

ANEL ATENCIO TEJEDOR

USO DE ENZIMAS EM DIETAS À BASE DE MILHO E FARELO DE SOJA
PARA FRANGOS DE CORTE

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
JUNHO - 2000

ANEL ATENCIO TEJEDOR

**USO DE ENZIMAS EM DIETAS À BASE DE MILHO E FARELO DE
SOJA PARA FRANGOS DE CORTE**

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

APROVADA: 9 de fevereiro de 1999.

Prof. Horacio Santiago Rostagno
(Conselheiro)

Prof. Ricardo Frederico Euclides
(Conselheiro)

Prof. Paulo Cezar Gomes

Prof. Juarez Lopes Donzele

Prof. Luiz Fernando Teixeira Albino
(Orientador)

A Deus, pelas oportunidades oferecidas na vida.

Aos meus pais, Marcelino e Maria, pelo apoio e pela confiança.

À minha querida irmã, Anabel, e a todos meus irmãos, pela compreensão e pelo carinho.

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), pela oportunidade de realização deste curso.

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

À Embaixada do Brasil no Panamá e ao Programa de Estudante Convênio, pela oportunidade de realização do meus estudos no Brasil.

Aos professores Luiz Fernando Teixeira Albino e Horacio Santiago Rostagno, pela valiosa orientação, pelos ensinamentos, pelo estímulo e pela amizade.

Ao Prof. Geraldo Luiz Colnago, pela orientação em minhas atividades profissionais e pela amizade.

Aos professores Paulo Cezar Gomes, Ricardo Frederico Euclides e Juarez Lopes Donzele, pelas sugestões e pelo apoio.

Ao colega de Pós-graduação Cláudio Vieira Araújo, pela ajuda nas análises estatísticas.

Aos funcionários do Setor de Avicultura da UFV e do laboratório de Nutrição Animal, em especial a Fernando, Mauro, Elísio, Adriano, Joselino, Monteiro, Vera e Valdir, pela amizade, pela colaboração e pelo apoio.

Aos colegas Flávio, Cristina, Ronaldo, Ricardo, Rodrigo, Rafael, Débora, Bárbara, Anilse, Paulo, Carla, Alexandro, Flordivina e Ramalho, pelo auxílio nos experimentos.

À família Antunes de Mello Affonso, Sônia, Cláudio, Paulo e Mônica, pela amizade, pelo apoio, pela confiança e pelo carinho.

Aos demais professores, funcionários e colegas do Departamento de Zootecnia da UFV, que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

ANEL ATENCIO TEJEDOR, filho de Marcelino Atencio Corrales e María del Carmen Tejedor de Atencio, nasceu em 4 de abril de 1973, em Santiago de Veraguas - Panamá.

Cursou o 2º grau no Colégio Instituto Agropecuário Jesus Nazareno de Atalaya, Veraguas, Panamá.

Em março de 1992, ingressou no curso de Medicina Veterinária, na Universidade Federal Fluminense, em Niterói, RJ, colando grau em maio de 1997.

Em março de 1998, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia, na área de Nutrição de Monogástricos, na Universidade Federal de Viçosa, defendendo tese em 9 fevereiro de 2000.

CONTEÚDO

	Página
LISTA DE QUADROS.....	viii
EXTRATO.....	x
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Características das enzimas.....	3
2.2. Obtenção das enzimas.....	4
2.3. Efeito da temperatura.....	5
2.4. Importância do ácido fítico, da enzima fitase, fósforo e cálcio.....	6
2.4.1. Efeito do cálcio e vitamina D ₃ sobre a adição de fitase.....	13
2.5. Utilização de complexos multienzimáticos.....	16
CAPÍTULO 1.....	21
EFEITO DA ADIÇÃO DA ENZIMA FITASE SOBRE A DIGESTIBILIDADE ILEAL APARENTE DE NUTRIENTES.....	21
1. INTRODUÇÃO.....	21
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	30

CAPÍTULO 2	31
EFEITO DA ADIÇÃO DA ENZIMA FITASE SOBRE O DESEMPENHO E A DIGESTIBILIDADE ILEAL DE NUTRIENTES.....	31
1. INTRODUÇÃO	31
2. MATERIAL E MÉTODOS	33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4. RESUMO E CONCLUSÕES	43
CAPÍTULO 3	44
EFEITO DA ADIÇÃO DE UM COMPLEXO MULTIENTZIMÁTICO E FITASE SOBRE A DIGESTIBILIDADE ILEAL DE NUTRIENTES.....	44
1. INTRODUÇÃO	44
2. MATERIAL E MÉTODOS	46
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4. RESUMO E CONCLUSÕES	55
3. RESUMO E CONCLUSÕES	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
APÊNDICE	66

LISTA DE QUADROS

REVISÃO DE LITERATURA

	Página
Quadro 1 - Fósforo fítico presente em vários alimentos.....	7

CAPÍTULO 1

	Página
Quadro 1 - Composição das dietas experimentais	24
Quadro 2 - Efeito da adição da fitase sobre os coeficientes de digestibilidade (CD) ileal aparente de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), energia bruta (EB), fósforo (P) e cálcio (Ca).....	27
Quadro 3 - Efeito da adição da fitase sobre os valores de energia digestível ileal aparente (EDIap), expressos em kcal/kg de matéria seca	29

CAPÍTULO 2

	Página
Quadro 1 - Composição das dietas experimentais	34
Quadro 2 - Efeito da adição da fitase sobre o desempenho de frangos de corte	38
Quadro 3 - Efeito da adição da fitase sobre os coeficientes de digestibilidade (CD) ileal aparente de matéria seca (MS),	

proteína bruta (PB), energia bruta (EB), fósforo (P) e cálcio (Ca).....	40
Quadro 4 - Efeito da adição da fitase sobre os valores de energia digestível ileal aparente (EDI _{ap}) e de energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMAn), expressos em kcal/kg de matéria seca	42

CAPÍTULO 3

	Página
Quadro 1 - Composição das dietas experimentais	47
Quadro 2 - Efeito da adição do complexo multienzimático e da fitase sobre os coeficientes de digestibilidade (CD) ileal aparente de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), energia bruta(EB), fósforo (P) e cálcio (Ca)	51
Quadro 3 - Efeito da adição do complexo multienzimático (CM) sobre os valores de energia digestível ileal aparente (EDI _{ap}), expressos em kcal/kg de MS	52

EXTRATO

TEJEDOR, Anel Atencio. M.S. Universidade Federal de Viçosa, junho de 2000.
Uso de enzimas em dietas à base de milho e farelo de soja para frangos de corte. Orientador: Luiz Fernando Teixeira Albino. Conselheiros: Horacio Santiago Rostagno e Ricardo Frederico Euclides.

Três experimentos foram realizados para se avaliar o efeito de enzimas microbianas sobre o desempenho de pintos de corte machos, *Avian Farm*; os coeficientes de digestibilidade ileal aparente da matéria seca (MS), da proteína bruta (PB), da energia bruta (EB), do fósforo (P) e do cálcio (Ca); e os valores de energia digestível ileal aparente (EDI_{ap}) e energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAN) de dietas à base de milho e farelo de soja com diferentes níveis de Ca e P disponível (P_d). Óxido crômico (0,5%) foi adicionado às dietas a fim de se estimar o fator de indigestibilidade. Todas as aves foram abatidas no final do ensaio, para a coleta da digesta, aos 19 dias, nos experimentos 1 e 2, e aos 25 dias, para o experimento 3. O primeiro experimento foi realizado utilizando pintos no período de 8 a 18 dias de idade, em arranjo fatorial 2 x 2, com seis repetições contendo 10 aves. As dietas foram formuladas contendo dois níveis de Ca e P_d normal (1%Ca/0,45%P_d) e baixo (0,70%Ca/0,32%P_d) x dois níveis de enzima fitase (0 e 1 kg/t de ração). As dietas que receberam fitase apresentaram melhora na digestibilidade ileal (P<0,05) da MS (5,2%), da PB (2,4%) e da EDI_{ap} (3,8%). A adição da fitase melhorou

($P < 0,05$) a digestibilidade ileal do Ca e do P para ambos os níveis de Ca e P_d . O segundo experimento foi realizado utilizando pintos no período de 10 a 24 dias de idade, em arranjo fatorial 2 x 3, com oito repetições contendo oito aves cada. As dietas foram formuladas contendo dois níveis de Ca e P_d : normal (0,93%Ca/0,45% P_d) e baixo (0,80%Ca/0,33 P_d %) x dois fitase comerciais (1 e 2), mais um controle. No período de 19 a 24 dias, foi realizada a coleta das excretas. Dietas e aves foram pesadas objetivando avaliar o desempenho dos frangos. A fitase 1 melhorou ($P < 0,05$) o ganho de peso em 3,4% e a fitase 2, em 2,8%. Ambas as enzimas melhoraram ($P < 0,05$) a conversão alimentar em 3%. A adição das fitase melhorou a digestibilidade da PB, do P, do Ca e da EDI_{ap} ($P < 0,05$), cujo incremento, em porcentagem para a fitase 1, foi de 1; 5; 1; e 3,5, respectivamente, e para a fitase 2, de 1,7; 4; 1; e 5, respectivamente. Não foi observada diferença estatística ($P > 0,05$), para o desempenho das aves e a digestibilidade de nutrientes, entre as fitases 1 e 2. O terceiro experimento foi realizado utilizando pintos de 8 a 18 dias de idade, em arranjo fatorial 2 x 3 com seis repetições, contendo 10 aves cada, e dois níveis de Ca e P_d normal (1%Ca/0,45% P_d) e baixo (0,70%Ca/0,32 P_d %), mais a combinação de um complexo multienzimático (CM) com fitase (Fit), 0 kg/t para o controle, 2 kg/t (CM) e 2 kg/t mais 1 kg/t de fitase (CM+Fit). A dosagem do CM foi realizada em função do farelo de soja e da fitase, em função da ração. As dietas foram formuladas ligeiramente deficientes em aminoácidos e energia. As dietas com níveis normais de Ca e P_d e adição do CM apresentaram melhora ($P < 0,05$) na digestibilidade da MS (4%) e na EDI_{ap} (1,4%). Além disso, a adição do CM+Fit na dieta com nível baixo de Ca e P_d mostrou efeito aditivo, melhorando ($P < 0,05$) a digestibilidade da MS em 2,2% e da EDI_{ap} em 2%, quando comparado com a dieta com CM e sem fitase. A adição nas dietas do CM melhorou ($P < 0,05$) a digestibilidade da PB em 3%; do P, em 5%; e do Ca, em 8%, quando comparado com o controle. Novamente, o efeito aditivo foi observado ($P < 0,05$), com a adição da fitase (CM+Fit) para o P (4,2%) e Ca (4,7%), quando comparado com a dieta sem fitase e CM.

ABSTRACT

TEJEDOR, Anel Atencio. M.S. Universidade Federal de Viçosa, June 2000. **Use of enzyme in broiler diets based on corn and soybean meal.** Adviser: Luiz Fernando Teixeira Albino. Committee Members: Horacio Santiago Rostagno and Ricardo Frederico Euclides.

Three experiments were conducted to evaluate the effect of microbial enzymes on the ileal performance of the birds, digestibility coefficient of dry mater (DM), crude protein (CP), calcium (Ca) and phosphorus (P) and apparent ileal digestible of energy (AIDe). Using *Avian Farm* male broiler chicks and diets based on corn and soybean meal (SBM) with different level of Ca and available P (aP). Chromic oxide (0,5%) was added to the diets, as an indigestible marker, to estimate ileal digestibility. All chicks were killed at the end of the experiments to collect the ileal content at 19 days for experiment 1 and 2 and 25 days for 3. The first experiment, 10 days trial (d-trial) using 8 day-old (d-old) broilers, was a factorial arrangement of 2 x 2, with six replicates (n=240, 10 chicks per unit). Diets were formulated to contain two levels of Ca e aP normal (1%Ca/0.45%P_d) and low (0.70%Ca/0.32%P_d) x two level of phytase (Phy) enzyme (0 and 1 kg/ton of diet). The diets with Phy had a higher digestibility (P<0.05) for DM (5.2%), CP (2.4%) and AIDe (3,8%). Phytase improve (P<0,05) the digestibility of P and Ca in both levels of Ca and aP. The second experiment, 14 d-trial using 10 d-old broilers, was in a factorial arrangement of 2 x 3, with

eight replicates (n=384, 8 chicks per unit). Diets were formulated to contain two levels of Ca and aP normal (0.93%Ca/0.45%P_d) and low (0.80%Ca/0.33%P_d) x two commercial phytase enzyme, 1 and 2 and a control. Excreta were collected for each cage from day 19 - 24 to evaluate nitrogen-corrected apparent metabolizable energy (AMEn). Diets and broilers were weighted at the beginning and at the end of the experiment to evaluate the performance. Phy 1 improve (P<0.05) the weight gain in 3.4% and phy 2 in 2.8%. Both enzymes improved (P<0.05) feed gain in 3%. Phytase improve the digestibility of CP, Ca, P and AIDe (P<0.05). Phy 1 increase the digestibility in 1, 5, 3.5 and 1%, respectively and phy 2 in 1.7, 4, 5 and 1%, respectively. It was not observed statistical difference between phy 1 and 2 neither in the performance nor in the nutrient's digestibility. The third experiment, 10 d-trial using 8 d-old broilers, was a factorial arrangement of 2 x 3, six replicates (n=360, 10 chicks per unit). Diets were formulated with low level of amino acids and energy, two levels of Ca and aP normal (1%Ca/0.45%P_d) and low (0.70%Ca/0.32%P_d) x two combination of a multienzyme complex (MC - containing amylase, protease and celulase) and phytase. The combination were 0 kg/ton for the control (C), 2kg/ton (MC) and 2kg/ton plus 1 kg/ton of phy (MC+phy). The dosage of the MC was based on soybean meal and phytase on the diet. Diets with normal level of Ca e aP and enzymes (+MC) had a higher digestibility (P<0.05) for DM (4.1) and a higher AIDe (1.4%). Furthermore, the addition of CM+phy to the diets with low level of Ca and aP, showed an additive effect, improving (P<0.05) the digestibility of DM (2.2) and AIDe (2%) when compare with the diet with CM without phy. The addition of CM in the diets improves (P<0.05) the digestibility of CP (3), P (5%) and Ca (8%) when compared with the control. Again, an additive effect was observed with the addition of phy (CM+phy) for P (4.2%) and Ca (4.7%) when compared with the diets without phy (CM).

1. INTRODUÇÃO

A avicultura é um dos segmentos mais desenvolvidos da agropecuária mundial, caracterizada por nível tecnológico muito elevado e manejo sofisticado. O êxito na produção avícola é resultado da integração de melhoramento genético, nutrição, sanidade e manejo. Dentro da nutrição, a formulação de uma dieta balanceada e econômica que atenda às exigências nutricionais das aves, nas diferentes fases de criação, é fundamental para o sucesso da produção.

Na avicultura, as enzimas exógenas, produzidas por microrganismos, vêm sendo estudadas com frequência, devido à ausência ou à produção insuficiente de algumas enzimas endógenas capazes de atuar na digestão de certos componentes encontrados nos alimentos de origem vegetal (CANTOR, 1995). Como exemplo, citam-se os ingredientes ricos em fósforo fítico ou em polissacarídeos não-amídicos, os quais podem ser considerados fatores antinutricionais e, portanto, não podem ser digeridos eficientemente pelas aves.

O fósforo e os aminoácidos têm sido, nos últimos anos, os nutrientes mais estudados no campo da nutrição de aves. Diversas particularidades têm contribuído para esse grande interesse, valendo a pena destacar que o fósforo e os aminoácidos são nutrientes caros, tendo grande participação na relação final de custo das formulações.

