o valor P para ganho de peso e viabilidade (0,054) foram próximos ao valor α adotado para este experimento (0,05), sugerindo que para uma avaliação um pouco menos rigorosa (P<0,06), o complexo enzimático teria efeito significativo.

Como não houve interação entre a adição do complexo enzimático e o nível nutricional, foi realizado teste entre médias para comparar os tratamentos entre si (Tabela 9).

Tabela 9: Ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e viabilidade de frangos de corte consumindo rações com e sem complexo enzimático (CE) e com diferentes níveis nutricionais no período de 01 a 21 dias de idade.

	Níveis Nutricionais/ Complexo Enzimático								CV (%)	P-valor
	NN1	NN1 +CE	NN2	NN2 +CE	NN3	NN3 +CE	NN4	NN4 +CE		
GP(g)	656 ^a	676 ^a	619 ^b	648 ^a	603 ^b	602 ^b	586 ^b	593 ^b	5,06	0,000
CR(g)	1002	1002	962	987	978	951	939	962	5,31	0,065
CA	1,552 ^{ab}	1,500 ^a	1,568 ^{ab}	1,545 ^{ab}	1,600 ^b	1,580 ^{ab}	1,644 ^b	1,623 ^b	4,82	0,018
Viab(%)	97,6	99,2	96,8	98,0	98,4	98,4	97,2	98,8	2,53	0,407

NN1 (níveis nutricionais recomendados por Rostagno et al., 2011); NN2 (NN1 com redução de 56kcal; 0,075% P.dip. e 0,019% Lis); NN3 (NN1 com redução de 75kcal; 0,1% P.dip e 0,025% Lis); NN4 (NN1 com redução de 94kcal; 0,125% P.dip e 0,031% Lis).

^{a,b} Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK (P<0,05).

Frangos de corte recebendo rações com NN1, NN1+ complexo enzimático e NN2 apresentaram ganho de peso superiores aos demais tratamentos (NN2, NN3, NN3 + CE, NN4 e NN4 + CE). Para o consumo de ração, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos (P<0,05).

Sobre a conversão alimentar, melhor valor foi observado para frangos de corte consumindo rações com NN1 + CE, o qual foi semelhante aos obtidos com os tratamentos NN1, NN2, NN2 + CE e NN3 + CE, enquanto foi melhor que a conversão alimentar obtida com os tratamentos NN3, NN4 e NN4 + CE.

3.2. Experimento II - Desempenho no período de 21 a 35 dias de idade

Na tabela 10 temos os valores de temperatura, registrados nos termômetros de máxima e mínima dispostos em pontos estratégicos do galpão, no período de 21 a 35 dias.

Tabela 10: Temperaturas registradas no período de 21 a 35 dias, em °C.

Período	Termômetro 1		Termômetro 2		Média		Mediana	
	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.
21-28 dias	32,9	21,9	32,3	20,6	32,6	21,2	32,5	20,5
29-35 dias	32,7	23,0	32,9	21,6	32,8	22,3	32,5	22,0

As temperaturas de conforto no período entre 21 e 35 dias estão entre 26° e 23°C (Albino & Tavernari, 2008). As temperaturas máximas registradas nessa fase foram superiores às estabelecidas para manter o conforto térmico dos animais.

Não houve interação significativa ($P < 0,05$) entre a adição do complexo enzimático e os níveis nutricionais no parâmetros avaliados de 21 a 35 dias de idade (tabela 11).

Na análise dos fatores isoladamente foi observado que a adição do CE promoveu aumento do ganho de peso dos frangos de corte ($P < 0,05$) e melhoria na conversão alimentar ($P < 0,05$).

A redução dos níveis nutricionais promoveu piora das respostas de ganho de peso e conversão alimentar. Os níveis nutricionais NN2, NN3 e NN4 promoveram decréscimo de 2,15; 3,67 e 4,93% no ganho de peso das aves de 21 a 35 dias de idade.

A conversão alimentar teve acréscimo progressivo na fase de 21 a 35 dias de idade, com aumento médio de 2,7%, sendo que o nível de maior redução (NN4) foi 4% maior que o nível controle (NN1).

Como não houve interação significativa, foi realizado um teste de média entre os tratamentos (tabela 12).

Tabela 11: Ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas ou não com o complexo enzimático (CE) no período de 21 a 35 dias de idade.

	Nível Nutricional				P valor	Complexo Enzimático		P valor	CV (%)
	NN1	NN2	NN3	NN4		Sem C.E.	Com C.E.		
GP (g)	1116 ^A	1092 ^{AB}	1075 ^B	1061 ^B	0,0010	1076 ^x	1098 ^y	0,0336	3,89
CR (g)	1938	1924	1919	1918	0,6957	1922	1928	0,6976	3,27
CA	1,74 ^A	1,76 ^{AB}	1,79 ^{BC}	1,81 ^C	0,0001	1,79 ^x	1,76 ^y	0,0116	2,65
Viab(%)	99,40	100,00	99,6	99,40	0,3586	99,6	99,6	0,9975	1,22

NN1 (níveis nutricionais recomendados por Rostagno *et al.*, 2011); **NN2** (NN1 com redução de 56kcal; 0,075% P.dip. e 0,019% Lis); **NN3**(NN1 com redução de 75kcal; 0,1% Pdip e 0,025% Lis); **NN4** (NN1 com redução de 94kcal; 0,125% Pdip e 0,031% Lis)

^{x,y} Complexo enzimático- Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK($P < 0,05$)

^{A,B,C} Níveis Nutricionais -Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK($P < 0,05$)

Não houve interação para nível nutricional x complexo enzimático ($P < 0,05$)

Tabela 12: Resultados do teste de médias para ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e viabilidade de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas ou não com o complexo enzimático (CE) no período de 21 a 35 dias de idade.

Níveis Nutricionais/ Complexo Enzimático										
	NN1	NN1 +CE	NN2	NN2 +CE	NN3	NN3 +CE	NN4	NN4 +CE	CV (%)	P- valor
GP(g)	1094 ^{ab}	1138 ^a	1083 ^b	1105 ^{ab}	1069 ^b	1081 ^b	1061 ^b	1065 ^b	3,38	0,001
CR(g)	1919	1961	1934	1917	1918	1921	1922	1916	3,26	0,763
CA	1,754 ^{ab}	1,722 ^a	1,786 ^{bc}	1,740 ^{ab}	1,793 ^{bc}	1,777 ^{abc}	1,817 ^c	1,802 ^{bc}	2,70	0,003
Viab(%)	99,2	99,6	100,0	100,0	100,0	99,2	99,2	99,6	1,21	0,476

NN1 (níveis nutricionais recomendados por Rostagno et al., 2011); NN2 (NN1 com redução de 56kcal; 0,075% P.dip. e 0,019% Lis); NN3 (NN1 com redução de 75kcal; 0,1% Pdip e 0,025% Lis); NN4 (NN1 com redução de 94kcal; 0,125% Pdip e 0,031% Lis).

^{a,b,c} Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK (P<0,05).

Na comparação de médias entre os tratamentos observou-se diferença significativa para os parâmetros de ganho de peso e conversão alimentar.

Maior ganho de peso foi observado para frangos de corte consumindo ração do tratamento NN1+CE, o qual foi superior ao NN2, NN3, NN3+CE, NN4 e NN4+CE, e semelhante aos tratamentos NN1 e NN2+CE.

Para a conversão alimentar, o tratamento NN1+CE promoveu a menor conversão alimentar em valor absoluto, o qual foi semelhante aquela obtida para frangos de corte submetidos aos tratamentos NN1, NN2+CE e NN3+CE. Pior conversão alimentar foi observada para os frangos de corte do tratamento NN4, sendo esse estatisticamente diferentes daqueles submetidos aos tratamentos NN4+CE, NN2, NN3 e NN3+CE.

3.3. Experimento III - Desempenho no período de 36 a 49 dias de idade

Na tabela 13 encontram-se os valores de temperatura, registrados nos termômetros de máxima e mínima, em pontos estratégicos do galpão, no período de 36 a 49 dias.

Tabela 13: Temperaturas registradas no período de 36 a 49 dias, em °C.

Período	Termômetro 1		Termômetro 2		Média		Mediana	
	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.
36-42 dias	35,0	20,3	32,6	19,1	33,8	19,7	33,5	19
43-49 dias	31,3	22,0	32,1	20,9	31,7	21,4	30,5	21

Frangos de corte na fase final possuem metabolismo muito acentuado, com alta taxa de produção de calor, o que faz com que a faixa de conforto térmico seja a mais baixa de todo o período de criação (Albino & Tavernari, 2008). As temperaturas máximas registradas nessa fase foram superiores às relatadas como temperaturas de conforto, indicando que houve um gasto de energia pelos animais para manutenção do conforto térmico.

Para a fase de 36 a 49 dias de idade, não houve interação significativa ($P < 0,05$) entre a adição do complexo enzimático e os níveis de nutrientes. Ao analisar os fatores separadamente, observa-se que independente da adição do complexo enzimático, a redução dos níveis nutricionais resultou em uma redução no ganho de peso e piora na conversão alimentar dos animais nessa fase.

O NN1 proporcionou um ganho de peso nos frangos de corte superior aos demais tratamentos, os quais foram semelhantes entre si. A redução dos níveis nutricionais causou uma redução média de 3,74% no ganho de peso, sendo que o nível com maior redução dos nutrientes teve o ganho de peso 4,5% menor que os tratamentos sem redução.

Houve também um aumento significativo ($P < 0,05$) da conversão alimentar conforme se reduziam os níveis nutricionais, observando-se um aumento médio de 5,7% em relação ao nível NN1.

Os demais parâmetros não apresentaram alterações significativas com a redução dos níveis nutricionais ou adição do complexo enzimático. Foi realizado um teste de médias entre os tratamentos para melhor compreensão dos resultados.

Tabela 14: Ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA), viabilidade e IEP de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas ou não com o complexo enzimático (CE) no período de 36 a 49 dias de idade.

	Nível Nutricional				P valor	Complexo Enzimático		P valor	CV (%)
	NN1	NN2	NN3	NN4		Sem C.E.	Com C.E.		
GP (g)	1292 ^A	1250 ^B	1247 ^B	1234 ^B	0,0077	1239	1266	0,2652	5,23
CR (g)	2415	2419	2478	2474	0,3531	2451	2442	0,6374	6,44
CA	1,87 ^A	1,95 ^B	1,97 ^B	2,01 ^B	0,0000	1,98	1,93	0,1084	4,39
Viab(%)	92,2	92,8	91,6	94,0	0,7128	92,6	92,7	0,9476	7,31
IEP	316	302	294	296	0,0883	298	306,17	0,1941	9,68

NN1 (níveis nutricionais recomendados por Rostagno et al., 2011); **NN2** (NN1 com redução de 56kcal; 0,075% P.dip. e 0,019% Lis); **NN3**(NN1 com redução de 75kcal; 0,1% P.dip e 0,025% Lis); **NN4** (NN1 com redução de 94kcal; 0,125% P.dip e 0,031% Lis)

^{x,y} Complexo enzimático- Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK(P<0,05)

^{A,B} Níveis Nutricionais -Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK(P<0,05)

Não houve interação para nível nutricional x complexo enzimático (P<0,05)

No período de 36 a 49 dias, a adição do CE não promoveu alteração significativa nos parâmetros de desempenho avaliados. Entretanto, observou-se que os frangos de corte consumindo rações com enzimas apresentaram ganho de peso 2,2% superior e conversão alimentar 2,53% melhor, além de 8,17 pontos a mais no IEP, em comparação aqueles não suplementados.

