

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**THIAGO CANCELLI**

**PROTEASE EM DIETAS PARA FRANGO DE CORTE**



**CURITIBA**

**2017**

THIAGO CANCELLI

## **PROTEASE EM DIETAS PARA FRANGO DE CORTE**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias, no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dra. Simone Gisele de Oliveira

CURITIBA

2017


PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "**PROTEASE EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE**" apresentada pelo Mestrando **THIAGO CANCELLI** declara ante os méritos demonstrados pelo Candidato, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09-CEPE/UFPR, que considerou o candidato apto para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 15 de fevereiro de 2017

  
Professora Dra. Simone Gisele de Oliveira  
Presidente/Orientadora

  
Professor Dr. Alex Maiorka  
Membro

  
Professor Dr. José Sidney Flemming  
Membro



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 050/2016, referente ao projeto “**Avaliação da inclusão protease na dieta de frangos de corte e análise da cama de frango**”, sob a responsabilidade de **Simone Gisele de Oliveira** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 2 de invasividade, em reunião de 06/07/2016.

Vigência do projeto	Julho/2016 até Agosto/2018
Espécie/Linhagem	Frango de corte / Cobb 500
Número de animais	480
Peso/Idade	44g / 1 dia
Sexo	Macho
Origem	Aviário da Fazenda Canguiri em Pinhais – PR

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 050/2016, regarding the project “**Evaluation of protease inclusion in the broilers diet and analysis of poultry litter**” under **Simone Gisele de Oliveira** supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree 2 of invasiveness, in session of 06/07/2016.

Duration of the project	July/2016 until August/2018
Specie/Line	Broiler / Cobb 500
Number of animals	480
Wheight/Age	44 g / 1 day
Sex	Male
Origin	Aviary at Canguiri Farm in Pinhais - PR

Curitiba, 6 de julho de 2016.

Simone Tostes de Oliveira Stedile

Presidente CEUA-SCA

*Dedico:*

*Às pessoas mais importantes da minha vida...*

*Euclides, Neusa, Fernanda e Aline.*

## **AGRADECIMENTOS**

*Aos meus pais, Euclides e Neusa, pela educação, ensinamentos, amizade e amor incondicional, fundamentais para formação do meu caráter.*

*A minha irmã Fernanda pelo amor, amizade e companheirismo.*

*A orientadora e amiga, Simone Gisele de Oliveira, pelos ensinamentos e amizade, auxiliando tanto na minha formação profissional como pessoal.*

*Aos professores Alex Maiorka, Chayane da Rocha, pelo conhecimento transmitido e pelas valiosas discussões.*

*Aos integrantes do Laboratório de Estudos e Pesquisa em Produção e Nutrição de Animais Não-Ruminantes (LEPNAN) em especial aos amigos da pós-graduação: Andreia, Franciele, Gabriela, Jean, Josiane, Larissa, Leopoldo, Lucas, Manu, Víctor, Vinicius, Vivian; e da graduação: Anna, Lucas, Luiz, Ricardo, Rodrigo, Rosiane, Kauan, Marley, Vitor, Isabella, que sempre se dispuseram a me auxiliar nos trabalhos.*

*Aos colegas de pós-graduação Lucas Barrilli e Josiane Panisson pelo auxílio na realização desse trabalho e ensinamentos.*

*Aos profissionais do Laboratório de Nutrição Animal, em especial: Cleusa, Marcelo, Aldo e Rui, pelo auxílio nas análises, discussões, pela amizade, apoio e conselhos.*