O fósforo e o nitrogênio são nutrientes essenciais em vários processos metabólicos dos animais; contudo, os movimentos ambientalistas têm forçado a

redução destes nutrientes poluentes, que podem ser excretados em maior ou menor quantidade, dependendo da manipulação das fórmulas das dietas e das enzimas adicionadas. Sob o ponto de vista da nutrição, a viabilização técnica e econômica das enzimas exógenas é marco importante, pois permite melhor aproveitamento de nutrientes e a utilização de alguns ingredientes muitas vezes disponíveis e de utilização limitada.

As dietas tradicionais para aves baseiam-se, principalmente, em milho e farelo de soja. Incremento na utilização do fósforo, dos aminoácidos e da energia, por meio da utilização de enzimas microbianas nestes ingredientes, representaria economia significativa no custo final da formulação das rações.

Assim, é fundamental a realização de trabalhos de pesquisa visando conhecer o efeito da adição de enzimas microbianas exógenas, separadas ou associadas, sobre a digestibilidade dos nutrientes em diferentes ingredientes utilizados nas dietas para aves.

Os objetivos do presente trabalho foram:

1) determinar os efeitos da adição de três enzimas fitase comerciais em dietas à base de milho e farelo de soja, com diferentes níveis de Ca e P_d , sobre o desempenho de frangos de corte; os coeficientes de digestibilidade ileal da matéria seca, da proteína bruta, da energia bruta, do cálcio e do fósforo; e os valores de digestibilidade ileal e metabolizável aparente da energia, mediante ensaio biológico, utilizando pintos de corte; e

2) determinar os efeitos da adição de um complexo multienzimático – protease, amilase e celulase –, ou a combinação destas com a fitase, em dietas à base de milho e farelo de soja, deficientes em energia e aminoácidos, e de dois níveis de Ca e P_d sobre os coeficientes de digestibilidade ileal aparente de matéria seca, proteína bruta, energia bruta, cálcio e fósforo e os valores da energia digestível ileal aparente e metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio, mediante ensaio biológico, utilizando pintos de corte.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Características das enzimas

As enzimas – proteínas com papel muito específico nas reações bioquímicas –, encontram-se entre as mais notáveis macromoléculas conhecidas, devido à sua extraordinária especificidade e ao seu poder catalítico (LEHNINGER, 1984). Segundo o mesmo autor, as enzimas atuam em condições de pH entre 3 e 9 e temperatura menor que 90°C, sendo classificadas com base nas reações que catalisam.

Na prática, somente pequeno número de enzimas conhecidas pode ser utilizado em aplicações técnicas. As limitações principais são disponibilidade limitada, custos elevados e estabilidade operacional.

A estrutura molecular das enzimas é bastante frágil e pode ser desnaturada pelo calor, pelos ácidos, pelas vitaminas, pelos minerais, pelos metais pesados e por outros agentes oxidantes – a maioria usualmente encontrada no premix. Por essa razão, existe a preocupação de que as enzimas utilizadas na alimentação animal possam manter nível de atividade suficiente para se obter resposta significativa (CLASSEN et al., 1991).

Segundo o FENNFEEDES INTERNATIONAL (1991), as enzimas industriais devem ser estáveis e inativas, durante o armazenamento; compatíveis com minerais, vitaminas e outros microingredientes encontrados no premix;

termoestáveis a todas as temperaturas encontradas durante o processo de produção do alimento; e resistentes a variações de pH e atividade proteolítica no trato digestivo do animal. Nas aves, os baixos pH do proventrículo e da moela podem levar à inativação enzimática. No entanto, o trânsito nestes compartimentos é relativamente rápido e não chega a causar a desnaturação das enzimas.

Segundo o CONSELHO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL - CBAA (1998), a fitase pertence à classe dos pró-nutrientes, atuando na liberação de ortofosfatos inorgânicos da molécula de myo-inositol, sendo a sua atividade expressa em FTU ou U/kg, que corresponde à liberação de 1 $\mu\text{m Pi}$ do fitato de Na, em 1 minuto, à temperatura de 37°C e pH 5,5.

2.2. Obtenção das enzimas

O desenvolvimento comercial recente de enzimas, como, por exemplo, o de fitase exógenas, é grande promessa para reduzir os níveis de P e N na dieta, pelo incremento na habilidade das aves em utilizar uma porção do P fítico e dos aminoácidos. Muitos fungos, bactérias e leveduras têm capacidade de produzir fitase. A fitase microbiana produzida pelo *Aspergillus ficuum* foi primeiramente utilizada como aditivo nas dietas de aves por NELSON et al. (1971).

As enzimas microbianas utilizadas na alimentação animal podem ser produzidas industrialmente por laboratórios especializados, por meio de culturas aeróbias, sendo derivadas da fermentação fúngica, bacteriana e de leveduras (BROZ et al., 1994).

Microorganismos como o *Aspergillus ficuum*, *Aspergillus niger*, *Pseudomonas*, *Bacillus subtilis* e *Saccharomyces cerevisiae* têm capacidade de produzir a fitase. O processo de produção de enzimas envolve fermentação, extração, separação e purificação.

O nível de atividade enzimática é mantido durante três meses em produtos líquidos e por seis meses na forma em pó, quando estocados em temperaturas

inferior a 25°C. Quando a enzima se encontra misturada na dieta, sua atividade pode ser mantida por, no mínimo, três meses a 25°C (COWAN, 1993). Além disso, realiza-se prévia seleção de cepas produtoras de enzimas mais resistentes às condições adversas do trato digestivo das aves (CLASSEN et al., 1991) ou são incorporados genes responsáveis pela produção de fitase resistentes a condições de temperaturas mais elevadas, provenientes de alguns microrganismos, em fungos ou bactérias, para serem produzidos industrialmente.

Outras enzimas podem ser produzidas pela indústria para serem utilizadas como aditivos nas rações de animais, no entanto, mais trabalhos são necessários para determinar a maneira como estas atuam e se sua incorporação nas dietas é economicamente viável; como exemplo, podem-se citar as protease, a amilase e a celulase, extraídas da levedura seca da cana-de-açúcar.

2.3. Efeito da temperatura

Existem alguns fatores limitantes na adição de enzimas nas dietas para aves. SWICK e IVEY (1992), PERNEY et al. (1993) e FERKET (1993), estudando as implicações nutricionais e econômicas da adição de fitase, constataram que a efetividade de seu uso depende de fatores como facilidade de incorporação nas rações, processo de fabricação das enzimas, entre outros. As condições de processamento dos alimentos – peletização, armazenamento, temperatura, umidade, tempo e pressão –, as condições de acidez no proventrículo, a proteólise intestinal e a consistência de resultados podem comprometer a utilização das enzimas na dieta de animais. Algumas técnicas para proteger as enzimas têm sido desenvolvidas, como adsorção em carreadores, encapsulação, ou sua inclusão após o processamento das rações.

SIMMONS et al. (1990) verificaram que a atividade da fitase nas rações não foi afetada pelo condicionamento a 50°C e pela peletização a 78°C. Entretanto, segundo os autores, aumentos da temperatura de condicionamento e de peletização para 60 e 87°C, respectivamente, provocaram redução significativa na atividade da fitase.

2.4. Importância do ácido fítico, da enzima fitase, do fósforo e cálcio

O fósforo (P) e o cálcio (Ca) são minerais essenciais para o crescimento e a formação do esqueleto das aves. O fósforo, segundo mineral mais abundante no corpo animal, dispõe de 80 a 85% nos ossos. Devido à grande demanda para o desenvolvimento adequado das aves, é necessário fornecer quantidade adequada, com certa margem de segurança. Carência no fornecimento inadequado de P e Ca pode levar a conseqüências severas como redução no desempenho, aumento da condenação de carcaças, mortalidade excessiva e carcaças de baixa qualidade. Desenvolvimento anormal das pernas é um dos sinais mais marcantes da deficiência de P e Ca.

O excesso de Ca interfere na absorção de outros minerais, principalmente P. A relação de, aproximadamente, 2:1 de Ca:P_d (peso/peso) é apropriada para a maioria das dietas de aves, exceto para galinhas poedeiras.

A maioria das rações de aves é composta por ingredientes de origem vegetal, como o milho e o farelo de soja, os quais representam, aproximadamente, 90% do total da ração de frangos de corte. A maior parte do fósforo presente nestes alimentos encontra-se na forma de hexafosfato de inositol ou ácido fítico (Quadro 1). Segundo informações apresentadas nas publicações de ROSTAGNO et al. (1983) e do NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC (1994), do conteúdo total de fósforo dos vegetais, a forma não-fítica representa de 30 a 40%, sendo considerada, em sua maior parte, disponível.

Entretanto, variações individuais no conteúdo de fósforo fítico de ingredientes, bem como a disponibilidade das formas fítica e não-fítica, não são consideradas. Na maioria dos grãos de monocotiledôneas, o fitato forma parte das camadas externas, como exemplo, o milho tem 90% do fitato na porção germinativa. Nas dicotiledôneas, encontra-se sobretudo no endosperma; estes corpos protéicos não têm localização específica, pois estão distribuídos pela semente. As plantas armazenam o fósforo na forma de ácido fítico (molécula rica P), o qual é hidrolisado pela enzima fitase do grão no momento da germinação.

Em rações para aves, o fornecimento de P_d pelas fontes de origem vegetal não é suficiente para atender as exigências nutricionais, a fim de proporcionar

adequado desempenho e mineralização óssea, havendo necessidade de suplementação com fontes de P na forma inorgânica. No entanto, a preocupação com a contaminação ambiental tem levado os nutricionistas a fornecerem níveis de P que mantenham o desempenho econômico e, ao mesmo tempo, reduzam a excreção do P (WALDROUP, 1999).

Quadro 1 - Fósforo fítico presente em vários alimentos

Alimento	% do P total		
	NELSON et al. (1968a, b)	SAUVEURS (1989)	JONGBLOED et al. (1993)
Milho 1	66	67	65,6
Cevada	56	56-72	--
Trigo	70,7	68.5	--
Sorgo	68	67	--
Aveia	--	75	--
Triticale	--	45	--
Farelo de trigo	70	--	80
Farelo de arroz	86	--	81,2
Farelo de soja	58	--	60,6
Farelo de algodão	70	70	75

Um dos principais problemas existentes para se reduzir o fósforo na excreta é a determinação da biodisponibilidade das diferentes fontes de P utilizadas nas dietas. Em função da variação na habilidade das aves em utilizar diferentes fontes de P, os nutricionistas têm utilizado grande margens de segurança, com o intuito de evitar problemas de produção. O fósforo dietético origina-se, principalmente, das plantas, dos alimentos de origens animal e da suplementação do P inorgânico.

O P presente nos alimentos vegetais pode ser separado em dois grupos: o P orgânico ligado na forma de sais (P fítico) e o P presente na forma inorgânica (P não-fítico). Há vários anos, tem-se acreditado que as aves são incapazes de

utilizar P fítico, porém o P restante da planta, o P da proteína animal e o P da suplementação inorgânica estavam prontamente disponíveis. Estudos recentes têm demonstrado que nenhum destes dois conceitos são totalmente corretos, haja vista que as aves são, provavelmente, capazes de usar uma porção do P fítico, sendo que a disponibilidade do P inorgânico é menor que 100% (VAN DER KLIS e VERSTEEGH, 1996; WALDROUP, 1999).

A maioria das pesquisas realizadas para determinar o requerimento de P para aves baseia-se nessas suposições. MITCHELL e EDWARDS JR. (1996) sugerem que cinza nos ossos e P no plasma são os parâmetros mais sensíveis e relevantes para a determinação das exigências de P nos animais.

Visando reduzir a excreção de P pelas aves com sucesso e manter a produtividade, deve-se considerar a origem do P das excretas e, se possível, reduzir a excreção. O P das excretas consiste na porção indigestível do P fítico, P não-fítico dos grãos, P indigestível de subprodutos de origem animal e suplementos minerais e P disponível em excesso (WALDROUP, 1999).

Dieta inicial para frangos à base de milho e farelo de soja, formulada para atender às recomendações do NRC (1994) de P, contém 0,45% de P não-fítico e 0,23% de P fítico. As aves apresentam deficiência ou ausência de fitase, enzima endógena, responsável pela quebra da molécula e subsequente liberação do P para absorção. Acredita-se que a maior parte excretada do P seja do ácido fítico. NELSON et al. (1971) foram os primeiros a demonstrar que a adição da enzima fitase, mioinositol-hexafosfato-fosfohidrolase, na dieta de frangos foi efetiva na utilização do P fítico.

Singsen e Mitchell (1944), citados por NELSON (1967), ao estudarem o efeito da adição de ingredientes (alfafa), com aparente atividade enzimática elevada, a dietas de aves, observaram aumento no ganho de peso e nas cinzas do osso. No mesmo estudo, a alfafa foi adicionada à dieta suplementada com P inorgânico e não mostrou efeito.

Pode-se concluir que, pelos resultados reportados, algumas das diferenças observadas na habilidade das aves em utilizar o P-fítico podem ser atribuídas à presença de fitase nos alimentos utilizados na dieta experimental, e não à produção de fitase pelas aves.

O maior ou menor efeito da adição de enzima fitase microbiana na dieta está diretamente relacionado com a presença de fitase nos grãos utilizados.

Atualmente, muitos centros de pesquisas, por meio da engenharia genética, estão tentando produzir grãos com elevados níveis de fitase ou baixas concentrações de ácido fítico.

Apesar dos escassos estudos sobre ácido fítico, evidências com outros fatores antinutricionais (como os inibidores da tripsina e polissacarídeos não-amiláceos) indicam que estes componentes aumentam significativamente o trânsito intestinal dos nutrientes nos animais monogástricos.

Até recentemente, acreditava-se que o ácido fítico era fator limitante apenas para o fósforo presente nos ingredientes vegetais; contudo, estudos mostram que o efeito prejudicial da molécula do ácido fítico, em monogástricos, vai além da diminuição da disponibilidade do fósforo. Em seu estado natural, o fitato está complexado a vários cátions, proteínas, lípidos (COSGROVE, 1966) e ao amido (THOMPSON e YOON, 1996).

A associação entre o ácido fítico e a proteína da planta inicia-se durante o amadurecimento, quando o fitato se acumula, principalmente, na camada de aleurona rica em proteína, nos grãos de cereais e no corpo protéico dos grãos das leguminosas. A molécula de ácido fítico tem capacidade de se ligar à proteína, em meios ácido, alcalino e neutro (CHERYAN, 1980). Acredita-se que a interação entre o ácido fítico e a proteína seja do tipo iônica e dependa do pH (Anderson, 1985, citado por SEBASTIAN et al., 1997).

Em pH baixo, o ácido fítico está carregado negativamente e a proteína, positivamente; como resultado, o complexo fitato-proteína é formado (Saio et al., 1967, citados por SEBASTIAN et al., 1997). Também, a formação do complexo insolúvel ocorre por ligações eletrostáticas com arginina, lisina e resíduos de histidina. Assim, quando o pH se aproxima do ponto isoelétrico, a carga da

proteína é neutralizada e, por conseguinte, perde a capacidade de ligação com o ácido fítico e torna-se solúvel. Neste estado solúvel, a proteína, ainda, pode se complexar ao ácido fítico, devido à presença de cátions divalentes – Ca, Mg ou Zn –, os quais geralmente funcionam como pontes entre as cargas negativas do grupo carboxila da proteína e o fitato, formando os complexos fitato-cátion-proteína (Okubo et al., 1976; Anderson, 1985, citados por RAVINDRAN et al., 1999).

Trabalhos realizados *in vitro* mostram que os complexos fitato-proteína são insolúveis e menos susceptíveis ao ataque, pelas enzimas proteolíticas, que as proteínas em estado livre (RAVINDRAN et al., 1999). A redução na solubilidade das proteínas, pela formação dos complexos, pode afetar negativamente algumas propriedades funcionais das proteínas, que são dependentes da solubilidade e hidratação (REDDY et al., 1982).

O ácido fítico, também, inibe uma série de enzimas, como a pepsina e tripsina (Camus e Laporte, 1976, Caldwell, 1992, citados por RAVINDRAN et al., 1999). Quando a fitase microbiana se quebra, a ligação éster libera o P do fitato, das proteínas e dos aminoácidos (AAs), tornando-os disponíveis para absorção. A formação dos complexos fitato-proteína não tinha recebido atenção até recentemente.