No período de 36 a 49 dias, não houve diferença significativa (P<0,05) para os parâmetros consumo de ração, ganho de peso, viabilidade e IEP. Entretanto, devido à altas temperaturas que ocorreram no período, é possível que os animais tenham passado por estresse por calor, reduzindo assim o consumo e interferindo nas respostas de desempenho observadas.

Tabela 15: Resultados do teste de médias para ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA), viabilidade e IEP de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas ou não com o complexo enzimático (CE) no período de 36 a 49 dias de idade.

	Níveis Nutricionais/ Complexo Enzimático								CV (%)	P-valor
	NN1	NN1+CE	NN2	NN2+CE	NN3	NN3+CE	NN4	NN4+CE		
GP(g)	1275	1308	1245	1252	1234	1266	1253	1239	4,38	0,127
CR(g)	2403	2427	2439	2399	2478	2477	2484	2464	4,22	0,085
CA	1,888 ^a	1,859 ^a	1,988 ^b	1,920 ^{ab}	2,011 ^b	1,937 ^{ab}	2,022 ^b	1,992 ^b	4,39	0,001
Viab(%)	92,0	92,4	92,0	93,6	91,6	91,6	94,8	93,2	7,31	0,960
IEP	311,65	319,86	293,53	310,07	287,65	299,83	297,56	294,91	9,68	0,224

NN1 (níveis nutricionais recomendados por Rostagno et al., 2011); **NN2** (NN1 com redução de 56kcal; 0,075% P.dip. e 0,019% Lis); **NN3** (NN1 com redução de 75kcal; 0,1% Pdip e 0,025% Lis); **NN4** (NN1 com redução de 94kcal; 0,125% Pdip e 0,031% Lis).

^{a,b,c} Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK (P<0,05).

Ao analisar a conversão alimentar foi observado que o melhor valor foi obtido para frangos de corte submetidos ao tratamento NN1+CE, o qual foi semelhante aqueles obtidos com o tratamento NN1, NN2+CE e NN3+CE. Enquanto os frangos de corte consumindo ração NN4 apresentaram pior conversão alimentar, a qual foi semelhante estatisticamente a aqueles obtidos com frangos de corte recebendo tratamento NN3, NN4+CE, NN3+CE, NN2 e NN2+CE.

4. DISCUSSÃO

Para os períodos avaliados não houve interação significativa entre a adição do complexo enzimático e os níveis nutricionais sobre os parâmetros de desempenho. Os resultados estão de acordo com os observados por Mourão e Pinheiro (2009), que em estudos com xilanases em dietas com centeio e trigo não encontraram interação entre esses fatores. Os resultados também são corroborados pelos achados de Pessôa (2010), que ao utilizar o mesmo complexo enzimático contendo carboidrases, proteases e fitase em diferentes níveis nutricionais também não encontraram interações entre a adição do complexo e os diferentes níveis nutricionais para as fases de produção de frangos de corte avaliadas.

Dessimoni (2011), ao estudar diferentes planos nutricionais com e sem suplementação de enzimas proteolíticas também não verificou interação entre os fatores estudados. Entretanto, segundo o autor, a adição da protease melhorou os parâmetros de desempenho das aves, sendo que a redução da digestibilidade dos aminoácidos em 40% não afetou o ganho de peso quando os animais foram suplementados com o uso da enzima.

A não interação dos fatores adição de enzimas e nível nutricional também não foi verificada por Zou *et al.* (2013) sobre o ganho de peso dos animais ao trabalhar com diversas carboidrases e rações com ou sem redução de 100kcal na energia metabolizável. Entretanto, para ganho de peso e conversão alimentar na fase final essa interação se mostrou significativa, sendo que a adição das enzimas promoveu um menor consumo de ração e uma melhora na conversão alimentar.

Em contrapartida, Torres *et al.* (2003) observaram interação significativa entre a adição de enzimas e níveis de proteína bruta das dietas, sendo que o nível mais baixo de proteína apresentou menor ganho de peso quando as enzimas foram suplementadas em maior quantidade.

As respostas obtidas com a adição de complexo enzimático na dieta de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade indicam o potencial de uso das enzimas sobre a melhoria do desempenho. Independente dos NN utilizados nas rações de 1 a 21 dias de idade a adição do complexo enzimático possibilitou um incremento de 2,2% no ganho de peso dos animais e de 1,66% na conversão alimentar. Esses resultados estão de acordo com pesquisas realizadas por Freitas *et al.* (2011), que em experimento com adição de proteases em dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte demonstraram que a adição da enzima resultou em benefícios no desempenho e digestibilidade de gordura e proteína bruta.

Ao comparar uma dieta controle, controle com adição de fitase ou adição de fitase e um complexo enzimático, Attia (2012) verificou que a adição de fitase aumentou o ganho de peso, reduziu consumo de ração e melhorou a conversão alimentar de 1 a 20 dias de idade. Mais quando aliado ao complexo, a redução do consumo foi ainda maior ($P < 0,05$), garantindo os mesmos resultados de ganho de peso e conversão, mostrando que a adição de fitase e complexo multienzimático possibilitou melhor aproveitamento dos nutrientes.

No período de 1 a 21 dias, o melhor resultado no desempenho foi obtido com o nível nutricional recomendado por Rostagno et al. (2011), o qual possibilitou melhor ganho de peso e menor conversão alimentar. As reduções dos níveis nutricionais influenciaram o desempenho dos frangos de corte na fase inicial em diferentes intensidades de resposta. Estes resultados confirmam resultados de Pessoa (2010) que verificaram piora nos parâmetros de desempenho quando os níveis nutricionais foram reduzidos nas rações fornecidas.

Na comparação de médias entre todos os tratamentos, a resposta observada sobre o desempenho dos frangos de corte revelou que no tratamento NN1+CE foi observado uma melhoria de desempenho, embora esta só possa ser observada ao considerar o $\alpha < 0,06$. Estes resultados indicam que, para o uso on top do complexo enzimático na fase inicial em rações fareladas à base de ingredientes vegetais, possivelmente doses superiores devam ser utilizados como forma de melhorar a utilização de nutrientes.

Quando comparado os tratamentos com as reduções dos níveis nutricionais e adição de enzimas, o uso de NN2+CE proporcionou resultados de ganho de peso e conversão alimentar e semelhantes aos obtidos com NN1 formulado nas recomendações nutricionais das Tabelas Brasileiras, de acordo com Rostagno *et al.* (2011). Enquanto, nos tratamentos NN3 +CE e NN4+CE os resultados de desempenho observados frente ao NN1 foram inferiores. Estas respostas sobre o desempenho permitem inferir que no período de 1 a 21 dias de idade o potencial de valorização da matriz de enzimas foi aquele obtido com redução do NN2 (reduções de 56 kcal na EM; 0,075% Fósforo disponível e 0,019% lisina digestível)

Esses resultados sugerem que existe algum elemento que limitou o desempenho para animais nessa fase. Cowieson & Adeola (2005), ao suplementarem rações com carboidratos e fitases nas quais o primeiro elemento limitante foi o fósforo, encontraram um efeito positivo nos parâmetros de ganho de peso e conversão alimentar, sendo os resultados do uso das enzimas em conjunto superiores aos da adição na forma monocomponente.

Em um experimento com diferentes níveis nutricionais com e sem adição de diferentes complexos enzimáticos para frangos de corte machos e fêmeas, Carvalho *et al.* (2009) encontrou maior ganho de peso médio para machos suplementados com complexo composto de amilase e glucanase, argumentando que esse fato pode ter ocorrido em virtude do consumo para machos ser maior que o das fêmeas.

Entretanto, Yegani & Korver (2013), ao trabalhar com milho de diferentes origens com e sem suplementação enzimática, encontraram que a adição de xylanase e β -glucanase não interferiu no desempenho dos animais na fase inicial, apresentando algumas vezes impactos negativos sobre a digestibilidade dos nutrientes. Segundo os autores, as variações relacionadas à dieta (como a disponibilidade de nutrientes) e aos animais (atividade das enzimas endógenas) podem ter limitado a digestibilidade dos nutrientes.

Os resultados obtidos na fase inicial foram semelhantes aos relatados por Zou *et al.* (2013), que estudaram o efeito da adição de β -mananase, α -galactosidase, xilanase e β -glucanase em dietas à base de milho e farelo de soja em níveis de energia metabolizável normal ou reduzido (100 kcal/kg) e verificaram que os parâmetros de ganho de peso, peso final e consumo na fase de 1 a 21 dias não diferiram estatisticamente, bem como suas interações, tendo a adição das enzimas melhorado apenas a conversão alimentar.

Dos 21 aos 35 dias de idade, os resultados obtidos com a adição de enzimas demonstraram que independente dos níveis nutricionais utilizados a adição de complexo enzimático mostrou-se eficiente em promover melhorias nos valores de sobre o ganho de peso (2,05%) e conversão alimentar (1,67%) . Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Torres *et al.* (2003) em dietas com diferentes níveis nutricionais com adição de um complexo enzimático nas rações aos 28 dias de idade. Os benefícios observados com o uso de complexo de enzimas sobre o desempenho dos frangos de corte indicam a consistência de respostas do uso do aditivo como alternativa para a melhoria dos resultados de desempenho de frangos de corte alimentos com dietas fareladas à base de milho e farelo de soja.

Os efeitos da redução dos níveis nutricionais para o experimento II revelaram que, assim como no período de 1 a 21 dias de idade, o uso de níveis nutricionais que atendam as recomendações das Tabelas Brasileiras são mais eficientes em promover melhorias no desempenho dos animais. No período de 21 a 35 dias de idade, melhores valores nos parâmetros de desempenho foram também obtidos com o uso de rações com níveis nutricionais de acordo

com as recomendações de Rostagno *et al.* (2011) para frangos de corte, com a adição do complexo enzimático. Apesar da semelhança entre os resultados obtidos com os NN1 e NN2, verifica-se que, com maiores reduções dos níveis nutricionais, se reduz também os valores dos parâmetros de desempenho.