*Ao Cnpq pela bolsa de mestrado concedida.*

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

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”*

*(Arthur Schopenhauer)*

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>x</b>
<b>LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E UNIDADES.....</b>	<b>xi</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>12</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS .....</b>	<b>14</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>15</b>
2.1 Definição e entendimentos práticos.....	15
2.2 Proteínas .....	16
2.3 Enzimas.....	17
2.3.1 Proteases .....	20
2.3.1.1 Efeitos do uso de protease para frangos de corte .....	21
2.4 Pesquisas com combinações de enzimas .....	23
2.5 Considerações finais .....	24
2.6 Referências bibliográficas.....	26
<b>CAPÍTULO II - EFEITO DE NÍVEIS DE PROTEASE SOBRE O DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE .....</b>	<b>29</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>29</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>30</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>31</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODO.....</b>	<b>32</b>
2.1 Local.....	32
2.2 Animais e alojamento .....	32
2.3 Instalações .....	32
2.4 Manejo.....	33
2.5 Dietas experimentais .....	33
2.6 Variáveis analisadas.....	34
2.7 Delineamento .....	35
2.8 Análise estatística.....	35
<b>3. RESULTADO E DISCUSSÃO .....</b>	<b>36</b>
3.1 Índices zootécnicos .....	36
3.1.1 Consumo de ração .....	37
3.1.2 Ganho de peso .....	37
3.1.3 Conversão alimentar.....	38
3.2 Cama de frango.....	40
3.2.1 Análise dos elementos.....	42
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>45</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>46</b>
<b>6. REFERÊNCIAS GERAIS.....</b>	<b>48</b>



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Ganho de peso de frangos de corte de 1 a 40 dias de idade alimentados com inclusão crescente de protease na dieta.....	37
FIGURA 2. Conversão alimentar de frangos de corte de 1 a 40 dias de idade alimentados com inclusão crescente de protease na dieta .....	39

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Enzimas mais usadas em dietas avícolas .....	19
TABELA 2. Composição alimentar e nutricional das dietas experimentais .....	33
TABELA 3. Temperatura máxima e mínima, umidade relativa do ar, durante o período experimental.....	35
TABELA 4. Desempenho de frangos de corte de 1 a 40 dias de idade alimentados com dietas de desempenho superior com inclusão crescente de enzima protease .	36
TABELA 5. Resultado da análise química da maravalha antes das aves serem alojadas .....	40
TABELA 6. Análise química dos macroelementos .....	41
TABELA 7. Análise química dos microelementos.....	43

## LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

AAFCO – associação americana oficial de controle de alimentos para consumos animal  
CA – conversão alimentar  
CR – consumo de ração  
CV – coeficiente de variação  
Cu - cobre  
EMA – energia metabolizável aparente  
GP – ganho de peso  
g – gramas  
H – hidrogênio  
kcal – kilocaloria  
kg – quilograma  
mg – miligrama  
MS – matéria seca  
N – nitrogênio  
NRC – conselho nacional de pesquisa  
P – probabilidade  
P – fósforo  
PB – proteína bruta  
pH – potencial de hidrogênio iônico  
PNA – polissacarídeo não amiláceo  
ppm – partes por milhão  
TGI – trato gastrointestinal  
Zn – zinco  
% - porcentagem  
°C – graus celcius

## RESUMO

Entre vários aspectos na produção avícola, a nutrição apresenta papel importante, que abrange o conhecimento do potencial nutritivo dos nutrientes e exigências nutricionais. No potencial nutritivo, os programas nutricionais têm buscado novas estratégias para melhorar a digestibilidade dos alimentos e proporcionar condições que favoreçam a expressão do máximo potencial genético das aves, sem acréscimos onerosos aos custos de produção. O presente trabalho tem por objetivo avaliar o efeito de diferentes níveis de inclusão de protease na dieta de frangos de corte sobre o desempenho destes animais de 1 a 40 dias. Ainda se avaliou a cama de frango pelos aspectos químicos através da excreção das aves. No experimento foram utilizados 480 pintos macho Cobb distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e oito repetições de doze aves cada. As dietas administradas nos tratamentos foram fareladas com inclusão de protease (0, 50, 100, 150 e 200 ppm) na ração. As aves alimentadas com maior inclusão de protease apresentaram melhor conversão alimentar (CA). Todavia, o ganho de peso (GP) das aves diminuiu com o aumento da inclusão da protease na dieta, assim como o consumo de ração (CR). Foi avaliado o desempenho das aves de 1 a 40 dias de idade. Na fase total de criação das aves os seus índices zootécnicos avaliados estatisticamente não foram significativos para ( $P < 0,05$ ). Ao final do experimento, foram coletadas cinco amostras de cama dos respectivos tratamentos e encaminhados para análise química (proteína bruta, cálcio, fósforo, sódio, potássio, boro, cobre, manganês, ferro, zinco e matéria seca). As análises químicas dos elementos, comprovou que as enzimas podem ajudar a melhorar a disponibilidade dos minerais aos animais, diminuindo a excreção destes na cama. Quanto aos minerais mais sensíveis, são elementos de fácil complexação, o que demonstrou uma excreção considerada desses elementos na cama de frango. O experimento realizado foi confirma alguns dos resultados realizados ao longo dos anos, sendo confirmados com inúmeros projetos, na qual a protease era o principal fator a ser avaliado na dieta de frangos de corte. Os animais tiveram uma melhor conversão alimentar com a inclusão de protease, entretanto esse ganho se deu ao custo de um menor ganho de peso desses animais, sendo assim um resultado que não é favorável para a cadeia produtiva de frangos de corte.