A utilização de níveis de 250, 500 e 750 FTU/kg de fitase, em rações contendo 0,32; 0,34; 0,38; e 0,44 de fósforo disponível, foi avaliada por PERNEY et al. (1993). Esses autores, utilizando pintos de corte de 4 a 14 dias de idade, verificaram que aves recebendo ração com 0,32% de fósforo disponível, suplementado com 500 FTU/kg de fitase, obtiveram ganho de peso equivalente ao daquelas que receberam ração com 0,38% de P disponível. A adição de fitase aumentou significativamente o conteúdo de cinzas na tíbia, a resistência à quebra e a retenção de fósforo, independentemente do conteúdo de fósforo das rações.

BROZ et al. (1994) submeteram pintos de corte a rações fareladas contendo 0,44; 0,45; e 0,52% de fósforo total, exclusivamente de origem vegetal, suplementadas com 0, 125, 250 e 500 FTU/kg de fitase. A adição da enzima

aumentou linearmente o ganho de peso, o consumo de ração, o teor de fósforo inorgânico no plasma e os teores de fósforo na tíbia.

Trabalhando com rações formuladas à base de milho e farelo de soja, contendo 0,47 de P_d e 0,71% de P_t , ZANINI (1997) avaliou os efeitos da adição de 500 FTU/kg de fitase, na ração de pintos de corte, sobre o desempenho, as características ósseas e o balanço de nutrientes. A adição de fitase aumentou, significativamente, o teor de cinza na tíbia e a quantidade de fósforo e nitrogênio retido. Entretanto, o desempenho e os coeficientes de retenção de matéria seca, energia, Ca, Zn, Cu e Fe não foram influenciados.

KERSEY et al. (1998), comparando o milho geneticamente modificado e o normal, com baixos níveis de P fítico e maiores de P disponível, observaram redução de 28,57% na excreção do fósforo e, quando adicionaram fitase a ambos, observaram que a enzima, ainda, proporcionou redução de 24,22% na excreção do fósforo para a dieta com milho melhorado.

RAVINDRAN et al. (1999) mostraram que a presença e a atividade da fitase nos vegetais variam com a espécie da planta, não sendo proporcional à quantidade de P fítico desta. A fitase de origem vegetal pode perder sua atividade durante o processamento ou em pH ácido estomacal. A fitase presente no milho e no farelo de soja apresenta pouca ou nenhuma atividade (10 e 30 FTU/kg, respectivamente), enquanto o trigo, valores bem mais elevados (340 FTU/kg). Embora a presença da fitase intestinal, em aves, tenha sido verificada em vários estudos (DAVIES et. al., 1970; MCCUAIG et al., 1972), a utilização do fósforo fítico parece ser bastante limitada.

O desempenho de frangos de 8 a 21 dias de idade recebendo dietas à base de milho e farelo de soja normais e deficientes em aminoácidos, com adição de 600 e 1.200 FTU/kg de fitase, foi estudado por BIEHL e BAKER (1997). Esses autores observaram melhora significativa na conversão alimentar apenas para as dietas deficientes em AAs e com 1.200 FTU/kg de fitase. Um ensaio de digestibilidade foi conduzido pelos mesmos pesquisadores, utilizando galos cecectomizados, alimentados com farelo de soja descascado, contendo três níveis de fitase, 0, 600 e 1.200 FTU/kg. Verificou-se aumento de 2% na digestibilidade

verdadeira dos AAs, com a adição de 1.200 FTU/kg, porém não foram constatados efeitos significativos para a digestibilidade dos AAs e a energia metabolizável verdadeira corrigida pelo N (EMVn).

RAVINDRAN et al. (1999) estudaram o efeito da fitase microbiana (1.200 FTU) sobre a digestibilidade ileal aparente dos AAs de vários alimentos, utilizando frangos de corte machos de 35 a 42 dias de idade. Os autores observaram aumento na digestibilidade para os 15 AAs de cada alimento: milho (3%), sorgo (6,3%), trigo (9%), farelo de soja (4%), farelo de canola (2,6%), farelo de algodão (4,8%), farelo de girassol (4,6%), farelo de trigo (3,7%) e farelo de arroz (7,7%). Quando os AAs foram analisados separadamente, o incremento na digestibilidade foi maior para os AAs treonina e valina em todos os alimentos. A variação observada foi influenciada pela digestibilidade da proteína, mas não pela concentração de ácido fítico da dieta.

A maior digestibilidade com adição de fitase microbiana foi encontrada no trigo. Sabe-se que grande parte do fitato, no trigo, se encontra na camada de aleurona e acredita-se que a ruptura das paredes destas células pela fitase microbiana aumenta a digestibilidade. O trigo parece possuir elevadas concentrações de fitase endógena, pois apresenta grande valores de atividade enzimática.

SOHAIL e ROLAND (1999) estudaram o efeito da inclusão de fitase (0, 500, 750 FTU) em dietas com 0,325 e 0,225% de P_d e 0,75% de Ca, utilizando frangos machos, Ross x Hubbard, de 3 a 6 semanas de idade. Um tratamento controle com 0,85% de Ca e 0,43% de P_d e foi utilizado. Não foi observada diferença entre os tratamentos controle e aqueles com níveis menores de Ca e P_d (0,75%Ca/0,33% P_d) para os parâmetros de desempenho e resistência dos ossos à quebra. No entanto, quando a dieta foi reduzida para 0,750%Ca/225% P_d , efeito negativo foi observado para os parâmetros de desempenho e características ósseas. A fitase melhorou significativamente o ganho de peso nos níveis mais baixo de P_d . A adição de fitase (300 FTU) a dietas com 0,225% de P_d melhorou significativamente o conteúdo de minerais, a densidade e resistência à quebra dos ossos, quando comparada à dieta com 0,325% de P_d . Os autores concluíram que a

adição de fitase em níveis baixos de P_d e Ca proporcionou melhora no desempenho e nas características ósseas.

NAMKUNG e LEESON (1999) estudaram o efeito da fitase microbiana sobre o desempenho, a EMAn e a digestibilidade ileal do N e dos AAs, utilizando pintos de corte machos de 1 a 15 dias de idade e dietas com 0,90% Ca/0,45% P_d e 0,79%Ca/0,35% P_d , mais adição de 1,149 U/kg de fitase e óxido crômico a 0,04% como indicador. Esses autores não observaram diferença no desempenho entre os dois tratamentos, mas a dieta com baixos níveis de Ca e Pd e fitase apresentou maior valor de EMAn, quando comparado com o grupo controle, e aumento na digestibilidade dos aminoácidos essenciais valina e isoleucina e os aminoácidos totais.

Assim, a adição de fitase microbiana reduz a necessidade de suplementação de P e outros nutrientes, pelo aumento da disponibilidade dos cátions ligados ao ácido fítico, e apresenta importante potencial para redução da poluição ambiental, devido às menores excreções de P e N. Em outra abordagem, os avanços relacionados à alteração do fitato produzido pelas plantas melhoradas, ou à incorporação do gene da fitase no genoma dos alimentos, poderiam eliminar a necessidade de adição de fitase.

2.4.1. Efeito do cálcio e da vitamina D₃ sobre a adição da fitase

O Ca tem apresentado efeitos adversos na biodisponibilidade do P-fítico, Contrariamente, a molécula do ácido fítico reduz a biodisponibilidade do Ca. A suplementação de fitato já presente no ingrediente da dieta ou na forma química reduz a absorção do Ca (BRUNNER et al., 1954). A molécula de fitato é um complexo de Mg, K, Ca e sais de ácido fítico. Além disso, possui menos Ca que P, sendo possível que a molécula de fitato inative uma porção do Ca no trato digestivo, o que, provavelmente, acontece pela baixa relação Ca:P na molécula de fitato presente na planta.

As possíveis explicações para o decréscimo da biodisponibilidade do P fítico em dietas com níveis elevados de Ca são precipitação do fitato pelo Ca, por meio da formação do complexo Ca-fitato, o qual é menos acessível à fitase (WISE, 1983); diminuição da atividade da fitase por competição com o Ca pelo mesmo sítio ativo da enzima (MCCUAIG et al., 1972); e aumento do pH intestinal, resultado do incremento na concentração de Ca, o qual reduz a solubilidade de outros minerais, com conseqüente redução na absorção (SHAFEY e McDONALD, 1991).

QIAN et al. (1996), em trabalhos realizados com perus, observaram que a melhor resposta à adição de 600 FTU/kg de fitase foi obtida quando os níveis de Ca e P_t estavam baixos, 1,1:1.

YI et al. (1996), em trabalho realizado com diferentes níveis de fitase, 0, 350, 700 e 1050 FTU/kg, em dietas à base de milho e soja com 0,27% de P_d , relataram que a enzima melhora de forma linear o desempenho e a biodisponibilidade do P e diminui a excreção do P nas fezes, além do aumento da retenção de N e Ca. Segundo o mesmo autor, a adição de 650 a 750 FTU/kg de fitase corresponde ao incremento de 1 g de P_d em dietas à base de milho e farelo de soja. Para que sejam alcançados estes resultados, devem-se manter a relação Ca:pt e a quantidade de P_d , já que estes fatores afetam não só a liberação e a absorção do P, mas também a atividade da fitase (WISE, 1983; QIAN et al., 1996).

SEBASTIAN et al. (1996), submetendo pintos de corte de 1 a 21 dias de idade a rações deficiente em fósforo (0.31% de P_d e 1% de Ca), verificaram que a adição de 600 FTU/kg de fitase melhorou o ganho de peso, a retenção de Ca, P e N e o teor de cinzas da tibia. No entanto, decréscimo para os mesmos parâmetros foi encontrado quando se utilizaram níveis mais elevados de Ca (1,25%). Esses autores relataram que a hidrólise da fitase foi completamente reduzida pelo altos níveis de Ca, reduzindo, conseqüentemente, a biodisponibilidade do fósforo fítico e dos outros nutrientes.

QIAN et al. (1997) estudaram o efeito de quatro níveis de Ca:Pt (1,1; 1,4; 1,7; e 2,1:1) vs quatro níveis de fitase (0, 300, 600, 900 U/kg) e dois níveis de

vitamina D₃ (66 e 660 µg), em rações à base de milho e farelo de soja com pintos de corte de 1 a 21 dias, e observaram que o ganho de peso, o consumo de ração, o conteúdo de cinza nos ossos, a retenção de Ca e P e, principalmente, a atividade da enzima fitase aumentaram de forma linear, com o incremento da adição da fitase, e sinergeticamente com adição de vitamina D₃. No entanto, foram negativamente influenciados, à medida que se elevou a relação Ca:Pt. O aumento da relação Ca:Pt diminuiu todos os parâmetros analisados na presença ou ausência de fitase e D₃. Os autores também relataram que a relação Ca:Pt entre 1,1:1 e 1,4:1 é o ponto crítico para melhorar a utilização do Ca e P do fitato pelo uso da fitase microbiana e da vitamina D₃. A utilização da vitamina D₃ em dietas à base de milho e farelo de soja melhorou a retenção e o conteúdo de Ca e P nos ossos de 5 a 12% nas aves.

SEBASTIAN et al. (1997), quando submeteram pintos de corte, machos e fêmeas, a rações práticas com diferentes concentrações de Ca e P_d, suplementadas ou não com 600 FTU/kg de fitase, concluíram que as rações com baixo nível de Ca e P_d (0,6%Ca/0,35%P_d), suplementadas com fitase, proporcionaram desempenho equivalente ao obtido com aves recebendo rações contendo níveis adequados de Ca e P_d (1%Ca/0,45% P_d). A adição de fitase melhorou o desempenho e a digestibilidade de aminoácidos e proteína bruta, particularmente nas rações com níveis baixos (0,6%Ca/0,35% P_d) de Ca e P_d. Os autores não encontraram resultados satisfatórios no desempenho e na digestibilidade de aminoácidos, quando se adicionou fitase nas rações deficientes em fósforo (0,35% de P_d) e com nível adequado de Ca (1%), já que os valores obtidos não foram equivalentes aos das aves alimentadas com rações contendo níveis adequados de P_d e Ca.

Alguns pesquisadores acreditam que a adição de colicalcilferol na dieta melhora a absorção de cálcio e fósforo, pelo aumento da hidrólise do fitato (SHAFEY e McDONALD, 1991). No entanto, existem poucos trabalhos na literatura que confirmem estes achados.

A principal função da vitamina D é melhorar a absorção do Ca. Nicolaysen et al. (1953), citados por NELSON (1967), concluíram que o aumento da

absorção de P, com a utilização da Vit. D, é resultado do aumento na absorção do Ca.

WALDROUP et al. (1964) aumentaram o ganho de peso em frangos, em dietas com fosfato bicálcico e fosfato de cálcio, pelo aumento na adição de vitamina D na dieta. Maior adição de vitamina D₃ nas rações de aves está relacionada a aumento da retenção P fítico (EDWARDS JR., 1993; MOHAMMED et al., 1991). O possível mecanismo que explicaria essa ação da vitamina D₃ seria a maior hidrólise do fitato pelo estímulo da absorção do cálcio, com aumento na solubilidade do fitato (MOHAMMED et al., 1991) e maior absorção do fósforo (WASSERMAN e TAYLOR, 1973).

QIAN et al. (1997) observaram que a retenção do P aumentou linearmente com a adição de fitase, sendo maior com o nível de 660 µg de D₃ do que com o nível de 66 µg de D₃ por kg de ração. A ação da fitase pode ser potencializada pela adição de maiores níveis da Vit. D₃, entretanto, mais pesquisas devem ser realizadas para confirmar esta hipótese.

2.5. Utilização de complexos multienzimáticos

O fato de as enzimas serem específicas em suas reações determina que os produtos que tenham só uma enzima sejam insuficientes para produzir o máximo benefício. Isto sugere que misturas de enzimas sejam mais eficientes no aproveitamento dos nutrientes das dietas, pois atuam sobre uma série de substratos, e mais efetivas em frangos jovens (0 - 15 dias de idade), porque ainda não apresentam desenvolvimento completo do sistema enzimático (Vanbelle, 1992, citado por BORGES, 1997).

Os cereais, como o milho, e as leguminosas, como a soja, são os principais componentes das dietas para aves. A utilização dos nutrientes presentes no milho, geralmente, é considerada elevada. O grão de soja possui fatores antinutricionais, como o inibidor da tripsina, das hemaglutininas e dos polissacarídeos não-amiláceos (NSPs). Os elevados níveis de proteína e o bom balanceamento de AAs fazem do farelo de soja um ingrediente valioso para as

dietas dos animais. Entretanto, o valor nutricional é reduzido pela presença de fatores antinutricionais.

Nos cereais, o amido representa cerca de 55 a 70% de seu peso. Este nutriente se encontra sobre a forma de grânulos no endosperma e se mantém estável, graças a uma matriz protéica, constituída por glutamina e prolamina. O endosperma encontra-se contido por uma camada de células de parede grossas, conhecida como *aleurona* a qual contém as enzimas digestivas necessárias para a liberação dos nutrientes do endosperma na germinação. O pericarpo envolve a capa de *aleurona* e é constituído por várias camadas de células dispostas de forma a proteger o grão. Em razão de as paredes celulares do pericarpo, *aleurona* e endosperma conterem celulose e polissacarídeos não-amiláceos, as aves não possuem capacidade enzimática para digerir estes carboidratos (BEDFORD et al., 1991).

Os carboidratos e as proteínas são nutrientes muito importantes nos cereais e nas leguminosas. Algumas vezes, são encontrados formando moléculas complexas, chamadas polissacarídeos não-amiláceos (NSPs). O farelo de soja, por exemplo, contém aproximadamente 20% (na MS) de NSPs, de digestibilidade nula, não sendo utilizado pelo organismo das aves jovens, conforme Adas (1992), citado por CHARLTON (1996).