A redução dos níveis nutricionais NN2, NN3 e NN4 no experimento II promoveu um decréscimo de 2,15; 3,67 e 4,93% no ganho de peso das aves de 21 a 35 dias de idade. Da mesma forma, a conversão alimentar também teve um acréscimo conforme os níveis nutricionais eram reduzidos, com aumento médio de 2,7%, sendo que o nível de maior redução (NN4) foi 4% maior que o nível controle (NN1).

Embora diversos autores (Cowieson & Adeola, 2005; Carvalho *et al.*, 2009; Alvarenga *et al.* 2011; e Zou *et al.*,2013) cite que os frangos de corte ajustam o consumo de ração de acordo com a densidade energética da ração, deve-se ressaltar que no presente experimento as reduções nutricionais foram realizadas não apenas no nível de energia metabolizável, mais também sobre o fósforo disponível e lisina digestível, o que parece interferir na regulação do consumo de ração.

Na comparação entre os tratamentos os resultados demonstraram que as reduções obtidas com NN4 +CE permitiram resultados de desempenho (ganho de peso e conversão alimentar) semelhantes aos obtidos com NN1. Estes resultados revelam que a redução da EM em 96kcal de EM e dos nutrientes fósforo disponível em 0,125% e lisina digestível em 0,031%, quando suplementados com o complexo enzimático, garantem o desempenho dos frangos de corte semelhante ao obtido com NN recomendado por Rostagno *et al.* (2011), sendo este o potencial de valorização do complexo de enzimas utilizado para frangos de corte de 21 a 35 dias de idade.

No período de 36 a 49 dias de idade a adição de complexo de enzimas em média não foi efetiva sobre a melhoria dos parâmetros de desempenho. Mas ressalta-se que a conversão alimentar apresentou uma melhoria não significativa ($P < 0,1084$) de 2,52% com a adição do complexo enzimático.

Sobre os NN, os resultados revelaram que os melhores valores de GP e CA foram obtidos com o uso das exigências das tabelas brasileiras NN1, seguindo as recomendações de Rostagno *et al.*(2011). Estes resultados confirmam a importância em utilizar rações formuladas de maneira a atender as exigências de energia e demais nutrientes dos frangos de corte nas diferentes fases de criação.

Para o período de 36 a 49 dias de idade, se deve ressaltar que as temperaturas médias obtidas para o período (Tabela 13) possivelmente interferiram nos resultados obtidos. As temperaturas médias nas quais os animais estiveram sobre o período de 36 a 49 dias variaram entre 34° e 20°C, indicando que nas horas mais quentes do dia os animais estiveram sobre forte estresse calórico.

Para animais nessa idade, a temperatura de conforto é menor que 20°C, devido à intensa produção de calor no metabolismo animal (Albino & Tavernari, 2008). Temperaturas acima do conforto irão causar uma redução do consumo voluntário, além de desencadear diversos mecanismos a fim de reduzir o estresse térmico, o que reduz o desempenho das aves. Além disso, segundo Alvarenga *et al.* (2008), a exposição à altas temperaturas é um dos fatores que alteram os resultados esperados com a utilização de enzimas.

Entretanto, resultados obtidos por Yu & Chung (2004) mostraram resultados contrários aos encontrados. Ao testar a adição de blends multienzimáticas em frangos de corte em estações do ano frias (22°C) e quentes (28°C), os autores encontraram uma melhor resposta a suplementação enzimática no calor para a maioria das misturas. Durante a estação quente, no período entre 22 a 38 dias, algumas das misturas testadas melhoraram ou mantiveram o ganho de peso em relação as dietas sem suplementação. Mas ao avaliar o período completo, verificou-se que uma das misturas aumentou o ganho de peso, enquanto outra o reduziu. Na estação fria, para o período de 22 a 39 dias, foram encontradas diferenças apenas na conversão alimentar.

Apesar dos resultados serem muitas vezes inconsistentes, a adição de enzimas exógenas nas rações tem de maneira geral se mostrado positivas. Hooge *et al.* (2010) realizaram uma meta-análise dos experimentos realizados com o complexo enzimático utilizado nesse experimento, entre os anos de 2001 e 2009 em diversos países, obtendo 51 comparações. Segundo os autores, a suplementação com o complexo resulta em um aumento no ganho de peso na ordem de 3,73% e uma redução na conversão alimentar de 2,64%.

Na comparação de médias entre os tratamentos há não diferença observada entre os tratamentos sobre o GP, CR e IEP. Como foi salientado, possivelmente o fator temperatura ambiente foi limitante sobre as respostas de desempenho dos animais. A resposta de CA obtida no tratamento NN3+CE semelhante aquela obtida com o NN1 onde se verificou a melhor CA permite inferir que para o período de 36 a 49 dias de idade dos frangos de corte, o complexo

enzimático permite um a valorização da energia e nutrientes de 75kcal de EM, 0,1% de fósforo disponível e 0,025% na lisina digestível.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

Para avaliar o da adição de complexo enzimático e diferentes níveis nutricionais em rações para frangos de corte em diferentes fases de criação, foram realizados três experimentos no Setor de Avicultura da Universidade Federal de Viçosa, sendo utilizados 2000 (de 1 a 21 dias), 1600 (de 21 a 35 dias) e 1200 (de 36 a 49 dias) pintos de corte machos, da linhagem Cobb, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, contendo 8 tratamentos no esquema fatorial 2 x 4 (sem e com adição 200 g por tonelada de complexo enzimático e quatro níveis nutricionais), com dez repetições e 25, 20 e 15 aves por unidade experimental em cada fase, respectivamente. O nível nutricional 1 (NN1- T1) foi formulado para atender as exigências nutricionais das aves de acordo com Rostagno *et al.* (2011), a partir do qual foram feitas reduções de 56kcal de EM, 0,075% de fósforo disponível e 0,019% na lisina digestível (NN2- T3); 75kcal de EM, 0,1% de fósforo disponível e 0,025% na lisina digestível (NN3- T5); e 94kcal de EM, 0,125% de fósforo disponível e 0,031% na lisina digestível (NN4-T7). Os demais tratamentos foram então constituídos pelos níveis nutricionais com a adição de enzimas: NN1+CE (T2), NN2+CE (T4), NN3+CE (T6) e NN4+CE (T8).

Nos três experimentos, adição do complexo enzimático nas rações influenciou positivamente os parâmetros de desempenho, com resultados em diferentes proporções sobre o ganho de peso, conversão alimentar e IEP nas fases avaliadas.

O uso de rações formuladas de acordo com recomendações de Rostagno *et al.* (2011), promoveu as melhores respostas de desempenho nas diferentes fases. Sobre o potencial de valorização da matriz nutricional do complexo enzimático em rações com redução dos valores de EM, fósforo disponível e lisina digestível verificou-se que na fase de 1 a 21 dias de idade, o NN2+CE permitiram desempenho semelhante aquele obtidos com o nível NN1 sugerido por Rostagno *et al.*,(2011). No período de 21 a 35dias de idade, a utilização do complexo enzimático ao nível nutricional 3 (NN4+CE) alcançaram os mesmos resultados das recomendações de Rostagno *et al.* (2011) e, de 36 a 49 dias de idade, resultados de desempenho semelhantes ao NN1 foram obtidos com o tratamento NN3+CE.

Assim, pode-se concluir que o uso do complexo enzimático em dietas com níveis nutricionais reduzidos ou não é uma importante ferramenta para melhoria nos parâmetros de ganho de peso e conversão alimentar, bem como aumento da energia metabolizável, do fósforo

disponível e da lisina digestível das rações para frangos de corte, sendo possível a valorização de sua matriz nutricional nas rações de frangos de corte em 56kcal de EM, 0,075% de fósforo disponível e 0,019% na lisina digestível na fase de 1 a 21 dias de idade; 96kcal de EM, 0,125% de fósforo disponível, e 0,031% lisina digestível para o período de 21 a 35 dias de idade e em 75kcal de EM, 0,1% de fósforo disponível e 0,025% na lisina digestível de 36 a 49 dias de idade.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBINO, L.F.T.; TAVERNARI, F.C.de. **Produção e Manejo de frangos de corte**. Viçosa: Ed. UFV,88p. 2008
- ALVARENGA, R.R.; ZANGERÔNIMO, M.G. & ALVARENGA, R.R. de. Adição de fitase em rações para frangos de corte. **Pubvet**, v.2, n.17, 2008.
- ALVARENGA, R. R., NAGATA A.K., RODRIGUES P. B., ZANGERONIMO, M. G., PUCCI L. E. A., HESPANHOL R. Adição de fitase em rações com diferentes níveis de energia metabolizável, proteína bruta e fósforo disponível para frangos de corte de 1 a 21 dias. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 4, 2011.
- ATTIA, Y. A., EL-TAHAWY, W. S., EL-HAMID , A., EL-HAMID, E. A., HASSAN, S. S., EL-KELAWAY, M. I.. Effect of phytase with or without multienzyme supplementation on performance and nutrient digestibility of young broiler chicks fed mash or crumble diets. **Italian Journal of Animal Science**; volume 11:e56. 2012
- 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
- COWIESON, A. J. & ADEOLA, O. Carbohydrases, Protease, and Phytase Have an Additive Beneficial Effect in Nutritionally Marginal Diets for Broiler Chicks. **Poultry Science**, 84:1860–1867, 2005
- DESSIMONI, G. V. Planos nutricionais com suplementação de protease em dietas de frangos de corte. Tese de doutorado. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina, 2011.
- FREITAS, D. M. VIERIA, 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**. 20 :322–334, 2011

- HOOGE, D.M., PIERCE, J.L., MCBRIDE, K.W. AND RIGOLIN, P.J. Meta-analysis of Broiler Chicken Trials Using Diets With or Without Allzyme® SSF Enzyme Complex. **International Journal of Poultry Science**. 9 (9): 819-823, 2010
- MOURÃO, J. L. T. A. & PINHEIRO, V. M. C. Efeitos do centeio, do trigo e da suplementação com xilanases sobre o valor nutricional de dietas e o desempenho de frangos corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.38, n.12, p.2417-2424, 2009.
- PESSÔA, G.B.S. Avaliação de complexo enzimático em dietas de frangos de corte. UFV: Dissertação de Mestrado, 65p. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2010.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011.
- TORRES, D.M., TEIXEIRA, A.S., RODRIGUES, P.B., BERTECHINI, A. G., FREITAS, R.T.F. SANTOS,E.C. Eficiência das enzimas amilase, protease e xilanase sobre o desempenho de frangos de corte. **Ciência Agrotecnica**, 6: 1404-1408, 2003.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas. Viçosa, MG, 2000.
- YEGANI, M & KORVER, D. R. Effects of corn source and exogenous enzymes on growth performance and nutrient digestibility in broiler chickens. **Poultry Science**. v.92, p. 1208-1220, 2013.
- YU, B.I. AND CHUNG, T.K. Effects of multiple-enzyme mixtures on growth performance of broilers fed corn-soybean meal diets. **Journal of Applied Poultry Research**, 13:178-182.2004
- ZOU, J. ZHENG, P. ZHANG, K. DING, X. AND BAI, S. Effects of exogenous enzymes and dietary energy on performance and digestive physiology of broilers. **Journal of Animal Science and Biotechnology** 4:14, 2013.