**Palavras-chave:** aves, desempenho, protease, análise química

## ABSTRACT

Among several aspects in poultry production, nutrition plays an important role, which includes knowledge of the nutritional potential of nutrients and nutritional requirements. In nutritional potential, nutritional programs have sought new strategies to improve the digestibility of food and provide conditions that favor the expression of the maximum genetic potential of the birds, without costly additions to the costs of production. The objective of the present work was to evaluate the effect of different levels of protease inclusion in the broiler diet on the performance of these animals from 1 to 40 days. The chicken bed was also evaluated for chemical aspects through the excretion of the birds. In the experiment were used 480 male Cobb chicks distributed in a completely randomized design with five treatments and eight replicates of twelve birds each. The diets administered in the treatments were smoked with inclusion of protease (0, 50, 100, 150 and 200 ppm) in the diet. Birds fed higher protease inclusion had better feed conversion (CA). However, the weight gain (GP) of the birds decreased with the increase of the protease inclusion in the diet, as well as the feed consumption (CR). The performance of birds from 1 to 40 days of age was evaluated. In the total phase of bird breeding, their statistically evaluated zootechnical indexes were not significant for ( $P < 0.05$ ). At the end of the experiment, five bed samples of the respective treatments were collected and submitted to chemical analysis (crude protein, calcium, phosphorus, sodium, potassium, boron, copper, manganese, iron, zinc and dry matter). The chemical analysis of the elements, proved that the enzymes can help improve the availability of minerals to animals, reducing the excretion of these in bed. As for the most sensitive minerals, they are elements of easy complexation, which demonstrated a considered excretion of these elements in the bed of chicken. The experiment was confirmed some of the results achieved over the years, and confirmed with numerous projects, in which protease was the main factor to be evaluated in the diet of broilers. The animals had a better feed conversion with the inclusion of protease, however, this gain was due to the lower weight gain of these animals, which is not a favorable result for the productive chain of broilers.

**Key words:** birds, performance, protease, chemical analysis

## **CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **1. INTRODUÇÃO**

O custo de produção é uma das grandes preocupações, não só na avicultura, mas em qualquer atividade agropecuária, já que sempre se trabalha com baixa lucratividade e o preço do produto é determinado pelo mercado. Considerando que aproximadamente 75% do custo de produção é determinado pela alimentação, e que os constantes aumentos nos preços dos insumos utilizados na atividade avícola nos últimos anos, é necessário que se desenvolvam pesquisas visando soluções para que haja maior aproveitamento dos nutrientes pelos animais.

Sendo assim, a pressão do setor acabou por levar os nutricionistas a se empenharem na busca de estratégias e alternativas que possibilitem a formulação de rações mais eficientes, que garantam um rápido desenvolvimento das aves, reduzindo o seu tempo de abate, e por consequência os custos. Entre as alternativas nutricionais, a suplementação enzimática tem auxiliado na promoção de um melhor desempenho das aves.