A cevada e o trigo talvez contenham níveis variáveis de polissacarídeos não-amiláceos (NSPs), os quais reduzem o desempenho de pintos de corte. Em regiões onde as indústrias avícolas usam cereais, as enzimas podem reduzir estes efeitos (ANNISON, 1991).

Segundo KERNKANP e DURAN (1991), os PNA presentes nas fibras de alguns grãos apresentam, no trato digestivo, efeitos negativos sobre a digestibilidade de nutriente, já que envolvem os nutrientes que se encontram no interior da célula e dificultam o acesso das enzimas (endógenas) necessárias para a degradação, além de provocarem a formação de gel, que dificulta a digestão e absorção dos nutrientes, e aumentarem a viscosidade da digesta, diminuindo o trânsito do bolo alimentar pelo intestino, com conseqüente diminuição do consumo.

Desse modo, existe grande interesse em eliminar estes polímeros, que, de certa maneira, encapsulam os componentes nutricionais disponíveis. Algumas técnicas de processamento, particularmente a peletização e a extrusão, resultam na destruição do endosperma e na gelatinização do amido, conduzindo a aumento da digestibilidade e à melhoria do desempenho das aves, no entanto, o processamento, geralmente, não é suficiente (BEDFORD et al., 1991).

Em função disso, vários estudos vêm sendo realizados por meio da adição de enzimas exógenas, particularmente na forma de "complexo multienzimático", no intuito de aumentar a digestibilidade destes nutrientes e reduzir o efeito de fatores antinutricionais presentes nos grãos (CHARLTON, 1996).

Embora o uso das enzimas, inicialmente, tenha sido originado para corrigir os inconvenientes dos cereais, não existiam dúvidas do grande potencial para melhorar a digestibilidade das proteínas vegetais, como, por exemplo, o farelo de soja, componente universal utilizado nas dietas para aves (Mcnab e Pugh, 1993, citados por CHARLTON, 1996).

MARSMANN et al. (1997), em estudos realizados com frangos de corte, *Ross*, fêmeas, de 7 a 25 dias de idade, alimentados com dietas à base de farelo de soja (não-tostado, tostado e extrusado), adicionadas de complexo multienzimático (protease e carboidrase), separadas ou em combinação, observaram que adição da enzima melhorou a digestibilidade ileal aparente da proteína bruta (85,2 vs 83,7) e dos polissacarídeos não-amiláceos (20,6 vs 14,5%), quando comparados com os grupos que não receberam a enzima. Entretanto, a adição da enzima não resultou na melhora do desempenho das aves. No mesmo estudo, a utilização conjunta de protease e carboidrase, embora não-significativa ($P > 0,05$), mostrou efeito aditivo sobre o ganho de peso e a conversão alimentar, em comparação ao grupo que recebeu as enzimas separadamente, indicando que, pela proteólise e pela degradação da parede celular, alguns nutrientes são melhores absorvidos pelo trato gastrointestinal das aves.

ZANELLA et al. (1999) estudaram o efeito da adição das enzimas protease, amilase e xilanase, na forma de complexo multienzimático, sobre a digestibilidade de nutrientes e o desempenho de frangos, utilizando dietas à base de milho e farelo de soja (FS) ou soja extrusada (SE) ou soja tostada (ST). Para avaliar a digestibilidade, utilizaram-se o método de Sibbald, a análise de excreta e as análises de digesta ileal.

Somente a análise da digesta ileal, utilizando frangos com 37 dias de idade, apresentou, com consistência, diferenças entre as sojas e a adição das enzimas sobre a digestibilidade de proteína bruta, aminoácidos, amido e gordura e os valores de energia metabolizável. A adição da enzima melhorou significativamente a digestibilidade da proteína bruta em 2,9% e dos aminoácidos valina e treonina, em 2,3 e 3,0%, respectivamente. No entanto, para lisina (incremento de 1,2%), metionina e arginina, não foi observada melhora significativa.

Para avaliar o desempenho das aves, dois experimentos foram conduzidos, utilizando-se frangos de corte de 1 a 45 dias. No experimento 1, utilizando dietas isocalóricas com e sem adição de enzimas (complexo multienzimático), observou-se melhora no ganho de peso e na conversão alimentar de 1,9 e 2,2%, respectivamente, com adição das enzimas. Todavia, no segundo experimento, foram comparadas dietas com níveis normais de energia metabolizável vs dietas formuladas com a adição de enzimas (0,1%) e níveis reduzidos de energia, com base na melhora provida no primeiro experimento pela inclusão da enzima. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos, mostrando que a adição das enzimas compensa completamente a redução no conteúdo de energia.

ZANINI (1997), utilizando dois níveis de energia (2.900 e 3.100 kcal/kg de ração), dois níveis de metionina e lisina (0,45 e 0,54% e 1,16 e 1,25%, respectivamente) e adição de protease (0 e 0,2%), em pintos de 1 a 21 dias de idade, não observou efeito sobre o desempenho e a digestibilidade aparente do nitrogênio e da energia bruta. TEJEDOR (1996), utilizando frangos de corte de 1 a 15 dias de idade, também não observou melhora significativa ($P>0,05$) no

desempenho, pela adição de 5 kg/t de farelo de soja de carboidrase (Allzyme Vegpro) em dietas à base de milho e farelo de soja. Todavia, a adição da enzima melhorou numericamente a conversão alimentar em 4,5%.

CAPÍTULO 1

EFEITO DA ADIÇÃO DA ENZIMA FITASE SOBRE A DIGESTIBILIDADE ILEAL APARENTE DE NUTRIENTES

1. INTRODUÇÃO

Aproximadamente 2/3 do fósforo presente nos vegetais estão na forma de fitato, o qual não pode ser hidrolisado pelos animais monogástricos, devido à ausência da enzima endógena fitase.

A molécula de fitato possui em sua estrutura grupos ortofosfatos altamente ionizáveis, os quais afetam a disponibilidade de cátions como o cálcio, zinco, cobre, magnésio e ferro, no trato gastrointestinal, o que resulta na formação de complexos insolúveis (SEBASTIAN et al., 1997, 1998; RIMBACH e PALLAUF, 1998; e SOHAIL e ROLAND, 1999). Os grupos ortofosfatos podem também unir-se a enzimas digestivas e proteínas dietéticas, reduzindo a digestibilidade de carboidratos e aminoácidos (FERKET, 1993; SEBASTIAN et al., 1996; e RAVINDRAN et al., 1999). Logo, a molécula de fitato é considerada poderoso fator antinutritivo para monogástricos.

SWICK e IVEY (1992) estudaram as implicações nutricionais e econômicas da adição de fitase, sendo que a efetividade do seu uso depende da

estabilidade a fatores como peletização, armazenamento, consistência de resultados e facilidade de incorporação nas rações. Assim, a adição de fitase microbiana reduz a necessidade de suplementação do fósforo e de outros minerais, pelo aumento da disponibilidade dos cátions ligados ao ácido fítico, e apresenta importante potencial para redução da poluição ambiental, devido às menores excreções de fósforo e nitrogênio.

Desenvolveu-se este trabalho com o objetivo de avaliar o efeito da enzima fitase sobre os coeficientes de digestibilidade ileal aparente da matéria seca, da proteína bruta, da energia bruta, do fósforo, do cálcio e dos valores de energia digestível ileal aparente das rações.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se um ensaio biológico, no período de 31/03/99 a 11/04/99, no Laboratório de Animais do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), utilizando-se o “método de coleta de digesta ileal”.

A temperatura média registrada foi de 26°C e a média das mínimas e máximas, de 23 e 29°C, respectivamente.

Foram utilizados 240 pintos de corte, machos, da linhagem *Avian Farm*, com 8 dias de idade e peso médio de 147 g. As rações (Quadro 1) à base de milho e farelo de soja foram elaboradas de acordo com as recomendações de ROSTAGNO et al. (1996).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em um arranjo fatorial 2 x 2 (dois níveis de Ca e P_d x dois níveis de fitase) e seis repetições de 10 aves por unidade experimental. Os níveis de Ca e P_d utilizados foram normais (1%Ca/0,45%P_d) e baixos (0,70%Ca/0,32%P_d). Os níveis para fitase foram 0 para o controle e 1 kg/t de dieta, de acordo com as recomendações da indústria. As rações foram misturadas com 0,5% de óxido crômico (Cr₂O₃), em misturador em Y, como indicador indigestível para a determinação do fator de indigestibilidade.

Quadro 1 - Composição das dietas experimentais

Ingrediente	Nível de Ca e Pd	
	Normal	Baixo
	(%)	
Milho	57,839	60,069
Farelo de soja, 45% PB	35,398	34,985
Óleo vegetal	2,680	1,916
Fosfato bicálcico	1,807	1,097
Calcário	1,132	0,781
Sal	0,400	0,400
Suplemento mineral ¹	0,050	0,050
Suplemento vitamínico ²	0,100	0,100
DL-Metionina (99%)	0,196	0,194
L-Lisina HCL (98%)	0,023	0,032
Cloreto de colina (60%)	0,060	0,060
Anticoccidiano ³	0,055	0,055
Promotor de crescimento ⁴	0,050	0,050
Antioxidante ⁵	0,010	0,010
Caulim	0,200	0,200
Valores calculados	100	100
Composição		
Proteína bruta (%)	21,20	21,20
Energia metabolizável (kcal/kg)	3,040	3,040
Metionina + Cistina (%)	0,878	0,878
Lisina (%)	1,178	1,178
Cálcio (%)	1,00	0,70
Fósforo disponível (%)	0,45	0,32
Fósforo total (%)	0,68	0,56

¹ Premix mineral contendo: Ferro, 100,0 g; Cobalto, 2,0 g; Cobre, 20,0 g; Manganês, 160 g; Zinco 100 g; Iodo, 2,0 g; e Excipiente q.s.p., 1000 g.

² Premix vitamínico contendo: Vit. A, 10.000.000 U.I; Vit. D₃, 2.000.000 U.I; Vit. E, 30.000 U.I; Vit. B₁, 2,0 g; Vit. B₂, 6,0 g; Vit. B₆, 4,0 g; Vit. B₁₂, 0,015 g; Ác. pantotênico, 12,0 g; Biotina, 0,1 g; Vit. K₃, 3,0 g; Ác. fólico, 1,0 g; Ác. nicotínico, 50,0 g; Selênio, 250,0 mg; e Excipiente q.s.p., 1000 g.

³ Coxistac 6%.

⁴ Virginiamicina 2%.

⁵ Butil hidroxi tolueno 99%.

Até os oito dias de idade, as aves receberam ração inicial para frangos de corte e ficaram alojadas em um galpão de alvenaria no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da UFV. Após esse período, os pintos foram transferidos para baterias frias tipo “PETER SIME” com 225 cm² de área (45cm de largura, 50 cm de comprimento e 40 de altura), em estrutura metálica, constituídas de compartimentos distribuídos em dois andares. Estas baterias, em número de quatro, estavam dispostas em uma sala de 68 m², com 2,80 m de pé direito e grandes janelas de vidro. Para maior conforto dos animais, foram utilizados dois aquecedores elétricos à noite, durante todo o período experimental.

O período experimental foi de 8 a 18 dias, no qual as aves receberam água e ração à vontade. Aos 19 dias de idade, todas as aves de cada repetição foram abatidas por deslocação cervical e imediatamente disseccionadas para obtenção da digesta, desde um ponto 5 cm antes da junção íleo-cecal até 15 cm em direção ao duodeno. Este segmento de 15 cm foi seccionado transversalmente e seu conteúdo, retirado e colocado dentro de um copo plástico.

As digestas coletadas foram acondicionadas em bandejas plásticas devidamente identificadas, pesadas e, posteriormente, armazenadas em congelador para posteriores análises de matéria seca, proteína bruta, energia bruta, fósforo, cálcio e cromo. Todas as análises foram realizadas em duplicatas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFV, por intermédio da metodologia descrita por SILVA (1990).

Uma vez obtidos os resultados de análises laboratoriais das rações e da digesta, foram calculados os coeficientes de digestibilidade ileal aparente de matéria seca, proteína bruta, energia bruta, fósforo e cálcio e os valores de energia digestível ileal aparente. Os coeficientes de digestibilidade e de energia digestível foram determinados com base nos níveis de cromo nas dietas e na digesta, por meio do cálculo do fator de indigestibilidade.

Os dados experimentais obtidos foram submetidos à análise de variância e à comparação de médias, utilizando-se o teste F do programa estatístico STATISTICAL ANALYSES SYSTEM - SAS (1996).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente da matéria seca (MS), da proteína bruta (PB), da energia bruta (EB), do fósforo (P) e do cálcio (Ca) são apresentados no Quadro 2.

A adição de fitase microbiana melhorou ($P < 0,05$) a digestibilidade ileal da MS, PB e EB em 5,2; 2,4; e 3,8%, respectivamente. Estes resultados confirmam o efeito benéfico da fitase microbiana sobre a hidrólise do ácido fítico, incrementando a digestibilidade ileal de nutrientes nas dietas de frangos. As bases para estes achados estão se tornando evidentes e claramente relacionadas com a capacidade do ácido fítico em se ligar a proteínas, AAs, amido e lipídios e da habilidade da enzima em liberar os nutrientes complexados à molécula pela hidrólise do ácido fítico (RAVINDRAN et al., 1999).

A digestibilidade ileal da matéria seca e da energia bruta melhorou ($P < 0,05$) para os baixos níveis de Ca e P_d , no entanto, para proteína bruta, aumentou no baixo nível de Ca e P_d ($P > 0,05$). SEBASTIAN et al. (1997) não observaram diferença estatística entre os níveis de Ca e P_d , dentro do requerimento e dos níveis subótimos, para a digestibilidade da proteína bruta em frangos de corte, contudo, os maiores valores de digestibilidade foram encontrados para os níveis normais, concordando com estes achados.

Quadro 2 - Efeito da adição de fitase sobre os coeficientes de digestibilidade (CD) ileal aparente de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), energia bruta (EB), fósforo (P) e cálcio (Ca)

Fitase (kg/ton.)	CDMS %			CDPB %			CDEB %			CDP %			CDCa %		
	Nível Ca e P _d ¹			Nível Ca e P _d ¹			Nível Ca e P _d ¹			Nível Ca e P _d ¹			Nível Ca e P _d ¹		
	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média
Controle (C)	64,98	66,88	65,93 ^B	77,82	76,64	77,23 ^B	69,75	70,14	69,95 ^B	57,85 ^{Bb}	63,03 ^{Ba}	60,43	40,57 ^{Bb}	62,79 ^{Ba}	51,68
C+1	68,74	70,02	69,38 ^A	79,47	78,62	79,05 ^A	72,22	73,07	72,65 ^A	61,04 ^{Ab}	69,68 ^{Aa}	65,34	51,95 ^{Ab}	65,87 ^{Aa}	58,91
Média	66,86 ^b	68,45 ^a		78,64 ^a	77,63 ^b		70,99 ^b	71,61 ^a		59,41	66,35		46,26	64,33	
Anova	Probabilidades do teste de F														
Ca e P _d	<0,01			<0,01			0,04			<0,01			<0,01		
Fitase (Fit)	<0,01			<0,01			<0,01			<0,01			<0,01		
Ca e P _d *Fit	0,38			0,63			0,39			<0,07			<0,01		
CV (%)	1,27			1,09			0,88			2,25			2,78		

^{ab} Médias seguidas por letras distintas na mesma linha são diferentes pelo teste F (P<0,05).

^{AB} Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna são diferentes pelo teste F (P<0,05).

¹ Níveis Ca e P_d: normal = 1%Ca:0,45%P_d e baixo = 0,70%a:0,32%P_d.

Interação significativa entre a fitase e o nível de Ca e P_d foi observada para os coeficientes de digestibilidade ileal do cálcio e fósforo ($P < 0,05$). É importante mencionar que, no presente experimento, a adição da fitase melhorou a digestibilidade do Ca e P para ambos os níveis de Ca e P_d . Baixos níveis de Ca e P_d apresentaram maiores valores de digestibilidade para a presença ou ausência de fitase.