CAPÍTULO 2

USO DE COMPLEXO ENZIMÁTICO EM RAÇÕES COM DIFERENTES NÍVEIS NUTRICIONAIS SOBRE OS VALORES DE ENERGIA METABOLIZÁVEL E BALANÇO DE NITROGÊNIO EM FRANGOS DE CORTE

1. INTRODUÇÃO

O princípio da nutrição animal se baseia essencialmente no conhecimento tanto das exigências nutricionais dos animais em diferentes condições, como também no valor nutritivo dos alimentos utilizados como ingredientes nas rações. Entretanto, muitos fatores podem alterar o aproveitamento dos nutrientes.

Dietas a base de grãos possuem fatores antinutricionais que causam efeitos depressivos no desempenho dos animais, redução na eficiência de utilização de proteínas, carboidratos e minerais, inativação de vitaminas e ativação do sistema imune intestinal, fazendo com que parte dos nutrientes que anteriormente seriam para a produção sejam desviados para a defesa do organismo.

Para reduzir o efeito desses fatores, nutricionistas tem buscado recursos para promover o aumento da digestibilidade das rações para aves e suínos. Uma das soluções mais difundidas para melhorar a digestibilidade dos alimentos é a adição de enzimas exógenas na ração. Essas enzimas atuam no organismo animal liberando nutrientes anteriormente indisponíveis para a utilização no metabolismo, aumentando o ganho de peso e reduzindo a conversão alimentar, principalmente em dietas à base de ingredientes vegetais.

Assim, com o objetivo de avaliar a adição de um complexo enzimático em rações com diferentes níveis nutricionais sobre os valores de energia metabolizável para frangos de corte em diferentes fases foram realizados dois ensaios de metabolismo com o método de coleta total para determinar a energia metabolizável aparente e energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio em dietas para frangos de corte de diferentes fases de criação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi previamente aprovada pelo Comitê de Ética (CEUA/UFV) sob o processo nº 23/2013, estando de acordo com os princípios éticos da experimentação animal.

2.1. Experimento I - Ensaio de metabolismo para avaliação da adição de um complexo enzimático em rações com diferentes níveis nutricionais para frangos de corte de 13 a 21 dias de idade.

O experimento foi realizado no setor de avicultura da Universidade Federal de Viçosa no mês de setembro de 2012. Foram utilizados 336 pintos em crescimento, machos, da linhagem COBB, com peso inicial de 363 ± 6 gramas, no período de 13 a 21 dias de idade. Os pintos foram alojados do primeiro aos 13 dias de idade em um galpão de alvenaria e então transferidos para baterias, onde foi realizado o ensaio biológico, a partir dos 13 dias de idade das aves.

Os tratamentos estão constituídos conforme a tabela 1. O complexo enzimático utilizado foi produzido à partir do fungo *Aspergillus niger* em estado de fermentação sólida, composto pelas enzimas fitase (300u/g), protease (700u/g), xilanase (100u/g), β -glucanase (200u/g), celulase (40u/g), amilase (30u/g) e pectinase (4000u/g), cedido gentilmente pela empresa Alltech, e cuja recomendação foi de 200g/ton, em substituição ao amido.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 2x4 (com e sem adição do complexo enzimático em 4 níveis nutricionais), com 8 tratamentos e seis repetições de 7 animais (Tabela 1). As rações controle (NN1) foram formuladas para atenderem as exigências nutricionais das aves de acordo com Rostagno *et al.* (2011), sendo a partir delas realizadas reduções de 56kcal, 0,075% de fósforo disponível e 0,019% na lisina digestível (NN2); 75kcal, 0,1% de fósforo disponível e 0,025% na lisina digestível (NN3); e 94kcal, 0,125% de fósforo disponível e 0,031% na lisina digestível (NN4), com adição ou não do complexo. A composição centesimal das dietas estão apresentados na tabela 2.

As rações foram fornecidas à vontade por um período de 8 dias, sendo três dias de adaptação e cinco de coleta total das excretas de cada unidade experimental, com intervalos de 12 horas entre cada coleta. As bandejas coletoras, revestidas com lona plástica, foram colocadas sob o piso de cada unidade experimental.

As excretas foram coletadas diariamente, pesadas, homogeneizadas e retiradas amostras, a qual foi realizada a pré-secagem, para determinação da matéria seca e, subsequentemente, dos valores de energia metabolizável e de balanço de nitrogênio, segundo metodologia descrita em Sakomura & Rostagno (2007). As análises foram realizadas segundo metodologias descritas por Silva & Queiroz (2002), sendo realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFV.

Tabela 1: Tratamentos com diferentes níveis nutricionais para frangos de corte de 13 a 21 dias de idade, com e sem suplementação do complexo enzimático (CE).

	Tratamento	Energia Metabolizável (kcal/kg)	Fósforo disponível (%)	Cálcio (%)	Lisina digestível (%)
T1	Nível Nutricional 1 (NN1)	3000	0,400	0,852	1,170
T2	Nível Nutricional 1+ Complexo Enzimático (NN1+CE)	3000	0,400	0,852	1,170
T3	Nível Nutricional 2 (NN2) ¹	2944	0,325	0,777	1,151
T4	Nível Nutricional 2+ Complexo Enzimático (NN2+CE) ¹	2944	0,325	0,777	1,151
T5	Nível Nutricional 3 (NN3) ²	2925	0,300	0,752	1,145
T6	Nível Nutricional 3+ Complexo Enzimático (NN3+CE) ²	2925	0,300	0,752	1,145
T7	Nível Nutricional 4 (NN4) ³	2906	0,275	0,727	1,139
T8	Nível Nutricional 4+ Complexo Enzimático (NN4+CE) ³	2906	0,275	0,727	1,139

¹Valorização de 75% da matriz nutricional do complexo enzimático;

² Valorização de 100% da matriz nutricional do complexo enzimático;

³ Valorização de 125% da matriz nutricional do complexo enzimático;

Com base nos resultados da energia bruta das rações e das excretas, determinada na bomba calorimétrica modelo Parr – 1261, foram calculados os valores da energia metabolizável aparente e energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn), utilizando a equação descrita por Matterson *et al.* (1965):

$$\text{EMAn da ração (kcal/kg)} = \frac{\text{EB ingerida} - (\text{EB excretada} + 8,22 \times \text{BN})}{\text{MS ingerida}}$$

EB = energia bruta;

BN = balanço de nitrogênio (N) = N ingerido - N excretado

Tabela 2: Composição centesimal das rações experimentais do experimento 1.

Alimento	NN 1	NN 2	NN 3	NN 4
Milho	57,39	60,52	61,40	62,54
Farelo de Soja	36,12	34,84	34,55	34,04
Óleo de Soja	2,51	1,00	0,52	-
Fosfato Bicálcico	1,55	1,15	1,01	0,88
Calcário	0,98	1,05	1,07	1,09
Sal comum	0,48	0,48	0,48	0,48
DL-Metionina, 99%	0,272	0,265	0,260	0,259
L-Lisina HCl, 78,5%	0,169	0,180	0,179	0,185
L-Treonina, 98%	0,040	0,038	0,037	0,037
Suplemento Mineral ¹	0,110	0,110	0,110	0,110
Suplemento Vitaminico ²	0,110	0,110	0,110	0,110
Amido ³	0,100	0,100	0,100	0,100
Cloreto de Colina 60%	0,100	0,100	0,100	0,100
Anticoccidiano ⁴	0,055	0,055	0,055	0,055
Antioxidante	0,010	0,010	0,010	0,010
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição química calculada				
Proteína Bruta (%)	21,19	20,86	20,80	20,66
Energia Met. (kcal/kg)	3.000	2.944	2.925	2.906
Fibra Bruta (%)	2,907	2,893	2,894	2,886
Gordura (%)	5,210	3,798	3,347	2,858
Cálcio (%)	0,852	0,777	0,752	0,727
Fósforo Total (%)	0,632	0,558	0,534	0,510
Fósforo Disp. (%)	0,400	0,325	0,300	0,275
Fósforo Dig. (%)	0,347	0,296	0,278	0,261
Sódio (%)	0,210	0,210	0,210	0,210
Lisina Total (%)	1,273	1,253	1,247	1,240
Lisina Dig. (%)	1,170	1,151	1,145	1,139
Metionina Total (%)	0,578	0,568	0,563	0,560
Metionina Dig. (%)	0,552	0,542	0,538	0,535
Met + Cis Total (%)	0,921	0,908	0,903	0,898
Met + Cis. Dig. (%)	0,842	0,829	0,824	0,820
Treonina Total (%)	0,866	0,851	0,847	0,843
Treonina Dig. (%)	0,761	0,748	0,744	0,740
Arginina Dig. (%)	1,340	1,310	1,304	1,292
Valina Total (%)	1,011	0,994	0,991	0,984
Valina Dig. (%)	0,901	0,886	0,883	0,877

¹Premix mineral contendo por kg de ração: Ferro - 55,0 mg; Cobre - 11,0 mg; Manganês - 77,0 mg; Zinco - 71,5 mg; Iodo - 1,10 mg; Selênio - 0,330 mg;

²Suplemento vitamínico contendo por kg de ração: Vit. A - 8250 U.I.; Vit. D3 - 2090 U.I.; Vit. E - 31,0 U.I.; Vit. B1 - 2,20 mg; Vit. B2 - 5,50 mg; Vit. B6 - 3,08 mg; Vit. B12 - 0,013 mg; Ácido Pantotênico - 11,0 g; Biotina - 0,077 mg; Vit. K3 - 1,65 mg; Ácido Fólico - 0,77 mg; Ácido nicotínico - 33,0 mg;

³Nas dietas com complexo enzimático, o mesmo foi adicionado em substituição ao amido;

⁴Coxistac: (Salinomicina sódica 12%).

2.2. Experimento II - Ensaio de metabolismo para avaliação da adição de um complexo enzimático em rações com diferentes níveis nutricionais para frangos de corte de 25 a 33 dias de idade.

O experimento foi realizado no setor de avicultura da Universidade Federal de Viçosa no mês de outubro de 2012. Foram utilizados 384 pintos em crescimento, machos, da linhagem COBB, com peso inicial médio de 1032±19 gramas, no período de 25 a 33 dias de idade. Os pintos foram alojados do primeiro aos 25 dias de idade em um galpão de alvenaria e então transferidos para baterias, onde foi realizado o ensaio biológico, a partir dos 25 dias de idade.