A utilização de enzimas na produção de aves é amplamente aceita e embasada cientificamente, pois, dependendo do tipo de enzima utilizada, podem-se observar melhorias no desempenho, digestibilidade dos nutrientes e saúde intestinal. MENEGHETTI (2013), cita que, em virtude das fontes inorgânicas de fósforo (P) serem esgotáveis e onerosas, somado as demandas da sociedade relacionadas à redução da poluição ambiental, as fitases foram pioneiras a serem estudadas e testadas nas dietas avícolas e certamente são responsáveis por mais da metade da fatia do mercado mundial de enzimas, sustentada pela sua eficiência comprovada.

Nos últimos anos, o uso de enzimas evoluiu consideravelmente em função do custo crescente dos ingredientes das formulações para as aves e pelo aumento da oferta de produtos que atuam em diferentes substratos.

Em dietas baseadas em milho e farelo de soja existem várias oportunidades para ganho de eficiência. Em primeiro lugar, entretanto, é preciso adotar conceitos corretos direcionando a ação desses produtos aos substratos desejados.

Segundo MENEGHETTI (2013), as enzimas podem atuar diretamente sobre os substratos ou através da degradação da parede celular permitindo o acesso aos

substratos que por estarem no conteúdo celular, de outra forma não estariam disponíveis.

A combinação de enzimas em dietas para aves representa um potencial a ser investigado, mesmo que haja substratos para as enzimas do mercado o uso de combinações enzimáticas está cada vez mais consolidado na nutrição avícola.

Desta forma, objetivou-se com esse trabalho avaliar índices zootécnicos, consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar, em frangos de corte, com rações suplementadas a diferentes níveis de protease, durante toda a fase de criação (1 a 40 dias).

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Definição e entendimentos práticos**

De acordo com a publicação oficial de 2006 da AAFCO (Associação Americana Oficial de Controle de Alimentos para Consumo Animal), a seguir são apresentados alguns conceitos, que embora pareçam teóricos, proporcionam importantes informações.

Uma enzima é definida como sendo uma proteína composta por aminoácidos ou seus derivados, que catalisam uma reação química específica. As necessidades de cofatores específicos são consideradas como parte integrante da enzima. Importante observar que existem alguns aspectos relevantes, como:

1. São proteínas e, portanto, passíveis de degradação por fatores como temperatura e outros;
2. Realizam reações químicas específicas, portanto, apenas etapas muito particulares na transformação de um substrato são mediadas pelas enzimas;
3. Maior interação nas discussões são cruciais sobre atividade enzimática, aspecto ao qual muitas das inovações futuras poderão estar relacionadas.

Segundo KRABBE (2014), a atividade enzimática é compreendida como a atividade catalítica necessária para converter uma quantidade específica de substrato em uma quantidade específica de um produto, por unidade de tempo sob uma condição específica. É neste contexto que as enzimas são avaliadas quanto a sua atividade. Mas na prática, no trato digestório dos animais, as condições de tempo de

passagem e até mesmo condições físico-químicas podem sofrer alterações, em consequência ao tipo de dieta (granulometria, fibras, extrato etéreo, pH e efeito tampão do alimento, dentre outros), condições ambientais (alcalose respiratória e acidose metabólica), qualidade físico-química da água (pH, teor e tipo de minerais presentes), além de outros aspectos.

Uma enzima é definida como um aditivo contendo material enzimático processado e padronizado, formado com a finalidade de ser comercializado para uso em alimentos ou matérias primas para consumo animal. KRABBE (2014) cita que, é preciso entender que as enzimas comerciais são obtidas através da biotecnologia (fermentações), onde microrganismos são selecionados para este fim. Evidente, que com o passar dos anos, a tecnologia evoluiu e as enzimas comerciais atuais tem predominância de uma atividade específica (enzima isolada), mas em muitos ensaios de atividade enzimática são observadas atividades de enzimas adjacentes como as digestivas, que na prática podem atuar em outros substratos presentes na dieta, gerando novos produtos, o que pode ser benéfico ou não, como é o caso quando existe a presença de atividades como lipase e lipoxigenase, que podem favorecer oxidação de lipídios.

## **2.2 Proteínas**

As aves apresentam um trato digestório relativamente curto, em comparação aos mamíferos, assim sendo, o processo de trituração do alimento e desnaturação das proteínas precisa ser consideravelmente eficiente para uma adequada digestão proteica.