Ao analisar os valores de energia digestível ileal aparente (EDI_{ap}), Quadro 3, observa-se que os baixos níveis de Ca e P_d apresentaram maiores valores de EDI_{ap} e a presença da fitase melhorou ($P < 0,05$) a energia digestível ileal aparente, em média de 121 kcal/kg de MS, ou seja, melhora de 3,8%. NAMKUNG e LEESON (1999) encontraram incremento de 1% na EMA_n e BIEHL e BAKER (1997) não observaram melhora na digestibilidade da EMV_n , com adição na dieta de 600 e 1.200 FTU/kg de fitase microbiana, utilizando galos cecectomizados. Os resultados sugerem que adição de fitase microbiana à ração inicial de frangos de corte melhora os valores de digestibilidade da energia, em rações com níveis baixos de cálcio e fósforo.

O aumento nos coeficientes de digestibilidade de PB, Ca, P e EB, pela adição da fitase, indica, claramente, que maiores complexos de nutriente-fitato foram hidrolisados. O efeito da fitase microbiana sobre a digestibilidade da proteína e dos minerais deve ser quantificado, para permitir sua inclusão na formulação das dietas, visando reduzir os custos com alimentação. A digestibilidade da proteína e a concentração do ácido fítico dos alimentos são os dois fatores que determinam a magnitude deste efeito.

Quadro 3 - Efeito da adição de fitase sobre os valores de energia digestível ileal aparente das rações, expressos em kcal/kg de matéria seca

Fitase kg/t	EDI _{ap}		
	Ca e P _d ¹		
	Normal	Baixo	Média
Controle (C)	3154	3156	3155 ^B
C + 1	3264	3287	3276 ^A
Média	3209 ^b	3222 ^a	
Anova	Probabilidade do teste de F		
Ca e P _d	0,91		
Fitase (Fit)	<0,01		
Ca e P _d *Fit	0,42		
CV (%)	0,88		

^{A,B} Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna são diferentes pelo teste F (P<0.05).

¹ Níveis Ca e P_d: normal = 15Ca/0,45% P_d; e baixo = 0,70%Ca/0,32% P_d.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

A presente pesquisa foi conduzida no Laboratório de Animais do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, com duração de dez dias. Foi realizado um ensaio biológico em baterias metálicas, por intermédio do método de coleta de digesta ileal e da utilização de óxido crômico (0,5%), como indicador fecal, com o objetivo de determinar os coeficientes de digestibilidade aparente de MS, PB, EB, P e Ca e os valores de energia digestível ileal aparente das rações. Foram utilizados 240 pintos, machos, *Avian Farm*, com 8 dias de idade, em arranjo fatorial 2 x 2, dois níveis de Ca e P_d (1%Ca/0,45%P_d e 0,70Ca/0,32%P_d) x dois níveis de fitase (0 - controle e 1 kg/t de ração), com seis repetições e 10 aves por unidade experimental. Aos 19 dias de idade, todas as aves foram abatidas para coleta da digesta do íleo. Determinaram-se os valores de Cr, MS, PB, EB, Ca e P das dietas e da digesta para o cálculo dos coeficientes de digestibilidade e dos valores de energia digestível ileal aparente.

Concluiu-se que a adição da fitase melhorou os coeficientes de digestibilidade da MS, da PB e da EB, os valores de energia digestível ileal aparente das rações e a digestibilidade do Ca e P em ambos os níveis de Ca e P_d.

CAPÍTULO 2

EFEITO DA ADIÇÃO DA ENZIMA FITASE SOBRE O DESEMPENHO E A DIGESTIBILIDADE ILEAL DE NUTRIENTES

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a maioria das dietas para aves é composta de ingredientes de origem vegetal (milho e farelo de soja), sendo que a maior parte do fósforo presente nestes ingredientes se encontra na forma de ácido fítico, o qual é indisponível para aves. Segundo informações apresentadas nas publicações de ROSTAGNO et al. (1983) e do NRC (1994), 30 a 40% do conteúdo total de P dos vegetais é considerado fósforo não-fítico.

A molécula de ácido fítico contém, aproximadamente, 28,2% de fósforo e sua propriedade antinutricional está além do não-aproveitamento do fósforo. Este ácido é um potente agente quelante de nutrientes como, por exemplo, proteínas, aminoácidos, amido e cátions (RAVINDRAN et al., 1999), e enzimas, como a pepsina, tripsina e α -amilase (SEBASTIAN et al., 1998) de modo que a solubilidade e a digestibilidade são drasticamente reduzidas pela formação de complexos insolúveis.

Várias pesquisas têm sido desenvolvidas para determinar o efeito da adição de fitase nas rações de frangos de corte, em diferentes idades, sexo e linhagens, com objetivo de se obter alimentação de menor custo que permita o máximo desempenho dos animais e aproveitamento dos nutrientes dos alimentos. A adição de fitase microbiana pode reduzir a suplementação de P, Ca, aminoácidos e outros minerais nas dietas.

Desenvolveu-se este trabalho com o objetivo de determinar o efeito da adição da fitase microbiana nas dietas à base de milho e farelo de soja sobre o desempenho de frangos de corte; os coeficientes de digestibilidade ileal aparente de matéria seca, proteína bruta, energia bruta, fósforo e cálcio; e os valores da energia digestível ileal aparente e da energia metabolizável aparente corrigida pelo nitrogênio das rações.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se um experimento de desempenho e ensaio biológico, utilizando-se o “método tradicional de coleta total de excreta e de digesta do íleo”. A temperatura média registrada durante o experimento foi de 23°C e a média das mínimas e máximas, de 18 e 28°C, respectivamente.

Foram utilizados 384 pintos de corte, machos, da linhagem *Avian Farm*, com 10 dias de idade e peso médio de 183 g. As rações (Quadro 1) à base de milho e farelo de soja foram formuladas para atender as exigências nutricionais das aves, de acordo com as recomendações de ROSTAGNO et al. (1996).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 3, com oito repetições de oito aves por unidade experimental. As dietas foram formuladas contendo dois níveis de Ca e P_d, normal (0,93%Ca/0,45%P_d) e baixo (0,80%Ca/0,33%P_d), vs duas enzimas fitase comerciais mais um grupo controle.

A enzima 1, Phytase Novo CT, com atividade enzimática de 3114 FTU/g, foi adicionada na dosagem de 160,6 g/kg de ração (500 FTU/kg). A enzima 2, Ronozyme P, com atividade enzimática de 3.594 FTU/g, foi adicionada na proporção de 208,7 g/t (750 FTU/kg), de acordo com as recomendações da indústria.

Quadro 1 - Composição das dietas experimentais

Ingrediente	Nível Ca e Pd	
	Normal	Baixo
	(%)	
Milho	56,681	57,880
Farelo de soja, 45% PB	37,000	36,800
Óleo vegetal	2,130	1,730
Fosfato bicálcico	1,807	1,150
Calcário	0,940	1,000
Sal	0,392	0,392
Óxido crômico	0,500	0,500
Suplemento mineral ¹	0,050	0,050
Suplemento vitamínico ²	0,100	0,100
DL-Metionina (99%)	0,180	0,178
Anticoccidiano ³	0,050	0,050
Cloreto de colina (60%)	0,060	0,060
Antioxidante ⁴	0,010	0,010
Caulim	0,100	0,100
Total	100	100
Valores calculados		
Proteína bruta (%)	21,90	21,90
Energia metabolizável kcal/kg	3.000	3.000
Metionina + Cistina (%)	0,88	0,88
Lisina (%)	1,20	1,20
Cálcio (%)	0,93	0,80
Fósforo disponível (%)	0,45	0,33

¹ Premix mineral contendo: Ferro, 100,0 g; Cobalto, 2,0 g; Cobre, 20,0 g; Manganês, 160 g; Zinco 100 g; Iodo, 2,0 g; e Excipiente q.s.p., 1000 g.

² Premix vitamínico contendo: Vit. A, 10.000.000 U.I; Vit. D₃, 2.000.000 U.I; Vit. E, 30.000 U.I; Vit. B₁, 2,0 g; Vit. B₂, 6,0 g; Vit. B₆, 4,0 g; Vit. B₁₂, 0,015 g; Ác. pantotênico, 12,0 g; Biotina, 0,1 g; Vit. K₃, 3,0 g; Ác. fólico, 1,0 g; Ác. nicotínico, 50,0 g; Selênio, 250,0 mg; e Excipiente q.s.p., 1.000 g.

³ Maduramicina.

⁴ Butil hidroxi tolueno 99%.

O óxido crômico, utilizado como indicador fecal, para a determinação dos coeficientes de digestibilidade, foi misturado com os demais ingredientes na concentração de 0,5%.

Até os 10 dias de idade, as aves receberam ração inicial para frangos de corte e ficaram alojadas em um galpão de alvenaria do Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. Após esse período, as aves foram transferidas para baterias frias tipo “PETER SIME”, com 225 cm² de área (45cm de largura, 50 cm de comprimento e 40 cm de altura), em estrutura metálica, constituídas de compartimentos distribuídos em dois andares. Estas baterias, em número de quatro, estavam dispostas em uma sala de 68 m², com 2,80 m de pé direito e grandes janelas de vidro. As aves receberam luz natural e, ou, artificial durante 24 horas. Para maior conforto dos animais, foram utilizados dois aquecedores elétricos e uma campânula a gás, à noite, durante todo o período experimental. As aves receberam água e ração experimental à vontade.

As aves e dietas foram pesadas no início e no final do experimento, para avaliação do ganho de peso e da conversão alimentar. Dos 19 a 24 dias de idade, realizou-se a coleta total de excretas, com intervalo de 12 horas entre cada uma, para o cálculo dos valores de energia metabolizável aparente, corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn).

Aos 25 dias de idade, todas as aves de cada repetição foram abatidas com deslocação cervical e imediatamente dissecionadas para obtenção da digesta da porção do íleo terminal, desde um ponto 5 cm antes da junção íleo-cecólica até 15 cm em direção anterior ou em direção ao jejuno. Este segmento foi seccionado transversalmente e seu conteúdo, retirado e colocado dentro de um copo plástico.

As digestas e excretas coletadas foram acondicionadas em bandejas plásticas devidamente identificadas, pesadas e, posteriormente, armazenadas em congelador. Após a pré-secagem a 65°C, por 72 horas, em estufa de ventilação forçada, as amostras foram moídas em moinhos com 1 mm de mesh e

imediatamente preparadas para análise laboratorial de oxido crômico, matéria seca, nitrogênio, energia bruta, fósforo e cálcio.

As análises químicas das excretas, das digestas e das rações foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, por intermédio da metodologia descrita por SILVA (1990).

Uma vez obtidos os resultados de análises laboratoriais das dietas, da digesta e das excretas, foram calculados os coeficientes de digestibilidade ileal aparente da matéria seca, da proteína bruta, da energia bruta, do fósforo e do cálcio; os valores de energia digestível ileal aparente com base nos níveis de cromo na dieta e digesta; e o fator de indigestibilidade. Os valores de EMAn das rações foram calculados por meio de equações propostas por MATTERSON et al. (1965).

Os dados experimentais obtidos foram submetidos à análise de variância e à comparação de médias, utilizando-se o teste Student-Newman-Keul's (SNK) do programa estatístico SAS (1996).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não se observou interação entre os diferentes níveis de Ca e P_d e a adição de fitase nas dietas, para nenhum dos parâmetros estudados. Entretanto, a adição da fitase melhorou ($P < 0,05$) o ganho de peso e a conversão alimentar (Quadro 2).

A adição das fitases 1 e 2 na dieta melhorou em 3,4 e 2,8%, respectivamente, o ganho de peso ($P < 0,05$). A conversão alimentar foi melhorada ($P < 0,05$) em 3% por ambas as enzimas. Não houve diferença ($P > 0,05$) entre as fitases 1 e 2. Estes resultados estão coerentes com os encontrados por vários pesquisadores (YI et al., 1996; BIEHL e BAKER, 1997; QIAN et al., 1997; SEBASTIAN et al., 1997; KERSEY et al., 1998; NAMKUNG e LEESON, 1999; e RAVINDRAN et al., 1999). No entanto, SOHAIL e ROLAND (1999), utilizando níveis de P_d normais e baixos (0,325 e 0,225%) e três níveis de fitase (0, 300 e 600 FTU), não observaram melhora no desempenho. Os autores relataram que as características ósseas são parâmetros mais sensíveis que o desempenho para se avaliar o efeito da fitase.

A diminuição dos níveis de Ca e P_d (0,80%Ca/0,33% P_d) não afetou ($P > 0,05$) o ganho de peso e a conversão alimentar. Estes resultados provavelmente estão relacionados ao efeito cumulativo do fósforo e cálcio, fornecidos durante os 10 primeiros dias de vida, quando os animais receberam uma dieta com níveis de Ca e P_d dentro do requerimento, concordando com os achados de SOHAIL e ROLAND (1999).

Quadro 2 - Efeito da adição da fitase sobre o desempenho de frangos de corte

Enzima	Ganho de peso (g)			Consumo de ração (g)			Conversão alimentar		
	Nível Ca e P _d ¹			Nível Ca e P _d			Nível Ca e P _d		
	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média
Controle	613	619	616 ^B	1,011	1,030	1,021	1,66	1,67	1,66 ^A
Fitase 1	633	641	637 ^A	1,015	1,043	1,029	1,61	1,61	1,61 ^B
Fitase 2	635	631	633 ^A	1,017	1,026	1,022	1,60	1,62	1,61 ^B
Média	627	631		1,014 ^b	1,033 ^a		1,62	1,64	
Anova	Probabilidade do teste F								
Ca e P _d	0,49			0,04			0,29		
Fitase (Fit)	<0,01			0,73			<0,01		
Ca e P _d *Fit	0,64			0,71			0,64		
CV (%)	2,87			3,12			2,29		

^{ab} Médias seguidas por letras distintas na mesma linha são diferentes pelo teste F (P<0,05).

^{A,B} Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna são diferentes pelo teste SNK (P<0,05).

¹ Ca e P_d: normal = 0,93%Ca/0,45%P_d e baixo = 0,80%Ca:0,33%P_d.

A adição de ambas as fitases nas dietas não afetou o consumo de ração (P>0,05), porém as dietas com níveis de Ca e P_d baixo promoveram consumo 2% mais elevado (P<0,05). O consumo de ração talvez tenha sido aumentado com o intuito de compensar a deficiência de Ca e P_d.

A ausência de interação significativa dos níveis de Ca e P_d vs fitase, neste estudo, indica que a influência da fitase sobre o desempenho não dependeu dos níveis da Ca e P_d.

O aumento no ganho de peso pela adição das enzimas pode ser confirmado por incremento encontrado na digestibilidade ileal da PB, do P, do Ca e dos valores da EDIap (Quadros 3 e 4). Estes resultados concordam com os encontrados por diversos autores (BROZ et al., 1994; PERNEY et al., 1993; SEBASTIAN et al., 1996; SEBASTIAN et al., 1997; KERSEY et al., 1998; NAMKUNG e LEESON, 1999; e RAVINDRAN et al., 1999).

Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente da matéria seca (MS), da proteína bruta (PB), da energia bruta (EB), do fósforo (P) e do cálcio (Ca) são apresentados no Quadro 3.

Não foi observada interação ($P < 0,05$) para nenhum dos parâmetros estudados. A adição da fitase, independente da fonte, aumentou ($P < 0,05$) a digestibilidade ileal de PB, EB, P e Ca, sem, no entanto, influir na digestibilidade da MS. Os efeitos positivos da adição da fitase estão de acordo com os encontrados recentemente por vários pesquisadores ((NELSON et al., 1971; YI et al., 1996; SEBASTIAN et al., 1996, 1997; QIAN et al., 1997; KERSEY et al., 1998; NAMKUNG e LEESON, 1999; e RAVINDRAN et al., 1999) em frangos de corte e em galos cecectomizados (BIEHL e BAKER, 1997).