Os tratamentos estão constituídos conforme a tabela 3. O complexo enzimático utilizado foi produzido à partir do fungo *Aspergillus niger* em estado de fermentação sólida composto pelas enzimas fitase (300u/g), protease (700u/g), xilanase (100u/g), β-glucanase (200u/g), celulase (40u/g), amilase (30u/g) e pectinase (4000u/g), cedido gentilmente pela empresa Alltech, e cuja recomendação foi de 200g/ton, em substituição ao amido.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 2x4 (com e sem adição do complexo enzimático em 4 níveis nutricionais), com 8 tratamentos e oito repetições com seis frangos. As rações controle (NN1) foram formuladas para atenderem as exigências nutricionais das aves para essa fase (Rostagno *et al.*, 2011), sendo a partir delas realizadas reduções de 56kcal, 0,075% de fósforo disponível e 0,019% na lisina digestível (NN2); 75kcal, 0,1% de fósforo disponível e 0,025% na lisina digestível (NN3); e 94kcal, 0,125% de fósforo disponível e 0,031% na lisina digestível (NN4), com adição ou não do complexo. A composição centesimal das dietas estão apresentados na tabela 4.

As rações foram fornecidas à vontade por um período de 8 dias, sendo três dias de adaptação e cinco de coleta total das excretas de cada unidade experimental, com intervalos de 12 horas entre cada coleta. As bandejas coletoras, revestidas com lona plástica, foram colocadas sob o piso de cada unidade experimental.

As excretas foram coletadas diariamente, pesadas, homogeneizadas e retiradas amostras, a qual foi realizada a pré-secagem, para determinação da matéria seca e, subsequentemente, dos valores de energia metabolizável e de balanço de nitrogênio, segundo metodologia descrita em Sakomura & Rostagno (2007). As análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFV, segundo métodos descritos por Silva & Queiroz (2002).

Tabela 3: Tratamentos com diferentes níveis nutricionais para frangos de corte de 25 a 33 dias de idade, com e sem suplementação do complexo enzimático (CE).

	Tratamento	Energia Metabolizável (kcal/kg)	Fósforo disponível (%)	Cálcio (%)	Lisina digestível (%)
T1	Nível Nutricional 1 (NN1)	3150	0,340	0,730	1,050
T2	Nível Nutricional 1+ Complexo Enzimático (NN1+CE)	3150	0,340	0,730	1,050
T3	Nível Nutricional 2 (NN2) ¹	3094	0,265	0,655	1,031
T4	Nível Nutricional 2+ Complexo Enzimático (NN2+CE) ¹	3094	0,265	0,655	1,031
T5	Nível Nutricional 3 (NN3) ²	3075	0,240	0,630	1,025
T6	Nível Nutricional 3+ Complexo Enzimático (NN3+CE) ²	3075	0,240	0,630	1,025
T7	Nível Nutricional 4 (NN4) ³	3056	0,215	0,605	1,019
T8	Nível Nutricional 4+ Complexo Enzimático (NN4+CE) ³	3056	0,215	0,605	1,019

¹Valorização de 75% da matriz nutricional do complexo enzimático;

² Valorização de 100% da matriz nutricional do complexo enzimático;

³ Valorização de 125% da matriz nutricional do complexo enzimático;

O método utilizado para determinação do nitrogênio das rações e das excretas foi o de Kjeldahl. A partir dos resultados de nitrogênio consumido e excretado, foram calculados o nitrogênio retido em gramas/ ave e em percentual.

Com base nos resultados da energia bruta das rações e das excretas, determinada na bomba calorimétrica modelo Parr – 1261, foram calculados os valores da energia metabolizável aparente e energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn), utilizando a equação descrita por Matterson *et al.* (1965):

$$\text{EMAn da ração (kcal/kg)} = \frac{\text{EB ingerida} - (\text{EB excretada} + 8,22 \times \text{BN})}{\text{MS ingerida}}$$

EB = energia bruta;

BN = balanço de nitrogênio (N) = N ingerido - N excretado

Tabela 4: Composição centesimal das rações experimentais do experimento 2.

Alimento	NN 1	NN 2	NN 3	NN 4
Milho	61,16	64,30	65,27	66,32
Farelo de Soja	31,33	30,04	29,68	29,25
Óleo de Soja	4,02	2,51	2,02	1,51
Fosfato Bicálcico	1,27	0,87	0,73	0,60
Calcário	0,86	0,93	0,95	0,98
Sal comum	0,46	0,46	0,46	0,46
DL-Metionina, 99%	0,240	0,231	0,228	0,225
L-Lisina HCl, 78,5%	0,164	0,174	0,176	0,180
L-Treonina , 98%	0,027	0,025	0,024	0,024
Suplem. Mineral ¹	0,100	0,100	0,100	0,100
Suplem. Vitaminico ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Amido ³	0,100	0,100	0,100	0,100
Cloreto de Colina 60%	0,100	0,100	0,100	0,100
Anticoccidiano ⁴	0,055	0,055	0,055	0,055
Antioxidante	0,010	0,010	0,010	0,010
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição química calculada				
Proteína Bruta (%)	19,29	18,96	18,87	18,76
Energia Met. (kcal/kg)	3.150	3.094	3.075	3.056
Fibra Bruta (%)	2,719	2,705	2,702	2,697
Gordura (%)	6,769	5,357	4,982	4,415
Cálcio (%)	0,730	0,655	0,630	0,605
Fósforo Total (%)	0,563	0,489	0,465	0,440
Fósforo Disp. (%)	0,340	0,265	0,240	0,215
Fósforo Dig. (%)	0,303	0,251	0,234	0,217
Sódio (%)	0,200	0,200	0,200	0,200
Lisina Total (%)	1,144	1,124	1,118	1,111
Lisina Dig. (%)	1,050	1,031	1,025	1,019
Metionina Total (%)	0,523	0,512	0,508	0,505
Metionina Dig. (%)	0,500	0,489	0,485	0,482
Met + Cis Total (%)	0,840	0,826	0,820	0,816
Met + Cis. Dig. (%)	0,767	0,753	0,748	0,744
Treonina Total (%)	0,779	0,765	0,761	0,757
Treonina Dig. (%)	0,683	0,670	0,666	0,662
Arginina Dig. (%)	1,201	1,171	1,163	1,153
Valina Total (%)	0,919	0,902	0,897	0,892
Valina Dig. (%)	0,819	0,804	0,800	0,795

¹Premix mineral contendo por kg de ração: Ferro – 37,5 mg; Cobre - 7,5 mg; Manganês - 53,0 mg; Zinco – 48,8 mg; Iodo - 0,75 mg; Se -0,225

²Suplemento vitamínico contendo por kg de ração: Vit. A - 5625 U.I.; Vit. D3 -1425 U.I.; Vit. E - 21 U.I.; Vit. B1 - 1,50 mg; Vit. B2 -3,75 mg; Vit. B6 -2,10 mg; Vit. B12 - 0,009 mg; Ácido Pantotênico - 7,5 g; Biotina - 0,053 mg; Vit. K3 - 1,65 mg; Ácido Fólico - 0,525 mg; Ácido nicotínico - 22,5 mg;;

³ Coxistac: (Salinomicina sódica 12%)

⁴ Nas dietas com complexo enzimático, o mesmo foi adicionado em substituição ao amido;

2.3- Análises Estatísticas

Os dados foram analisados de acordo com modelo inteiramente casualizado utilizado procedimento ANOVA contido no programa computacional SAEG da Universidade Federal de Viçosa, com os fatores sem e com adição de complexo enzimático (2), níveis de nutrientes (4) e interações como efeitos fixos. Diferenças entre as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste SNK com a significância de $P < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1 Resultados do Ensaio de metabolismo de 13 a 21 dias de idade.

No ensaio biológico utilizando frangos de corte de 13 a 21 dias de idade, não foi observada interação significativa ($P < 0,05$) da adição do complexo enzimático e dos níveis nutricionais sobre os parâmetros avaliados.

Na análise isolada dos fatores, observou-se que a adição do complexo enzimático promoveu aumento da energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio ($P < 0,038$) e retenção de nitrogênio em percentual ($P < 0,05$). Sobre o consumo de nitrogênio, e retenção de nitrogênio em gramas não foi observado efeito significativo da adição de complexo enzimático nas rações para frangos de corte ($P < 0,05$).

A redução dos níveis nutricionais nas rações dos frangos de corte promoveu redução do valor energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio ($P < 0,002$), retenção de nitrogênio em gramas ($P < 0,001$) e retenção de nitrogênio em % ($P < 0,00$). Numericamente, observou-se redução desses parâmetros a medida em que se reduziam os níveis de nutrientes de NN1 a NN4.

A comparação entre os níveis nutricionais demonstrou que NN1 e NN2 apresentaram valores de energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio semelhantes entre si e superiores aos valores obtidos nos NN3 e NN4, os quais também foram semelhantes entre si.

Sobre a retenção de nitrogênio em gramas, a maior retenção de nitrogênio foi obtida no NN1 a qual foi semelhante a obtida com o NN2 e superior aos tratamentos NN3 e NN4. Os tratamentos NN2, NN3 e NN4 apresentaram valores semelhantes de retenção de nitrogênio em gramas. Já a retenção de nitrogênio em % foi maior em valor absoluto no tratamento NN1, sendo estatisticamente igual ao NN2 e superior aos tratamentos NN3 e NN4. A retenção em % no NN4 foi inferior aos demais tratamentos e semelhante apenas a obtida no NN3.

Tabela 5: Valores de Energia Metabolizável Aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn, kcal/kg), Nitrogênio Consumido (NC, g/ave), Nitrogênio Excretado (NE, g/ave), Nitrogênio Retido (NR, g/ave e %) para frangos de corte alimentados com rações sem e com adição de complexo enzimático e diferentes níveis nutricionais no período de 13 a 21 dias de idade.

	Nível Nutricional				P valor	Complexo Enzimático		P valor	CV (%)
	NN1	NN2	NN3	NN4		Sem	Com		
						C.E.	C.E.		
EMAn (Kcal/kg)	3271 ^A	3252 ^A	3245 ^A	3138 ^B	0,0015	3191 ^x	3262 ^y	0,0059	3,08
NC(g/ave)	11,1 ^A	11,9 ^B	11,0 ^A	11,1 ^A	0,0193	11,1	11,5	0,1182	8,04
NE (g/ave)	3,8	3,9	3,7	3,9	0,3047	3,9	3,8	0,3378	10,95
NR (g/ave)	7,3 ^{AB}	8,0 ^A	7,3 ^{AB}	7,1 ^B	0,0394	7,2 ^x	7,7 ^y	0,0336	11,39
NR (%)	65,9	66,6	66,2	64,4	0,3539	64,7 ^x	66,8 ^y	0,0288	5,63

NN1 (níveis nutricionais recomendados por Rostagno et al., 2011); NN2 (NN1 com redução de 56kcal; 0,075% P.dip. e 0,019% Lis); NN3(NN1 com redução de 75kcal; 0,1% P.dip e 0,025% Lis); NN4 (NN1 com redução de 94kcal; 0,125% P.dip e 0,031% Lis).