A molécula de ácido fítico tem capacidade de se ligar à proteína, em meios ácido, alcalino e neutro (Anderson, 1985, citado por SEBASTIAN et al. (1997), e reduzir a atividade da pepsina, tripsina e α -amilase (SEBASTIAN et al., 1998). Espera-se melhorar o aproveitamento de proteína e aminoácidos, por meio da quebra destes complexos nutritivos, pela utilização de fitase microbiana nas dietas.

Na análise dos diferentes níveis de Ca e P_d , observou-se efeito significativo ($P < 0,05$) para todos os parâmetros estudados. Os coeficientes de digestibilidade dos diferentes parâmetros avaliados diminuíram ($P < 0,05$) com a redução nos níveis de Ca e P_d da ração. Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por SEBASTIAN et al. (1996) e QIAN et al. (1997).

Pode-se inferir, com base nestes resultados, que o alto nível de cálcio em relação ao fósforo prejudicou o efeito da fitase. Esperava-se que as dietas com níveis de Ca e P_d baixos apresentassem coeficientes de digestibilidade maiores, por haver menor teor de cálcio e fósforo no trato gastrointestinal. No experimento 1 (capítulo 1), não foi observado este comportamento, todavia, a relação numérica entre os níveis baixo e normal de cálcio e fósforo era mais próxima.

Quadro 3 - Efeito da adição da fitase sobre os coeficientes de digestibilidade (CD) ileal aparente de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), energia bruta (EB), fósforo (P) e cálcio (Ca)

Fitase (Fit)	CDMS%			CDPB%			CDEB%			CDP%			CDCa%		
	Nível Ca e Pd ¹			Nível Ca e Pd ¹			Nível Ca e Pd ¹			Nível Ca e Pd ¹			Nível Ca e Pd ¹		
	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média
Controle	75,86	75,34	75,60	85,10	84,15	84,63 ^B	76,89	75,50	76,20 ^B	69,91	63,88	66,90 ^B	62,37	61,51	61,94 ^B
² Fitase 1	76,43	75,18	75,81	85,68	85,23	85,46 ^A	77,96	75,81	76,89 ^A	73,03	67,55	70,29 ^A	65,23	62,93	64,08 ^{BA}
² Fitase 2	76,33	75,31	75,82	85,95	85,54	85,74 ^A	78,32	75,84	77,09 ^A	72,47	66,53	69,50 ^A	67,04	63,19	65,12 ^A
Média	76,21 ^a	75,28 ^b		85,57 ^a	84,9 ^b		77,73 ^a	75,72 ^b		71,80 ^a	65,99 ^b		64,88 ^a	62,54 ^b	
Anova	Probabilidades do teste de F														
Ca e P _d	<0,01			0,03			<0,01			<0,01			0,03		
Fitase (Fit)	0,76			<0,01			0,05			<0,05			0,05		
Ca e P _d *Fit	0,55			0,68			0,32			0,94			0,52		
CV (%)	1,27			1,13			1,35			3,39			5,83		

^{a,b} Médias seguidas por letras distintas na mesma linha são diferentes pelo teste F (P<0,05).

^{A,B} Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna são diferentes pelo teste SNK (P<0,05); EB e Ca estão destacados por letras em itálico (P<0,1).

¹ Ca e P_d: normal = 1%Ca/0,45%P_d e baixo = 0,70%Ca:0,32% P_d.

² Fitase 1 = 500 FTU/kg e Fitase 2 = 750 FTU/kg.

Portanto, a relação $Ca:P_d$ é, provavelmente, fator limitante, que reduz a atividade da fitase. De acordo com MCCUAIG et al. (1972), níveis elevados de Ca, em relação ao fósforo total na dieta, competem pelo sítio de ligação da fitase, diminuindo o máximo da atividade da enzima. WISE (1983) relatou que o Ca pode se complexar ao fitato, formando complexos Ca-fitato, os quais precipitam, ficando indisponível para a atuação da enzima. Ambos os fatores prejudicam o máximo da atividade da fitase.

Alguns fatores são extremamente importantes para que sejam alcançados os máximos resultados da atividade da fitase, entre eles a relação Ca:Pt ideal, não-definida na literatura até o presente, e a definição do ponto máximo em que a porcentagem de P_d pode ser reduzida (QIAN et al., 1996; YI et al., 1996; e SEBASTIAN et al., 1996).

A adição das fitases melhorou significativamente ($P<0,05$) a energia digestível ileal aparente (EDI_{ap}), não havendo diferença entre as fontes de fitase. Não se observou efeito da adição de fitase sobre EMA_n (Quadro 4).

Os resultados para a $EMAn$ diferem daqueles obtidos por NAMKUNG e LEESON (1999), que encontraram melhora ($P<0,01$) de 1% nos valores de EMA_n . RAVINDRAN et al. (1999) encontraram aumento de 3,5% nos valores de EMA . Brown (1996), citado por ZANELLA et al. (1999), observou que parte do amido e dos aminoácidos resistentes à digestão no íleo é completada no seco, o que, por conseguinte, se constitui em provável explicação para o efeito positivo da enzima sobre a EDI_{ap} e a ausência para a $EMAn$.

Os níveis de Ca e P_d influenciaram as EDI_{ap} e $EMAn$, que apresentaram menores ($P<0,05$) valores nas rações com menores concentrações de Ca e P_d .

A melhora observada no desempenho das aves e nos valores de digestibilidade ileal de nutrientes nas dietas é indicativo da efetividade da fitase como aditivo nas rações de aves. A inclusão de fitase em dietas práticas das aves pode levar os nutricionistas a utilizar menores níveis de cálcio e fósforo inorgânico nas rações iniciais de frango. Entretanto, trabalhos devem ser realizados para determinar, com precisão, o nível de fitase exógena e ácido fítico e o nível e a relação Ca:Pt que permitem o máximo desempenho das aves.

Quadro 4 - Efeito da adição da fitase sobre os valores de energia digestível ileal aparente (EDI_{ap}) e de energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMA_n), expressos em kcal/kg de matéria seca

Fitase ¹ (F)	EDI _{ap}			EMA _n		
	Nível Ca:P _d ¹					
	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média
Controle	3478	3398	3438 ^B	3403	3349	3376 ^A
Fitase 1	3526	3412	3469 ^A	3394	3354	3374 ^A
Fitase 2	3543	3413	3478 ^A	3398	3335	3367 ^A
Média	3516 ^a	3408 ^b		3398 ^a	3346 ^b	
Anova	Probabilidade do teste de F					
Ca e P _d	<0,01			<0,01		
Fitase	0,05			0,86		
Ca e P _d *Fit	0,32			0,83		
CV (%)	1,34			1,65		

^{a,b} Médias seguidas por letras distintas na mesma linha são diferentes pelo teste F (P<0,05).

^{A,B} Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna são diferentes pelo teste SNK (P<0,01).

¹ Níveis Ca e P_d: normal = 0,93%Ca/0,45%P_d e baixo = 0,80%Ca/0,33%P_d.
Fitase 1 = 500 FTU/kg e Fitase 2 = 750 FTU/kg.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Este estudo foi conduzido no Laboratório de Animais do DZO da UFV, com duração de 14 dias. Foi realizado em ensaio biológico em baterias metálicas. Foi utilizado óxido crômico (5%), como indicador fecal, com o objetivo de determinar os coeficientes de digestibilidade ileal aparente de MS, PB, EB, P e Ca e os valores de energia digestível ileal aparente. Foram utilizados 384 pintos, machos, *Avian Farm*, com 10 dias de idade, em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 3, com dois níveis de Ca e P_d (0,93%Ca/0,45%P_d e 0,80%Ca/0,335P_d) vs dois de fitase (1 e 2) e um tratamento controle, com oito repetições e oito aves por unidade experimental. As aves e rações foram pesadas no início e no final do experimento para o estudo do desempenho. As excretas foram pesadas e coletadas durante cinco dias. Todas as aves foram abatidas após o décimo quarto dia para a coleta da digesta. Determinaram-se os valores de Cr, MS, PB, EB, Ca e P das rações, da digesta e das excretas, para a determinação dos coeficientes de digestibilidade, e os valores de EDI_{ap} e EMA_n.

Concluiu-se que a adição das fitases 1 e 2 melhorou (P<0,05) o ganho de peso em 3,4 e 2,8%, respectivamente. Ambas as enzimas melhoraram a conversão alimentar em 3%; a adição da fitase 1 melhorou os coeficientes de digestibilidade da PB (1%), do P (5%), do Ca (3,5%) e da EDI_{ap} (1%) e a fitase 2, da PB (1,7%), do P (4%), do Ca (5 %) e da EDI_{ap} (1,2%).

CAPÍTULO 3

EFEITO DA ADIÇÃO DE UM COMPLEXO MULTIENTENZIMÁTICO E FITASE SOBRE A DIGESTIBILIDADE ILEAL DE NUTRIENTES

1. INTRODUÇÃO

O valor nutritivo dos alimentos está correlacionado positivamente com o conteúdo de carboidratos de reserva, proteínas e minerais e negativamente com os constituintes da parede celular (fibra bruta), a concentração de ácido fítico e outros fatores antinutricionais.

Nos cereais, o amido representa cerca de 55 a 70% do seu peso. Este nutriente se encontra na forma de grânulos no endosperma sobre uma matriz protéica, constituída por glutamina e prolamina. O endosperma, por sua vez, está coberto por uma camada de células de parede grossas. As paredes celulares contêm celulose e as aves não possuem capacidade enzimática para digerir a celulose.

A presença de compostos polissacarídeos não-amiláceos (NSP) determina aumento da viscosidade do alimento, em nível do trato gastrointestinal, o que origina reduções na digestão e absorção de aminoácidos,

carboidratos, minerais e outros nutrientes, com conseqüente queda na produtividade das aves (BEDFORD et al., 1991).

O fato de as enzimas serem específicas em suas reações determina que os produtos que tenham só uma enzima sejam insuficientes para produzir o máximo benefício. Isto sugere que misturas de enzimas sejam mais efetivas no aproveitamento dos nutrientes das dietas. Em função disso, vários estudos vêm sendo realizados com a adição de enzimas exógenas, particularmente na forma de "complexo multienzimático".

Embora o uso das enzimas tenha sido originado inicialmente para diminuir o efeito de fatores antinutricionais, como polissacarídeos não-amiláceos (CHARLTON, 1996; ZANELLA et al., 1999), e melhorar o aproveitamento do P e dos aminoácidos do fitato (SEBASTIAN et al., 1997; RAVINDRAN et al., 1999), presentes nos grãos, existem poucos trabalhos na literatura sobre o efeito destes aditivos na forma de complexo multienzimático, com adição de fitase, sobre a digestibilidade de nutrientes, em dietas à base de milho e farelo de soja, para aves.

O objetivo deste trabalho foi determinar o efeito da adição de um complexo multienzimático contendo protease, amilase e celulase e da fitase sobre os coeficientes de digestibilidade ileal aparente da matéria seca, da proteína bruta, da energia bruta, do fósforo e do cálcio e os valores de energia digestível ileal aparente das rações, em ensaio com pintos de corte.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se um ensaio biológico no período de 30/03/99 a 10/04/99, no Laboratório de Animais do Departamento de Zootecnia (DZO) da UFV, utilizando-se o “método de coleta de digesta do íleo”. A temperatura média registrada foi de 26°C e a média das mínimas e máximas, de 23 e 29°C, respectivamente.

Foram utilizados 360 pintos de corte, machos, da linhagem *Avian Farm*, com oito dias de idade e peso médio de 147g. As rações (Quadro 1) à base de milho e farelo de soja foram formuladas de acordo com as recomendações de ROSTAGNO et al. (1996). No entanto, ressalta-se que o farelo de soja foi considerado com 7% a mais de energia e aminoácidos, visando obter dietas ligeiramente deficientes em aminoácidos e energia.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em um arranjo fatorial 2 x 3, seis repetições de 10 aves por unidade experimental, sendo dois níveis de Ca e P_d, normal (1,00%Ca/0,45% P_d) e baixo (0,70%Ca/0,32%P_d), e duas combinações do complexo multienzimático (amilase, celulase, protease), mais fitase (Fit) e um controle (C) sem enzima. As combinações foram C + 2 kg/t do CM e 2 kg/t do CM + 1 kg/t de fitase (CM+Fit), de acordo com as recomendações do fabricante. A dosagem do CM foi em função do farelo de soja e a da fitase, em função da ração.

Quadro 1 - Composição das dietas experimentais

Ingrediente	Nível Ca e Pd	
	Normal	Baixo
	(%)	
Milho	62,522	64,698
Farelo de soja, 45% PB ⁶	32,274	31,898
Óleo vegetal	1,077	0,332
Fosfato bicálcico	1,814	1,105
Calcário	1,155	0,803
Sal	0,400	0,400
Suplemento mineral ¹	0,050	0,050
Suplemento vitamínico ²	0,100	0,100
DL-Metionina (99%)	0,192	0,190
L-Lisina HCL (98%)	0,041	0,049
Cloreto de colina (60%)	0,060	0,060
Anticoccidiano ³	0,055	0,055
Promotor de crescimento ⁴	0,050	0,050
Antioxidante ⁵	0,010	0,010
Caulim	0,200	0,200
Total	100	100
Composição		
Proteína bruta (%)	21,20	21,20
Energia metabolizável (kcal/kg)	3,040	3,040
Metionina + Cistina (%)	0,878	0,878
Lisina (%)	1,178	1,178
Cálcio (%)	1,00	0,70
Fósforo disponível (%)	0,45	0,32
Fósforo total (%)	0,68	0,56

¹ Premix mineral contendo: Ferro, 100,0 g; Cobalto, 2,0 g; Cobre, 20,0 g; Manganês, 160 g; Zinco 100 g; Iodo, 2,0 g; e Excipiente q.s.p., 1000 g.

² Premix vitamínico contendo: Vit. A, 10.000.000 U.I; Vit. D₃, 2.000.000 U.I; Vit. E, 30.000 U.I; Vit. B₁, 2,0 g; Vit. B₂, 6,0 g; Vit. B₆, 4,0 g; Vit. B₁₂, 0,015 g; Ác. pantotênico, 12,0 g; Biotina, 0,1 g; Vit. K₃, 3,0 g; Ác. fólico, 1,0 g; Ác. nicotínico, 50,0 g; Selênio, 250,0 mg; e Excipiente q.s.p., 1000 g.

³ Coxistac 6%.

⁴ Virginiamicina 2%.

⁵ Butil hidroxi tolueno 99%.

⁶ Farelo de soja considerado com 7% a mais de energia e aminoácidos, rações sub-ótimas.

As rações foram misturadas com 0,5% de óxido crômico (Cr_2O_3), em misturador em Y, como indicador indigestível para a determinação dos coeficientes de digestibilidade ileal.

Até os oito dias de idade, as aves receberam ração inicial para frangos de corte e ficaram alojadas em um galpão de alvenaria do Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da UFV. Após esse período, os pintos foram transferidos para baterias frias tipo “PETER SIME”, com 225 cm^2 de área (45cm de largura, 50 cm de comprimento e 40 de altura), em estrutura metálica, constituídas de compartimentos distribuídos em dois andares. Estas baterias, em número de quatro, estavam dispostas em uma sala de 68 m^2 , com 2,80 m de pé direito e janelas de vidro. As aves receberam luz natural e, ou, artificial durante 24 horas. Para maior conforto dos animais, foram utilizados dois aquecedores elétricos, à noite, durante todo o período experimental. Durante dez dias, as aves receberam água e ração experimental à vontade.

Aos 19 dias de idade, todas as aves de cada repetição foram abatidas com deslocação cervical e imediatamente disseccionadas para obtenção da digesta da porção do íleo terminal, desde um ponto 5 cm antes da junção íleo-cecal até 15 cm em direção anterior ou em direção ao jejuno. Este segmento foi seccionado transversalmente e seu conteúdo, retirado e coletado dentro de um copo plástico.

As digestas coletadas foram acondicionadas em bandejas plásticas, devidamente identificadas, pesadas e, posteriormente, armazenadas em congelador. Após a pré-secagem a 65°C , por 72 horas, em estufa de ventilação forçada, as amostras foram moídas em moinhos com 1 mm de mesh e imediatamente preparadas para análises laboratoriais de óxido crômico, matéria seca, nitrogênio, energia bruta, fósforo e cálcio.

As análises químicas das digestas e rações foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, utilizando a metodologia descrita por SILVA (1990).

Uma vez obtidos os resultados de análises laboratoriais das rações e da digesta, foram calculados os coeficientes de digestibilidade ileal aparente da

matéria seca, da proteína bruta, da energia, do fósforo e do cálcio e os valores de energia digestível ileal aparente EDI_{ap} . Os coeficientes de digestibilidade e energia digestível foram determinados com base nos níveis de cromo nas dietas e na digesta, por meio do cálculo do fator de indigestibilidade.

Os dados experimentais obtidos foram submetidos à análise de variância e comparação de médias, utilizando-se o teste Student-Newman-Keul's (SNK) do programa estatístico SAS (1996).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente da matéria seca (MS), da proteína bruta (PB), da energia bruta (EB), do fósforo (P) e do cálcio (Ca) são apresentados no Quadro 2 e os valores energia digestível ileal no Quadro 3.

Observou-se interação ($P < 0,05$) entre a adição das enzimas e os níveis de Ca e P_d para os coeficientes de digestibilidade da MS e EB. A adição do complexo multienzimático (CM) melhorou ($P < 0,05$) a digestibilidade ileal da MS somente no nível normal de Ca e P_d , enquanto seu efeito sobre a digestibilidade ileal de EB ocorreu nos dois níveis de Ca e P_d avaliados. Já a adição do CM + fitase melhorou ($P < 0,05$) a digestibilidade ileal da MS, indiferente do nível de Ca e P_d avaliado, e a da EB, somente na ração com níveis baixos de Ca e P_d , em que seu efeito foi superior ($P < 0,05$) inclusive aquele obtido com a suplementação do CM. Estes resultados sugerem que pode haver efeito aditivo entre o CM e a fitase nas dietas com baixos níveis de Ca e P_d , melhorando a digestibilidade ileal de nutrientes.

Nos níveis normais de Ca e P_d , não se observou melhora ($P > 0,05$) nos resultados de digestibilidade da MS e EB entre a adição do CM e CM+Fit na dieta, mostrando que, possivelmente, o efeito da associação das enzimas é mais expressivo em dietas com níveis abaixo do requerimento que em dietas contendo níveis normais de Ca e P_d .

Quadro 2 - Efeito da adição do complexo multienzimático e da fitase sobre o coeficiente de digestibilidade (CD) ileal aparente de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), energia bruta (EB), fósforo (P) e cálcio (Ca)

Enzima	CDMS%			CDPB%			CDEB%			CDP%			CDCa%		
	Nível Ca e P _d ¹			Nível Ca e P _d			Nível Ca e P _d			Nível Ca e P _d			Nível Ca e P _d		
	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média	Normal	Baixo	Média
Controle	69,78 ^{Ba}	69,98 ^{Ba}	69,88	76,90	78,20	77,55 ^B	72,82 ^{Ba}	71,57 ^{Cb}	72,20	58,60	62,36	60,48 ^C	47,11	59,38	53,24 ^C
CM ²	72,70 ^{Aa}	70,48 ^{Bb}	71,59	79,43	80,30	79,86 ^A	73,84 ^{Aa}	72,48 ^{Bb}	73,16	63,06	63,56	63,31 ^B	51,68	63,15	57,42 ^B
CM +Fit ³	73,40 ^{Aa}	72,05 ^{Ab}	72,73	79,27	81,45	80,36 ^A	73,46 ^{ABa}	73,85 ^{Aa}	73,66	65,17	66,69	65,93 ^A	54,12	66,10	60,11 ^A
Média	71,96	70,84		78,53 ^b	79,98 ^a		73,38	72,64		62,28 ^b	64,20 ^a		50,97 ^b	62,88 ^a	
Anova	Níveis de probabilidades dos efeitos principais e interações														
Ca e P _d	<0,01			<0,05			<0,01			<0,01			<0,01		
CM	<0,01			<0,01			<0,01			<0,01			<0,01		
CM*Ca e P _d	<0,15			0,36			<0,01			0,18			0,83		
CV (%)	1,04			1,42			0,93			3,43			2,86		

^{ab} Médias seguidas por letras distintas na mesma linha são diferentes pelo teste F (P<0,05).

^{AB} Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna são diferentes pelo teste SNK (P<0,05).

¹ Nível Ca e P_d: normal = 1%Ca/0,45%P_d; e baixo = 0,70%Ca/0,32%P_d.

² CM = Complexo multienzimático, 2 kg/t de farelo de soja.

³ Fit: fitase 1 kg/t de ração.

Quadro 3 - Efeito da adição do complexo multienzimático (CM) sobre os valores de energia digestível ileal aparente (EDI_{ap}), expressos em kcal/kg de MS

Enzima	EDI _{ap}		
	Nível Ca:P _d ¹		
	Normal	Baixo	Média
Controle	3219 ^{Ba}	3164 ^{Cb}	3192
CM ²	3264 ^{Aa}	3204 ^{Bb}	3234
CM+ Fitase ³	3247 ^{AB}	3264 ^A	3256
Média	3244	3211	
Anova	Probabilidade		
Ca e P _d	<0,01		
CM	<0,01		
Ca e P _d *CM	<0,01		
CV (%)	0,93		

^{a,b} Médias seguidas por letras distintas na mesma linha são diferentes pelo teste F (P<0,05).

^{A,B} Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna são diferentes pelo teste SNK (P<0,05).

¹ Nível de Ca e P_d: normal = 1%Ca/0,455P_d e baixo = 0,70%Ca/0,32%P_d.

² CM = Complexo multienzimático, 2 kg/t de farelo de soja.

³ Fitase 1 kg/t de ração.

Na análise do fator enzima dentro dos níveis de Ca e P_d, observou-se que o nível normal de Ca e P_d apresentou melhores resultados numéricos (P>0,05) que o nível baixo, para a digestibilidade da MS e EB.

Os resultados encontrados no aumento da digestibilidade ileal da energia bruta, neste experimento, concordam com os encontrados por ZANELLA et al. (1999), que observaram aumento significativo (P<0,05) na digestibilidade ileal do amido e gordura de 2 e 1,8%, respectivamente.

Não foi evidenciada interação (P>0,05) entre a adição da enzima e os diferentes níveis de Ca e P_d, para os coeficientes de digestibilidade de PB, Ca e P. No entanto, a adição do CM melhorou significativamente (P<0,05) a digestibilidade de PB (3%), P (5%) e Ca (8%), quando comparados ao grupo controle. Quando a enzima fitase foi adicionada (CM+Fit), observou-se melhora

($P < 0,05$) na digestibilidade do P (4,2%) e Ca (4,7%), em comparação ao grupo que recebeu apenas o CM. Estes resultados reforçam o provável efeito aditivo encontrado com a adição da fitase e concordam com os achados de ZANELLA et al. (1999), que obtiveram incremento de 3% na digestibilidade da PB, com a adição de um complexo multienzimático (protease, amilase e xilanase), e MARSMANN et al. (1997), os quais também observaram que a adição de protease e carboidrase no farelo de soja melhorou a digestibilidade da PB e dos polissacarídeos não-amiláceos.

BIEHL e BAKER (1997) relataram que a eficácia da fitase depende do balanço de AAs na dieta e da origem da proteína utilizada. Observaram que a adição de 1,200 FTU/kg de fitase na dieta à base de farelo de soja, deficiente em AAs, aumentou em 2% a digestibilidade verdadeira dos AAs, utilizando galos cecectomizados, no entanto não foi tão expressiva quando a dieta estava dentro dos requerimentos. Esta talvez seja uma das explicações do comportamento aditivo encontrado com adição de fitase neste experimento.

O aumento no aproveitamento do P, pela associação de enzimas, não-estudado na literatura até o presente, pode ser explicado da seguinte maneira: na maioria dos grãos de monocotiledôneas, o fitato forma parte das camadas externas e nos grãos das dicotiledôneas o fitato encontra-se no endosperma. Talvez, o rompimento destas estruturas pelas enzimas utilizadas (proteases, amilase e celulase) permita a liberação do fitato e outros nutrientes, facilitando a atuação da enzima fitase.

Na comparação do fator Ca e P_d , contrariamente aos resultados encontrados para a digestibilidade de MS e EB, o nível baixo melhorou ($P < 0,05$) os coeficientes de digestibilidade de PB, P e Ca.

Os resultados para a energia digestível ileal aparente (Quadro 3) são iguais aos encontrados para os coeficientes de digestibilidade da energia. No entanto, na comparação de medias, observou-se que houve aumento (1%) de 42 kcal/kg de MS, com adição do CM, e de 64 kcal/kg de MS, com adição do CM+Fit. (2%). Pode-se observar, novamente, o provável efeito aditivo da adição da fitase, aumento de 22 kcal/kg de MS.

Vários trabalhos reforçam os resultados encontrados, no aumento do aproveitamento da energia. NAMKUNG e LEESON (1999) observaram melhora de 1% na EMA_n , pela dição de fitase, enquanto ZANELLA et al. (1999), pela adição de 0,1% de um complexo multienzimático (protease, amilase e xilanase), em dietas à base de milho e farelo soja, também observaram melhora significativa de 2,5% na EDIn. Estes dados sugerem que adição do complexo multienzimático e da fitase na dieta inicial de frangos de corte melhora a digestibilidade dos nutrientes e reforçam a hipótese do provável efeito aditivo observado com associação das enzimas. O fato de as enzimas serem específicas em suas reações sugere que misturas sejam mais efetivas no aproveitamento dos nutrientes das dietas, principalmente em pintos, os quais não apresentam desenvolvimento completo do sistema enzimático (Vanbelle, 1992, citado por BORGES, 1997).

Métodos tradicionais, utilizando enzimas em dietas à base de milho e farelo de soja, não incrementaram a digestibilidade dos nutrientes. No entanto, alguns estudos demonstraram melhoras similares às encontradas neste trabalho (MARSMANN et al., 1997; RAVINDRAN et al., 1999; ZANELLA et al., 1999; e NAMKUNG e LEESON, 1999).

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Este experimento foi realizado no Laboratório de Animais do DZO da UFV e teve duração de dez dias. Foi utilizado ensaio biológico em baterias metálicas, adotando o método de coleta de digesta e a utilização de óxido crômico (0,5%) como indicador fecal. Foram determinados os coeficientes de digestibilidade ileal aparente de MS, PB, EB, Ca e P e os valores de energia digestível ileal aparente, em dietas ligeiramente deficientes em energia e aminoácidos. Utilizaram-se 360 pintos, machos, *Avian Farm*, com peso inicial de 147 g e oito dias de idade, em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 3, dois níveis de Ca e P_d (1%Ca/0,45%P_d e 0,70%Ca/0,32%P_d) vs duas combinações do complexo multienzimático (CM) mais fitase (Fit) e um controle (C), seis repetições e dez aves por unidade experimental. As combinações foram C + 2 kg/t do CM e 2 kg/t do CM + 1 kg/t de fitase (CM+Fit). As aves receberam ração e água à vontade por dez dias e foram abatidas após o décimo dia para a coleta da digesta da porção terminal do íleo. Determinaram-se os valores de cromo, matéria seca (MS), proteína bruta (PB), energia bruta (EB), cálcio (Ca) e fósforo (P) das rações e da digesta para o cálculo do fator de indigestibilidade, dos coeficientes de digestibilidade e dos valores de energia digestível ileal aparente.

Concluiu-se que:

1) a adição do CM nas dietas deficientes em aminoácidos e energia melhorou ($P<0,05$) a digestibilidade da MS e EB em 4,1 e 1,4%, para os níveis normais de Ca e P_d . No entanto, para os níveis de Ca e P_d baixos, observou-se que adição da fitase (CM+Fit) melhorou ($P<0,05$) a digestibilidade da MS e EB em 2,2 e 2%, respectivamente, quando comparadas com o CM;

2) a adição do CM melhorou ($P<0,05$) a digestibilidade de PB (3%), P (5%) e Ca (8%). Entretanto, a adição da fitase (CM+Fit) potencializou ($P<0,05$) o aproveitamento do P (4,2%) e Ca (4,7%), quando comparados com o grupo sem fitase e com CM;

3) observou-se melhora ($P<0,05$) nos valores da energia digestível ileal aparente de 1%, com adição do CM, e 2%, com adição de fitase (CM+Fit), quando comparados com o controle;

4) a adição da fitase (CM+Fit) melhorou a digestibilidade de forma mais efetiva, mostrando efeito aditivo no aproveitamento dos nutrientes; e

5) a adição de misturas enzimáticas às dietas de aves pode ser economicamente viável em áreas onde o milho e o farelo de soja são os principais ingredientes utilizados, porque sugere a possibilidade do uso de dietas baixas em energia, proteína, Ca e P_d .

3. RESUMO E CONCLUSÕES

Três experimentos foram realizados no Departamento de Zootecnia da UFV, a fim de avaliar o efeito de enzimas microbianas sobre o desempenho de aves; o coeficiente de digestibilidade aparente de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fósforo (P) e cálcio (Ca); os valores de energia digestível ileal aparente (EDI_{ap}); e os valores de energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn), utilizando-se pintos de corte, machos, *Avian Farm*, em dietas à base de milho e farelo de soja com diferentes níveis de Ca e P_d. Óxido crômico (0,5%) foi adicionado às dietas, a fim de se estimar o fator de indigestibilidade. Todas as aves foram abatidas no final de cada ensaio, para a coleta da digesta, aos 19 dias, experimento 1 e 3, e aos 25 dias, experimento 2. O primeiro experimento foi realizado utilizando pintos de 8 a 18 dias de idade, em arranjo fatorial 2 x 2, com seis repetições contendo 10 aves cada. As dietas foram formuladas contendo dois níveis de Ca e P_d (1,00%Ca/0,45%P_d e 0,70%Ca/0,32%P_d) x uma dieta controle (C) e adição de 1 kg/t de dieta de fitase (C+Fit). As dietas que receberam fitase apresentaram melhora na digestibilidade ileal (P<0,05) da MS (5,2%), da PB (2,4%) e da EDI_{ap} (3,8%). A adição da fitase melhorou (P<0,05) a digestibilidade ileal do Ca e P para ambos os níveis de Ca e P_d. O segundo experimento foi realizado utilizando pintos no período de 10 a 24 dias de idade, em arranjo fatorial 2 x 3, com oito repetições contendo oito aves cada. As dietas foram formuladas contendo dois níveis de Ca e P_d

(0,93%Ca/0,455P_d e 0,80%Ca/0,33%P_d) x duas enzimas fitase (1 e 2) e um grupo controle. As excretas foram coletadas do 19^o ao 24^o dia, para o cálculo da EMAN. Dietas e aves foram pesadas no início e no final do experimento, objetivando avaliar o desempenho das aves. As fitases 1 e 2 melhoraram (P<0,05) o ganho de peso em 3,4 e 2,8%, respectivamente. Ambas as enzimas melhoraram (P<0,05) a conversão alimentar em 3%. A adição da fitase melhorou a digestibilidade de PB, P e Ca e os valores de EDI_{ap} (P<0,05), cujo incremento para a fitase 1 foi de 1; 5; 3,5; e 1% e para a fitase 2, de 1,7; 4; 5; e 1,2%, respectivamente. Não foi observada diferença estatística (P>0,05) para o desempenho das aves e a digestibilidade de nutrientes entre as fitases 1 e 2. O terceiro experimento foi realizado utilizando pintos no período de 8 a 18 dias de idade, em arranjo fatorial 2 x 3, com seis repetições contendo 10 aves cada. As dietas foram formuladas ligeiramente deficientes em aminoácidos e energia, contendo dois níveis de Ca e P_d (1,00%Ca/0,45%p_d e 0,70%Ca/0,32%p_d) x duas combinações de um complexo multienzimático (CM - amilase, protease e celulase) e fitase, mais um grupo controle (C), sendo 2 kg/t do CM e 2 kg/t do CM + 1 kg/t de fitase (CM+Fit). A dosagem do CM foi feita em função do farelo de soja e a fitase, em função da ração. As dietas com níveis normais de Ca e P_d e CM apresentaram melhora (P<0,05) na digestibilidade da MS e da EDI_{ap} de 4 e 1,4%, respectivamente. Além disso, a adição do CM+Fit na dieta com nível baixo de Ca e P_d mostrou efeito aditivo, melhorando (P<0,05) a digestibilidade da MS em 2,2% e da EDI_{ap} em 2%, quando comparado à dieta com CM e sem fitase. A adição do CM nas dietas melhorou (P<0,05) a digestibilidade de PB (3%), P (5%) e Ca (8%), em comparação ao controle. Novamente, o efeito aditivo foi observado (P<0,05) com a adição da fitase (CM+Fit) para o P (4,2%) e Ca (4,7%), quando comparados com a dieta sem fitase e CM.