^{x,y} Complexo enzimático- Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK(P<0,05)

^{A,B} Níveis Nutricionais -Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK(P<0,05)

Não houve interação para nível nutricional x complexo enzimático (P<0,05).

Na comparação entre as médias dos tratamentos (Tabela 6), foi observado para a energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio que maiores valores foram obtidos no NN1+CE, o qual foi semelhante ao NN2+CE, sendo estes superiores estatisticamente ao NN4. Nas demais comparações a energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio foi semelhante entre os tratamentos.

Não foram observados diferenças para consumo de nitrogênio e nitrogênio excretado em frangos de corte submetidos aos diferentes tratamentos. Sobre a retenção de nitrogênio em grama/ave verificou-se que o NN1 promoveu maior retenção a qual foi estatisticamente superior a retenção determinada nos frangos de corte submetidos aos tratamentos NN2, NN3, NN3+CE, NN4 e NN4+CE. Enquanto os frangos de corte submetidos aos tratamentos NN1+CE, NN2+CE apresentaram retenção de nitrogênio intermediária e semelhante aos demais tratamentos.

Sobre a retenção de nitrogênio em % maior valor foi observado para frangos de corte submetidos aos tratamentos NN1, NN1+CE, NN2+CE e NN3+CE. Valor inferior de retenção de

nitrogênio em % foram determinados nos tratamentos NN4 e NN4+CE, sendo estes semelhantes ao NN2, NN3 e NN3+CE.

Tabela 6: Valores de Energia Metabolizável Aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn, kcal/kg), Nitrogênio Consumido (NC, g/ave), Nitrogênio Excretado (NE, g/ave), Nitrogênio Retido (NR, g/ave e %) para frangos de corte de 13 a 21 dias de idade.

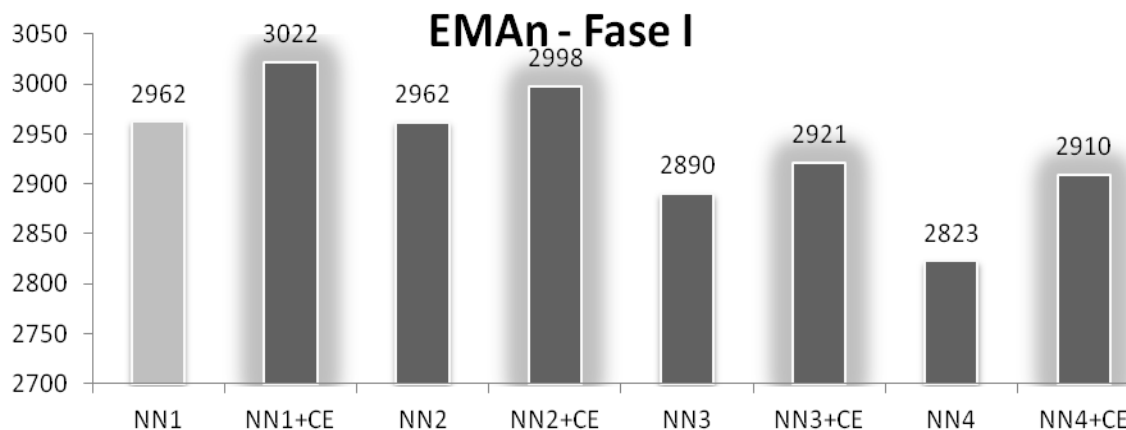
	Níveis Nutricionais/ Complexo Enzimático								CV (%)	P-valor
	NN1	NN1+CE	NN2	NN2+CE	NN3	NN3+CE	NN4	NN4+CE		
EMAn (Kcal/kg)	2962 ^{ab}	3022 ^a	2962 ^{ab}	2998 ^a	2890 ^{ab}	2921 ^{ab}	2823 ^b	2910 ^{ab}	2,95	0,001
NC (g/ave)	11,87	11,05	10,5	11,35	10,53	10,04	10,27	10,45	10,57	0,125
NE (g/ave)	4,38	4,16	4,36	4,28	4,46	4,02	4,5	4,46	10,40	0,757
NR (g/ave)	7,49 ^a	6,89 ^{ab}	6,14 ^b	7,07 ^{ab}	6,06 ^b	6,02 ^b	5,76 ^b	5,99 ^b	12,71	0,004
NR (%)	63,0 ^a	62,4 ^{ab}	58,3 ^{abc}	62,2 ^{ab}	57,6 ^{bc}	60,0 ^{abc}	56,1 ^c	57,2 ^c	4,89	0,000

NN1 (níveis nutricionais recomendados por Rostagno et al., 2011); **NN2** (NN1 com redução de 56kcal; 0,075% P.dip. e 0,019% Lis); **NN3** (NN1 com redução de 75kcal; 0,1% Pdip e 0,025% Lis); **NN4** (NN1 com redução de 94kcal; 0,125% Pdip e 0,031% Lis).

^{a,b,c} Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK (P<0,05).

Na figura 1 estão apresentados gráficos de barras com os valores de Energia Metabolizável Aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) obtidos com frangos de corte consumindo rações sem e com adição de complexo enzimático e diferentes níveis nutricionais de 13 a 21 dias de idade.

Figura 1: Valores de Energia Metabolizável Aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) para frangos de corte de 13 a 21 dias sem e com complexo enzimático.



3.2 Resultados do Ensaio de metabolismo de 25 a 33 dias de idade.

Para o período de 25 a 33 dias de idade, a adição do complexo enzimático e a redução dos níveis energéticos também não apresentaram interação significativa ($P < 0,05$) nos parâmetros analisados no ensaio biológico (Tabela 7).

Foram observados efeitos independentes da adição de complexo de enzimas e dos níveis nutricionais sobre os parâmetros avaliados.

A adição de complexo enzimático nas rações de frangos de corte de 25 a 33 dias de idade promoveu aumento nos valores de energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio ($P < 0,005$), na retenção de nitrogênio em g por ave dia ($P < 0,033$) e em percentual ($P < 0,028$).

Da mesma forma, a redução dos níveis nutricionais também influenciou os parâmetros de energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio ($P < 0,001$), consumo de nitrogênio ($P < 0,0193$), retenção de nitrogênio em g por ave dia ($P < 0,039$).

Nos níveis nutricionais, verificou-se que entre os NN1, NN2 e NN3 os valores de energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio foram semelhantes, e superiores aos determinados com o uso do NN4. Verificou-se também um maior consumo no NN2, o qual

foi superior aos demais tratamentos, entre os NN1, NN3 e NN4, os consumos de nitrogênio foram semelhantes entre si.

Tabela 7: Valores de Energia Metabolizável Aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn, kcal/kg), Nitrogênio Consumido (NC, g/ave), Nitrogênio Excretado (NE, g/ave), Nitrogênio Retido (NR, g/ave e %) para frangos de corte alimentados com rações sem e com adição de complexo enzimático e diferentes níveis nutricionais no período de 25 a 33 dias de idade.

	Nível Nutricional				P valor	Complexo Enzimático		P valor	CV (%)
	NN1	NN2	NN3	NN4		Sem	Com		
						C.E.	C.E.		
EMAn (Kcal/kg)	3271 ^A	3252 ^A	3245 ^A	3138 ^B	0,0015	3191 ^x	3262 ^y	0,0059	3,08
NC (g/ave)	11,1 ^A	11,9 ^B	11,0 ^A	11,1 ^A	0,0193	11,1	11,5	0,1182	8,04
NE (g/ave)	3,8	3,9	3,7	3,9	0,3047	3,9	3,8	0,3378	10,95
NR (g/ave)	7,3 ^{AB}	8,0 ^A	7,3 ^{AB}	7,1 ^B	0,0394	7,2 ^x	7,7 ^y	0,0336	11,39
NR (%)	65,9	66,6	66,2	64,4	0,3539	64,7 ^x	66,8 ^y	0,0288	5,63

NN1 (níveis nutricionais recomendados por Rostagno et al., 2011); **NN2** (NN1 com redução de 56kcal; 0,075% P.dip. e 0,019% Lis); **NN3**(NN1 com redução de 75kcal; 0,1% P.dip e 0,025% Lis); **NN4** (NN1 com redução de 94kcal; 0,125% P.dip e 0,031% Lis).

^{x,y} Complexo enzimático- Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK(P<0,05)

^{A,B} Níveis Nutricionais -Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK(P<0,05)

Não houve interação para nível nutricional x complexo enzimático (P<0,05).

Observou-se maior retenção de nitrogênio em g/ave no NN2, o qual foi superior apenas ao NN4, enquanto não foram observadas diferenças significativas entre os demais tratamentos.

A comparação de médias entre os tratamentos sobre os resultados obtidos para Energia Metabolizável Aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn), Nitrogênio Consumido (g/ave), Nitrogênio Excretado (g/ave) e Nitrogênio Retido (g/ave e %) para o período de 25 a 33 dias estão apresentados na Tabela 8.

Sobre a energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio, o tratamento NN2+CE expressou o maior valor encontrado, sendo semelhante aos determinados com o uso dos

tratamentos NN1, NN1+CE, NN2, NN3 e NN3+CE, respectivamente, sendo superior aos determinados nos tratamentos NN4 e NN4+CE.

Para melhor visualizar os resultados obtidos nos dois experimentos, estão apresentados na tabela 9 os valores calculados e observados em cada nível nutricional, além do incremento na energia metabolizável aparente proporcionado pela adição do complexo enzimático, sendo esta a diferença entre os valores de EMAn com adição do complexo enzimático e do seu tratamento de mesmo nível nutricional, porém sem adição do complexo enzimático.

Os maiores valores de consumo de nitrogênio, nitrogênio retido em gramas e em % foram verificados para NN2+CE, sendo estes estatisticamente superiores aos obtidos com o NN4, enquanto para as demais comparações não foram determinadas diferenças significativas.

Tabela 8: Valores de Energia Metabolizável Aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn, kcal/kg), Nitrogênio Consumido (NC, g/ave), Nitrogênio Excretado (NE, g/ave), Nitrogênio Retido (NR, g/ave e %) para frangos de corte de 25 a 33 dias de idade.

	Níveis Nutricionais/ Complexo Enzimático								CV (%)	P-valor
	NN1	NN1+CE	NN2	NN2+CE	NN3	NN3+CE	NN4	NN4+CE		
EMAn (Kcal/kg)	3248 ^{ab}	3294 ^a	3194 ^{ab}	3310 ^a	3190 ^{ab}	3300 ^a	3131 ^b	3144 ^b	3,16	0,001
NC (g/ave)	11,0 ^{ab}	11,2 ^{ab}	11,7 ^{ab}	12,11 ^a	11,0 ^{ab}	11,0 ^{ab}	10,7 ^b	11,5 ^{ab}	8,04	0,052
NE (g/ave)	3,8	3,8	4,0	3,8	3,7	3,7	4,0	3,8	10,94	0,578
NR (g/ave)	7,2 ^{ab}	7,4 ^{ab}	7,7 ^{ab}	8,3 ^a	7,3 ^{ab}	7,3 ^{ab}	6,6 ^b	7,7 ^{ab}	11,39	0,028
NR (%)	65,3 ^{ab}	66,5 ^{ab}	65,3 ^{ab}	67,8 ^a	66,3 ^{ab}	66,1 ^{ab}	62,0 ^b	66,7 ^{ab}	5,63	0,019

NN1 (níveis nutricionais recomendados por Rostagno et al., 2011); NN2 (NN1 com redução de 56kcal; 0,075% P.dip. e 0,019% Lis); NN3 (NN1 com redução de 75kcal; 0,1% Pdip e 0,025% Lis); NN4 (NN1 com redução de 94kcal; 0,125% Pdip e 0,031% Lis).

^{a,b,c} Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK (P<0,05).

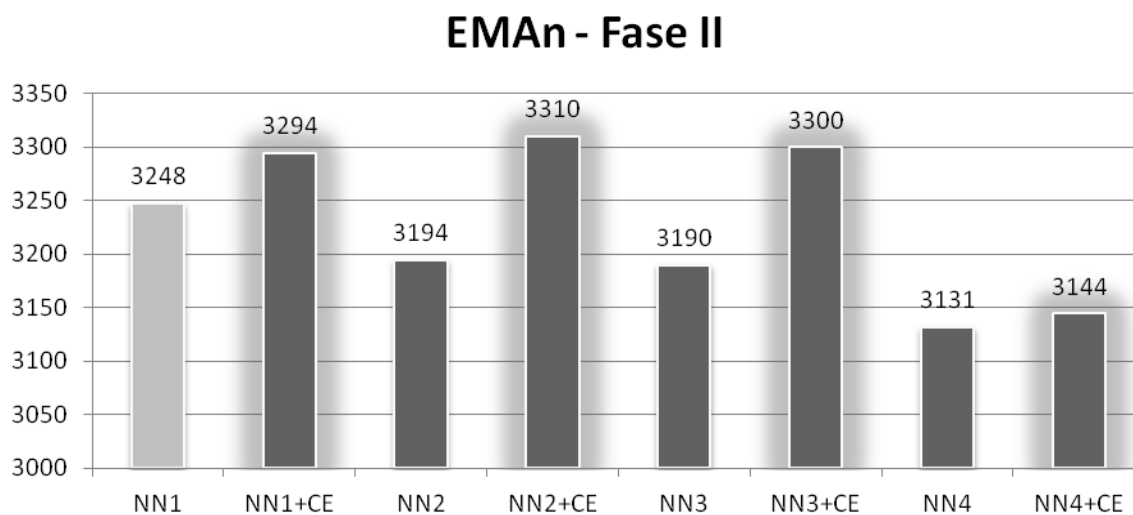
Tabela 9: Valores calculados, observados e diferença entre os níveis nutricionais com e sem adição do complexo enzimático, sobre a energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio do Experimento I e II.

	Experimento I			Experimento II		
	Calculada	Observada	Efeito do CE*	Calculada	Observada	Efeito do CE*
NN1	3000	2962	60	3150	3248	46
NN2	2944	2962	36	3094	3194	116
NN3	2925	2890	31	3075	3190	110
NN4	2906	2823	87	3056	3131	13

* Acréscimo obtido na EMAn de cada nível nutricional com a adição do complexo enzimático.

Na figura 2 estão apresentados gráficos de barras com os valores de Energia Metabolizável Aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) obtidos com frangos de corte consumindo rações sem e com adição de complexo enzimático e diferentes níveis nutricionais de 25 a 33 dias de idade.

Figura 2: Valores de Energia Metabolizável Aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) para frangos de corte de 25 a 33 dias sem e com adição do complexo enzimático.



4. DISCUSSÃO

O principal efeito da adição de enzimas exógenas em dietas para frangos de corte é a disponibilização de nutrientes com baixa capacidade de aproveitamento pelos animais por si só, o que garante um aumento no desempenho das aves. Esse aumento da utilização dos nutrientes pode ser mensurado através do aumento na energia metabolizável e pelo balanço de nitrogênio, que refletem na eficiência de utilização dos dois componentes mais caros da dieta.

Nesse experimento, não foram verificadas interações entre a adição do complexo enzimático e os níveis nutricionais utilizados, resultado que é também verificado por diversos autores (Pessôa, 2010; Dessimoni, 2011; Zou *et al.*, 2013)

Entre 13 e 21 dias de idade, a utilização do complexo enzimático aumentou os valores de energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio em média em 1,85%, independente do nível nutricional utilizado.

O uso do complexo enzimático possibilitou em geral um aumento de 54 kcal na energia metabolizável aparente corrigida para balanço de nitrogênio. Enquanto a retenção de nitrogênio em percentual foi aumentada em 2,89%. Estes resultados indicam que a adição das enzimas exógenas atuam no aumento da energia metabolizável que será utilizada para os processos de produção, manutenção e ou perda na forma de incremento calórico.

As reduções nos níveis nutricionais evidenciaram que houve uma menor oferta de nutrientes, sendo que para energia metabolizável aparente corrigida para balanço de nitrogênio estes reduziram em 0,40, 2,87 e 4,20% respectivamente quando comparados ao NN1. Com a redução dos níveis nutricionais foram observadas reduções de 12, 86 e 126 kcal/kg na energia metabolizável das rações. Essa redução pode ser utilizada para melhorar o desempenho produtivo e /ou considerada na reformulação das rações, com economia no custo do alimento produzido.

Na comparação entre os tratamentos foi possível verificar que no período de 13 a 21 dias de idade com o NN2+CE foi possível obter EMAn semelhante aquela obtida com NN1, ou seja, garantindo o mesmo aporte de nutrientes para os frangos de corte mesmo com o uso de ração com menores níveis de nutrientes. Embora para os NN3+CE estes também tenham sido estatisticamente semelhantes aos NN1, numericamente estes foram inferiores indicando uma limitação de substrato ou valorização excessiva do complexo enzimático sobre a digestibilidade dos ingredientes da ração.

Vale ressaltar que comparando cada nível nutricional sem e com enzimas, a adição dos complexos enzimáticos nos diferentes níveis nutricionais promoveram aumento na EMAn de 60, 26, 69 e 87 kcal por kg, respectivamente nos tratamentos NN1+CE, NN2+CE, NN3+CE e NN4+CE na fase inicial.

Os resultados obtidos para o balanço de nitrogênio sugerem que, possivelmente, o nível proteico das rações pode ter sido o elemento limitante em rações formuladas com os níveis nutricionais utilizados nesse experimento. Percebe-se que os valores de nitrogênio retido em gramas por ave foram maiores para o nível nutricional com menor redução de energia e adição do complexo (NN2+CE). Entretanto, ao se analisar a retenção de nitrogênio em valores percentuais, o NN3+CE mostrou-se estatisticamente igual aos níveis NN1, NN1+CE e NN2+CE. Assim, mais algum elemento pode ter sido limitante nessa fase de criação.

Os resultados obtidos estão de acordo com os referenciados por Pessôa (2010), que trabalhando com níveis de redução de energia metabolizável, aminoácidos e fósforo com e sem adição de complexo enzimático encontraram que o menor nível utilizado (redução de 122kcal) possibilitou um valor de energia igual ($P < 0,05$) à dieta controle. A adição do complexo também resultou em maior retenção de nitrogênio tanto em gramas/ave (12,13) quanto em percentual (64,40).

Em um trabalho com redução dos níveis energéticos em diferentes fases de criação de frangos de corte, suplementados ou não com enzimas exógenas, Zhou *et al.* (2009) também verificaram efeitos positivos da inclusão de um complexo de enzimas (xilanas, amilase e protease), e relatam que a maior eficiência de utilização da energia foi encontrada para a fase inicial.

Entretanto, os valores de energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio obtidos no presente trabalho para o período de 13 a 21 dias são inferiores aos observados em outras pesquisas e podem estar relacionados com o uso de animais mais jovens.

No segundo ensaio, a adição do complexo enzimático se mostrou eficiente em aumentar a energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio das rações, com um aumento médio de 71 kcal, bem como promoveu aumento na retenção de nitrogênio em gramas por ave de 6,9 e 3,2%. Esses resultados reforçam os benefícios do uso do complexo enzimático e que os valores são fase-dependentes, uma vez que de 25 a 33 dias de idade os valores foram superiores aos obtidos na fase 1.

Os resultados são semelhantes aos obtidos por Yang *et al.* (2010), que utilizando carboidrases e proteases "on top" em dietas de milho e soja para frangos de corte acima de 36 dias de idade, observou melhorias na energia metabolizável aparente das rações. Concordando com Zou *et al.* (2013) que verificaram efeitos positivos da adição do complexo enzimático ao utilizar o método de alimentação forçada com frangos aos 42 dias de idade e Mascarello *et al.* (2010), que utilizando perus, observaram que a adição de uma serina protease proporcionou um aumento da digestibilidade ileal da energia e proteína.

Resultados semelhantes foram relatados por Wu *et al.* (2004), que observaram que a adição de uma fitase produzida em estado de fermentação sólida em dietas a base de milho aumentou em 2,3% a energia metabolizável aparente e em 2,6% a energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio. Entretanto, os autores relatam que dietas à base de trigo respondem melhor à adição de enzimas, sendo que a adição de fitase e xilanase promoveram um aumento de 19% na energia metabolizável aparente.

Esses resultados se opõem aos relatados por Kocher *et al.* (2003). Em seu trabalho, os autores relatam que a energia metabolizável aparente das dietas à base milho e soja em aves de 3 a 4 semanas de idade não foi alterada pela adição de blends de enzimas. Entretanto, em dietas com redução dos níveis de energia, a combinação de pectinase, amilase e protease aumentou a energia metabolizável das dietas em comparação ao controle sem suplementação.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Para avaliar a adição de complexo enzimático sobre os valores de energia metabolizável aparente e metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio em rações com diferentes níveis nutricionais, foram realizados dois experimentos no Setor de Avicultura da Universidade Federal de Viçosa. No primeiro experimento foram utilizados 336 pintos de corte de 13 a 21 dias de idade em 6 repetições e 7 animais por unidade experimental, e no segundo experimento foram utilizados 384 pintos de corte machos de 25 a 33 dias de idade com 8 repetições e 6 animais por unidade experimental, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com 8 tratamentos no esquema fatorial 2 x 4 (sem e com adição de complexo de enzimas e quatro níveis nutricionais). As dietas experimentais diferiram na adição de complexo de enzimas em 200g por tonelada e nos níveis de energia metabolizável, fósforo disponível e lisina digestível, sendo o nível nutricional 1 formulado para atender as exigências nutricionais das aves de acordo com Rostagno *et al.* (2011) a partir do qual foram feitas reduções de 56kcal/kg de EM, 0,075% de fósforo disponível e 0,019% na lisina digestível (NN2-T3); 75kcal/kg de EM, 0,1% de fósforo disponível e 0,025% na lisina digestível (NN3-T5); e 94kcal/kg de EM, 0,125% de fósforo disponível e 0,031% na lisina digestível (NN4-T8). Os demais tratamentos foram então constituídos pelos Níveis Nutricionais com a adição de enzimas (NN1+CE -T2, NN2+CE -T4, NN3+CE-T6 e NN4+CE - T8).