O presente estudo permitiu as seguintes conclusões:

1) a adição de fitase em dieta inicial à base de milho e farelo de soja, para pintos de corte, melhorou o ganho de peso, a conversão alimentar e a digestibilidade ileal de PB, EB, Ca e P;

2) a adição do complexo multienzimático nas dietas à base de milho e farelo de soja melhorou a digestibilidade dos nutrientes;

3) a adição do complexo multienzimático associado com fitase melhorou a digestibilidade dos nutrientes, mostrando efeito aditivo;

4) a utilização de enzimas microbianas exógenas poderá ser potente ferramenta para diminuir a excreção de P e N e, conseqüentemente, reduzir a contaminação do meio ambiente;

5) a adição de enzimas a dietas de aves pode ser economicamente viável em áreas onde o milho e a soja são os principais ingredientes utilizados; e

6) os nutricionistas podem utilizar estas informações para diminuir os requerimentos de proteína, energia, Ca e P ou atribuir valores nutricionais à fitase, nas formulações das dietas para aves.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANNISON, G. Relationship between the levels of non-starch polysaccharides and the apparent metabolizable energy wheats assayed in broiler chickens. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v.39, n.7, p.1552-1256, 1991.
- BEDFORD, M.R., CLASSEN, H.L., CAMPBELL G.L. The effect of pelleting, salt and pentosanase on the viscosity of intestinal contents and the performance of broilers fed rye-based diets. **Poultry Science**, v.70, p.1571, 1991.
- BIEHL, R.R., BAKER, D.H. Microbial phytase improves amino acid utilisation in young chicks fed diets based on soybean meal, but not in diets based on peanut meal. **Poultry Science**, v.76, p.355-360, 1997.
- BORGES, F.M. utilização de enzimas em dietas avícolas. **Cad. Tec. Esc. Vet. UFMG**, n.20, p.5-30, 1997.
- BROZ, J., OLDALE, P., PERRIN-VOLTZ, A.H. Effects of supplemental phytase on performance and phosphorus utilisation in broiler chickens fed a low phosphorus diet without addition of inorganic phosphates. **British Poultry Science**, v.35, n.2, p.273-280, 1994.
- BRUNNER, F., HARIS, R.S., MALETSKOS, BENDA, C.E. Studies in calcium metabolism. Effect of food phytases on calcium uptake in children on low -calcium breakfasts. **Journal Nutrition**, v.54, p.523-542, 1954.
- CANTOR, A.H. Enzimas usadas na Europa, Estados Unidos e Ásia. Possibilidade para uso no Brasil. In: RODA LATINOAMERICANA DE BIOTECNOLOGIA, 5, Curitiba, 1995. **Anais...** Curitiba: Naval, p.31-42, 1995.

- CHARLTON, P. Expanding enzyme applications: higher amino acid and energy values for vegetable proteins. ANNUAL SYMPOSIUM ON BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 12, Loughborough, 1996. **Proceedings...** Loughborough, Great Britain: Nottingham University Press, p.317-326, 1996.
- CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutri.**, v.13, p.297-335, 1980.
- CLASSEN, H.L., GRANHAM, H., INBORR, J., BEDFORD, M.R. Growing interest in feed enzymes to lead to new products. **Feedstuffs**, v.63, n.4, 1991.
- COSGROVE, D.J. The chemistry and biochemistry of inositol polyphosphates. Ver. **Pure Applied Chemistry**, v.16, p.209-224, 1966.
- CONSELHO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL - CBAA. Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, CBNA, São Paulo. p.12-35. 1998.
- COWAN, W.D. Understanding the manufacturing distribution, application, and overall quality of enzymes in poultry feeds. **Journal of Applied Poultry Research**, v.1, p.93-99, 1993.
- DAVIES, M.I., RITCEY, G.M., MOTZOK, I. Intestinal phytase and alkaline phosphatase of chicks: influence of dietary calcium, inorganic and phytate phosphorus, and vitamin D₃. **Poultry Science**, v.49, p.1280-1286, 1970.
- EDWARDS JR., H.M. Dietary 1,25-dihydroxycholecalciferol supplementation increases natural phytate phosphorus utilization in chickens. **Journal of Nutrition**, v.23, p.567-577, 1993.
- FERKET, P. R. Practical use of feed enzymes for turkeys and broiler. **Journal Applied Poultry Research**, v.1, p.75-81, 1993.
- FENNFEEDES INTERNATIONAL. Enzyme in animal nutrition. In: **Feed enzymes technical support manual**. England, 1991. p.11-16.
- JONGBLOED, A.W., EVERTS, H., KEMME, P.A. Phosphorus availability and requirements in pigs. In: COLE, D.J.A. **Recent developments in pig nutrition 2**, Nottingham, 1993. p.163-178.
- KERNKANP, G., DURAN, R. La cebada: una materia prima útil para aves. In: SEMINARIO SOBRE EL EMPLEO DE ENZIMAS EN LA NUTRICIÓN ANIMAL, Barcelona, 1991. **Anais...** Barcelona, 1991.

- KERSEY, J.H., SALEH, E.A., STILBORN, H.L., CRUM, R.C. RABOY JR., V., WALDROUP, P.W. Effect of dietary phosphorous level, high available phosphorus corn, and microbial phytase on performance and fecal phosphorus content. 1. Broiler grown to 21 d in battery pens. **Poultry Science**, v.77 (suppl.1), p. 71 (abstract.), 1998.
- LEHNINGER, A.L. Azúcares, polissacárideos de reserva y paredes celulares. In: **Bioquímica**. 8.ed. Barcelona: Omega, p. 255-284 1984.
- MARSMANN, G.J., GRUPPEN, H. VAN DER POEL F.A., KWAKKEL, P.R., VERSTEGEN, M.W., VORAGEN, A.G. The effect of thermal processing and enzyme treatments of soybean meal on growth performance, ileal nutrient digestibility, and chyme characteristics in broiler chicks. **Poultry Science**, v.76, p.864-872, 1997.
- MATTERSON, L.D., POTTER, L.M., STUTZ, N.W. The metabolizable energy of feeds ingredient for chickens. Storrs: **University of connecticut - Agricultural Experiment Station**, 1965. 11p. (Research Report, 7).
- MCCUAIG, L.W., DAVIS, M.I., MOTZOK, I. Intestinal alkaline phosphatase and phytase o chicks: effect of dietary magnesium, calcium, phosphorus and thyroactive casein. **Poultry Science**, v.51, p.526-530, 1972.
- MITCHELL, R.D., EDWARDS JR., H.M. Effects of phytase 1,25-dihydroxycholecalciferol on phytase utilization and the quantitative requirement for calcium and phosphorus in young broiler chickens. **Poultry Science**, v.75 p.95-110, 1996.
- MOHAMMED, A., GIBNEY, M.I., TAYLOR, T.G. The effect of dietary levels of inorganic phosphorus, calcium and cholecalciferol on the digestibility of phytate by the chick. **British Journal of Nutrition**, v.66, p.251-259, 1991.
- NAMKUNG, H., LEESON, S. Effect of phytase Enzyme on dietary Nitrogen-corrected apparent metabolizable energy and ileal digestibility of nitrogen and amino acids in broiler chcks. **Poultry Science**, v.78, p.1317-1319, 1999.
- NELSON, T.S. The utilization of phytase phosphorous by poultry-Areview. **Poultry Science**, v.46, p.862-871, 1967.
- NELSON, T.S., FERRARA, L.W. STORER, N.L. Phytate phophorus content of feed ingredients derived from plants. **Poultry Science**, v.47, p.1372-1374, 1968a.
- NELSON, T.S., SHIEH T.R., WODZINSKI, R.J., WARE, J.H. The availability of phytate phosphorus in soybean meal before and after treatment with a mold phytase. **Poultry Science**, v.47, p.1842-1848, 1968b.

- NELSON, T.S., SHIEH, T.R., WODZINSKI, R.J. Effect of supplemental phytase on the utilization of phytate phosphorus by chicks. **Journal of Nutrition**, v.101, p.1289-1292, 1971.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrients requirements of poultry**. 9.ed. National Academic Press, Washington, D.C. 1994.
- PERNEY, K.M., CANTOR, A.H., STRAW, M.L., HERKELMAN, K.L. The effect of dietary on growth performance and phosphorus utilization of broiler chicks. **Poultry Science**, v.72, p.2106-2114, 1993.
- QIAN, H., KORNEGAY, E.T., DENBOW, D.M. Phosphorous equivalence of microbial phytase in turkey diets as influenced by calcium to phosphorous ratios and phosphorus levels. **Poultry Science**, v.75, p.68-81, 1996.
- QIAN, H., KORNEGAY, T., DENBOW, D.M. Utilization of phytase phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol, and the calcium:total phosphorus ratio in broiler diets. **Poultry Science**, v.78, p.37-46, 1997.
- RAVINDRAN, V., CABAHUG, S., RAVINDRAN, G., BRYDEN, L. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broiler. **Poultry Science**, v.78, p.699-706, 1999.
- RIMBACH, G., PALLAUF, J. Phytic acid inhibits free radical formation in vitro but does not affect liver oxidant or antioxidant status in growing rats. **Journal of Nutrition**, p. 1950-1955, 1998.
- REDDY, N.R., SUTLE, S.K., SALNKLE, D.K. Phytases in legumes and cereals, **Adv. Food Res.**, v.28, p.1-92, 1982.
- ROSTAGNO, H.S., SILVA, D.J., COSTA, P.M.A. **Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos**. (Tabelas Brasileiras). Viçosa, MG, Imprensa Universitária, 1983. p.61.
- ROSTAGNO, H.S., BARBARINO JR., P. BARBOZA, W. Exigências nutricionais das aves determinadas no Brasil. in: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE AVES E SUÍNOS, 1996, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, p.361-388, 1996.
- STATISTICAL ANALYSES SYSTEM - SAS. North Caroline State University, Cary, NC, USA Institute Inc. 1989 - 1996.

- SEBASTIAN, S., TOUCHBURN, S.P., CHAVEZ, E.R., LAGUE, P.C. Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization of broiler chickens. **Poultry Science**, v.75, p.1516-1523, 1996.
- SEBASTIAN, S., TOUCHBURN, S.P., CHAVEZ, E.R., LAGUE, P.C. Aparent digestibility of protein and amino acids in broiler chickens fed a corn-soybean diet supplemented with microbial phytase. **Poultry Science**, v.78, p.1760-1769, 1997.
- SEBASTIAN, S., TOUCHBURN, S.P., CHAVEZ, E.R. Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: a review. **World's Poultry Science Journal**, v.54, p.27-47, 1998.
- SHAFEY, T.M., McDONALD, M.W. The effect of dietary calcium, phosphorus, and protein on the performance and nutrient utilization of broiler chicks. **Poultry Science** v. 70, p. 548-553, 1991.
- SILVA, D.J. **Análise de alimentos (Métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: UFV. 1990.
- SIMMONS, P.C.M., VERSTEEGH, H.A., JONGBLOED, A.W. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broiler and pigs. **British Journal of Nutrition**, v.64, p.525-540, 1990.
- SOHAIL, S.S., ROLAND, D.A. Influence of supplemental phytase on performance of broilers four to six of age. **Poultry Science**, v.78, p.550-555, 1999.
- SWICK, R.A., IVEY, F.J. Use of enzymes in poultry diets. **Feed Management**, p.11-17, 1992.
- TEJEDOR, A.A. **Efeitos de diferentes níveis de farelo de soja, proteína isolada de soja e enzima alpha-galactosidase na ração pré-inicial de frangos sobre o desempenho e digestibilidade das rações**. UFF: Faculdade de Veterinária. Niterói, RJ, 1996. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, 1996.
- THOMPSON, L.U., YOON, J. H. Starch digestibility as affected by polyphenols and phytic acid. **Journal Food Science**, v.49, p.1228-129, 1996.
- VAN DER KLIS, J.D., VERSTEEGH, H.A.J. Phosphorus nutrition in poultry. In: GARNSWORTHY, P.C., WISEMAN, J., HERESIGN, W. (Eds.) **Recent advances in animal nutrition**. Nottingham University Press, Nottingham, UK. 1996. p.71-83.

- WALDROUP, P.W., AMMERMAN, C.B., HARMS R.H. The availability of phytic acid phosphorus for chicks. Effect of calcium and vitamin D₃ levels on the utilization of calcium phytase. **Poultry Science**, v. 47, p. 926-931, 1964.
- WALDROUP, P.W. Nutritional approaches to reducing phosphorus excretion by poultry. **Poultry Science**, v.78, p.683-691, 1999.
- WASSERMAN, R.H., TAYLOR, A.N. Intestinal absorption of phosphate in the chick. Effect of vitamin D₃ and other parameters. **Journal of Nutrition**, v.103, p.586-599, 1973.
- WISE, A. Dietary factors determining the biological activities of phytase. **Nutritional Abstract Review**, v.53, p.791-806, 1983.
- YI, Z., KORNEGAY, E.T., RAVINDRAN, V., DENBOW, D.M. Improving phytase phosphorus availability in corn and soybean meal for broiler using microbial phytase and calculation of phosphorus equivalency values for phytase. **Poultry Science**, v.75, p.240-249, 1996.
- ZANELLA I., SAKAMURA N. K., SILVERSIDES, F.G., FIQUEIRO, PACK M. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. **Poultry Science**, v.78, p.561-568, 1999.
- ZANINI, S.F. **Efeito da adição de enzimas a ração sobre a utilização de nutrientes para frango de corte**. Belo Horizonte, MG: UFMG, 1997. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, 1997.

APÊNDICE

APÊNDICE

As fórmulas utilizadas nos cálculos dos coeficientes de digestibilidade e de energia foram:

1-) FI = fator de indigestibilidade

$$FI = \left[\frac{Cr_{dieta}}{Cr_{digesta}} \right]$$

2-) MSD = matéria seca digestível

$$MSD (\%) = 100 - [FI \times 100]$$

3-) CD_{ap} Nutriente = coeficiente de digestibilidade aparente de nutriente

$$CD_{ap} \text{ Nutriente} (\%) = \left[100 \times \frac{\text{Nutriente}_{dieta} - \text{Nutriente}_{digesta} \times FI}{\text{Nutriente}_{dieta}} \right]$$

4-) ED_{ap} Ileal = energia digestível aparente ileal, em kcal/kg de MS

$$ED_{ap} \text{ Ileal} = EB_{dieta} - (EB_{digesta} \times FI)$$

EB_{dieta} = energia bruta da dieta; e

$EB_{digesta}$ = energia bruta da digesta.

5-) $EMAn$ = energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio

$$EMA = \frac{EBing. - EBexc.}{MSing.}$$

$$EMAn = \frac{EBing. - EBexc. - 8,22 \times BN}{MSing}$$

EMA = energia metabolizável aparente;

EBing. = energia bruta ingerida;

EBexc. = energia bruta excretada;

MSing = matéria seca ingerida;

EMAn = energia metabolizável aparente corrigida; e

BN = balanço de nitrogênio.