Independente dos níveis nutricionais utilizados a adição de complexo enzimático nas rações de frangos de corte de 13 a 23 dias e de 25 a 33 influenciaram positivamente ($P < 0,05$) a EMAn e retenção de nitrogênio em % dos frangos de corte e a retenção de nitrogênio em gramas por aves no período de 25 a 33 dias de idade.

As reduções dos níveis nutricionais independente da adição do complexo enzimático promoveram reduções sobre os parâmetros de ensaio biológico, com maiores reduções observados para EMAn com o menor nível nutricional utilizado (NN4).

A adição de complexo enzimático nas rações formuladas abaixo das exigências permitiu liberação de 36, de 31 e de 87 kcal de EM na primeira fase e de 115, de 110 e de 13 kcal na segunda fase, respectivamente nos NN2+CE, NN3+CE e NN4+CE.

O uso do complexo de enzimas e a redução dos níveis nutricionais interferem sobre o balanço de nitrogênio, sendo esse um importante efeito sobre a valorização no uso das enzimas.

Em média, os valores obtidos de liberação da energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio nos períodos de 13 a 21 e 25 a 33 dias foram de 54 e 71 kcal/kg, respectivamente.

Pode-se concluir que o uso do complexo enzimático é uma importante ferramenta para reduzir a energia metabolizável nas formulações das rações sem prejuízo aos animais, bem como promover maior retenção de nitrogênio nas aves. A determinação do potencial de valorização do complexo enzimático em rações para frangos de corte é dependente da fase de desenvolvimento do animal.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DESSIMONI, G. V. Planos nutricionais com suplementação de protease em dietas de frangos de corte. Tese de doutorado. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina, 2011.
- KOCHER, A., CHOCT, M. AND ROSS, G. Effects of enzyme combinations on apparent metabolizable energy of corn–soybean meal-based diets in broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, 12: 275-283. 2003
- MASCARELLO, N. C .M.; FURTADO, F. V .F.; XAVIER, P.S. *et al.* 2010 Efeito da Adição de uma Serina Protease em Dietas de Perus. Simpósio de Ensino e Pesquisa, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS
- MATTERSON, L.D.; POTTER, L.M.; STUTZ, N.W. The metabolizable energy of feed ingredients for chickens. Connecticut: The University of Connecticut, Agricultural Experiment Station. (**Research Report**, 7). 1965.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011.
- SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. **Jaboticabal**: FUNEP, 2007. 283 p.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.
- PESSÔA, G.B.S. Avaliação de complexo enzimático em dietas de frangos de corte. UFV: Dissertação de Mestrado, 65p. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2010.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. SAEG - **Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Viçosa, MG, 2000.

- YANG , Z. B. ; YANG , W. R. ; JIANG , S. Z .; ZHANG , G. G. ; ZHANG , Q. Q.; SIOW, K. C.
Effects of a thermotolerant multi-enzyme product on nutrient and energy utilization of broilers fed mash or crumbled corn-soybean meal diets **Journal of Applied Poultry Research**. 19 :38–45, 2010
- ZHOU, Y.; JIANG , Z.; LV, D.,AND WANG, T. Improved energy-utilizing efficiency by enzyme preparation supplement in broiler diets with different metabolizable energy levels. **Poultry Science**. 88 :316–322, 2009
- ZOU, J. ZHENG, P. ZHANG, K. DING, X. AND BAI, S. Effects of exogenous enzymes and dietary energy on performance and digestive physiology of broilers. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. 4:14, 2013.
- WU, Y.B., RAVINDRAN, V., AND HENDRIKS, W.H. Influence of exogenous enzyme supplementation on energy utilization and nutrient digestibility of cereals for broilers. **Journal of the Science of food and Agriculture**. 84:1817–1822, 2004.

ANEXO I

ANÁLISE DO RENDIMENTO ECONÔMICO

Para a decisão de qual melhor maneira de utilizar o complexo enzimático, 'on top' ou com redução específica, é necessário a realização de uma análise de rendimento econômico dos resultados obtidos. Para a realização desse tipo de análise, é necessário utilizar os conceitos de margem bruta (MB) e índice de rentabilidade (IR), de acordo com Graña (2008), sendo a margem bruta média (MBMe) a diferença entre a receita bruta média (RBMe) e o custo médio de arraçãoamento (CMeA), sendo definida por:

$$MBMe = RBMe - CMeA$$

A receita bruta média (RBMe) é obtida pelo Kg de frango produzido (Q), pelo preço de venda (PV) do frango.

$$RBMe = Q \times PV$$

O custo médio de arraçãoamento (CMeA) é dado pela quantidade de ração consumida pelo frango (CO) multiplicado pelo custo médio da ração (CD) no período avaliado, e é definido por:

$$CMeA = CO \times CD$$

O índice de rentabilidade (IR) indica a taxa de retorno do capital empregado, ou seja, mostra o retorno econômico para cada real (R\$) gasto com alimentação e é obtido pelo quociente entre a margem bruta média e o custo médio de arraçãoamento.

$$IR = \frac{MBMe}{CMeA} \times 100$$

A análise econômica não considera os custos do pintinho, da mão de obra, energia elétrica e outros gastos adicionais à produção do frango. Os preços das matérias-primas empregadas nas rações são demonstrados na tabela 1 referentes aos valores fornecidos pela Cooperativa dos Granjeiros do Oeste de Minas Ltda (COGRAN), localizada no município de Pará de Minas-MG. O preço de comercialização do frango foi estabelecido em R\$ 2,12/kg de peso vivo.

RESULTADOS

Tabela 1: Custo dos ingredientes (R\$/kg) utilizados nas formulações das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	R\$/kg	Ingredientes (%)	R\$/kg
Milho (7,88%)	R\$ 0,44	DL-Metionina, 99%	R\$ 9,80
Soja Farelo (45%)	R\$ 1,08	L-Lisina HCl, 78,5%	R\$ 5,03
Óleo de Soja	R\$ 2,17	L-Treonina , 98%	R\$ 5,92
Fosfato Bicálcico	R\$ 1,44	Anticoccidiano	R\$ 7,10
Calcário	R\$ 0,10	Colina	R\$ 3,40
Sal Comum	R\$ 0,34	Antioxidante	R\$ 3,68
Suplemento Mineral	R\$ 2,95	Amido	R\$ 2,17
Suplemento Vitamínico	R\$ 8,20	Complexo Enzimático	R\$ 29,16

Na tabela 2 estão apresentados os resultados da análise econômica para o experimento I do capítulo I. As tabelas subsequentes 3 e 4 apresentam, respectivamente, os resultados da análise econômica para os experimentos II e III do capítulo I.

Tabela 2: Análise econômica dos resultados obtidos no experimento I.

	NN1	NN1 +CE	NN2	NN2 +CE	NN3	NN3 +CE	NN4	NN4 +CE
Receita Bruta (R\$/ave)	1,37	1,42	1,31	1,36	1,30	1,28	1,22	1,26
Custo da Ração (R\$/Ton)	776,97	782,80	738,12	743,51	725,81	731,21	712,36	717,76
Custo Médio (R\$/ave)	0,78	0,74	0,70	0,70	0,77	0,71	0,69	0,69
Margem Bruta (R\$/ave)	0,59	0,68	0,62	0,65	0,53	0,57	0,53	0,57
Índice Rentabilidade (%)	76,36	91,61	88,50	92,84	69,91	80,58	76,95	82,12

Tabela 3: Análise econômica dos resultados obtidos no experimento II.

	NN1	NN1 +CE	NN2	NN2 +CE	NN3	NN3 +CE	NN4	NN4 +CE
Receita Bruta (R\$/ave)	2,32	2,41	2,30	2,34	2,27	2,29	2,24	2,25
Custo da Ração (R\$/Ton)	765,15	770,98	725,99	731,82	713,46	719,29	700,40	706,23
Custo Médio (R\$/ave)	1,47	1,42	1,38	1,34	1,48	1,40	1,38	1,35
Margem Bruta (R\$/ave)	0,85	0,99	0,92	0,99	0,79	0,89	0,86	0,90
Índice Rentabilidade (%)	58,10	69,56	66,49	74,05	53,48	63,22	62,51	66,75

Tabela 4: Análise econômica dos resultados obtidos no experimento III.

	NN1	NN1 +CE	NN2	NN2 +CE	NN3	NN3 +CE	NN4	NN4 +CE
Receita Bruta (R\$/ave)	2,75	2,77	2,58	2,65	2,62	2,68	2,66	2,63
Custo da Ração (R\$/Ton)	757,69	763,52	718,60	724,43	706,10	711,93	692,95	698,78
Custo Médio (R\$/ave)	1,87	1,77	1,71	1,72	1,90	1,82	1,80	1,76
Margem Bruta (R\$/ave)	0,88	1,00	0,87	0,94	0,71	0,87	0,85	0,86
Índice Rentabilidade (%)	47,81	56,88	51,10	55,66	37,53	48,13	47,60	49,15

Desta forma, analisando os valores encontrados, percebe-se que em todos os experimentos, o uso do complexo enzimático "on top" possibilita a maior receita bruta, devendo ser adotado em épocas onde o preço do quilo do frango estiver em alta.

Também é possível perceber que, conforme se reduzem os níveis nutricionais, o valor do custo da ração também é reduzido. Com a adição do complexo enzimático, esse custo se torna maior, dentro do mesmo nível nutricional. Entretanto, com as diferenças no consumo devido a maior liberação de nutrientes pelo complexo enzimático, o custo médio por ave com a suplementação com complexo se torna menor que nas rações sem suplementação, mesmo que essa diferença não seja estatisticamente significativa.

A diferença entre a receita bruta e o custo médio, sem levar em consideração mão de obra, custo do animal, energia elétrica e instalações, permite a obtenção da margem bruta, sendo este valor do lucro que o produtor terá por animal vendido. Quando esse valor é dividido pelo custo de arraçamento médio, tem-se o índice de rentabilidade, percentual de retorno do capital investido. Esse índice permite interir qual dos tratamentos permite maior retorno do dinheiro aplicado (em ração).

Nos experimentos I e II, os maiores índices rentabilidade foram obtidos pelo nível nutricional 2, com adição do complexo enzimático, sendo neste caso específico, recomendados. Já para o experimento III, a opção mais interessante economicamente é o uso "on top", devido ao NN1 suplementado com o complexo enzimático apresentar maior índice rentabilidade.