A digestão proteica em frangos de corte tem seu início no proventrículo, este órgão é responsável pela secreção de ácido clorídrico e pepsinogênio pelas células principais. O ácido ou a pepsina transformam o pepsinogênio em pepsina, sua forma ativa, e o pH ácido (~2,5), é o ideal para as enzimas digestivas funcionarem. O resultado deste processo é a desnaturação das proteínas dietéticas com a abertura destes compostos e a eliminação da estrutura terciária o que facilita a ação das enzimas proteolíticas na moela e intestino delgado (RUTZ, 2002). Concluída a digestão gástrica o conteúdo, agora denominado quimo, é liberado para o intestino delgado em pequenas quantidades. A chegada desta pasta semilíquida ácida no duodeno vai estimular a produção de hormônios (gastrina, colecistoquinina, secretina)



e estes a liberação da bile e do suco pancreático (rico em proteases, carboidrases, lípases e bicarbonato de sódio), pelo fígado e pelo pâncreas, respectivamente (ARGENZIO, 1993).

A digestão proteica no intestino delgado é muito mais rápida e intensa devido à ação das enzimas pancreáticas responsáveis pela digestão no lúmen intestinal e pelas enzimas presentes na mucosa intestinal. As proteases que agem no intestino delgado podem ser divididas em três grupos: endopeptidases e exopeptidases secretadas pelo pâncreas, e aminopeptidases secretadas pela mucosa intestinal (CHAMPE e HARVEY, 2006).

As endopeptidases e exopeptidases no lúmen intestinal realizam hidrólise da maior parte do quimo liberado no intestino delgado. Porém há evidências que pequenas porções peptídicas são resistentes a hidrólise luminal. A digestão dos peptídeos provenientes da ação das enzimas gástricas e pancreáticas até aminoácidos são completadas pelas múltiplas peptidases produzidas pelas células das vilosidades das porções iniciais do intestino delgado. As peptidases mais importantes são as aminopolipeptidases e as dipeptidases, que desdobram os peptídeos remanescentes em tripeptídeos e dipeptídeos e alguns aminoácidos (PELUZIO e BATISTA, 2008).

Uma pequena parte da proteína dietética não é digerida e quando essa porção atinge o intestino grosso sofre hidrólise e ressíntese pelas bactérias presentes neste local. Por essa razão, o íleo terminal é o local mais indicado para determinação de digestibilidade de aminoácidos de uma dieta ou ingrediente, por haver pequena influência da microbiota e não haver a presença de ácido úrico nesta porção do trato digestivo (ZANELLA et al., 1999).

### **2.3 Enzimas**

A maioria das enzimas é nomeada por meio da adição do sufixo “ase” ao nome do substrato que ela atua (protease – substrato proteína) ou a um termo descritivo da reação que catalisa (álcool desidrogenase – remove H da molécula de álcool). Porém, algumas enzimas são nomeadas pelo nome histórico (tripsina) (SANTOS JUNIOR e FERKET, 2007; PENZ JR., 1998; HORTON et al., 1996).

Enzimas são catalizadores protéicos que aumentam a velocidade de uma reação química e não são consumidos durante a reação que catalisam (CHAMPE e HARVEY,

1996). São catalizadores biológicos produzidos por todos os seres vivos, atuando em substratos específicos, conforme condições de temperatura, umidade e pH, em um tempo definido. Facilitam as reações bioquímicas que permitem aos microrganismos, plantas e animais realizarem suas funções vitais. Fazem um papel crucial na digestão, já que ajudam a degradar os componentes alimentícios em moléculas simples para sua digestão e assimilação.

O uso comercial de enzimas digestivas na avicultura é relativamente recente, com o primeiro interesse ocorrido no Canadá, por volta de 1988 (PUCCI, 2008). Todavia, a história do uso de enzimas começa com pesquisadores da Universidade do Estado de Washington – USA, na década de 50, os quais descobriram que umedecendo determinados grãos de cereais na água antes do fornecimento poderia melhorar o desempenho das aves. Mais tarde eles observaram que isto ocorria devido a ativação de enzimas endógenas. Mais tarde o interesse aumentou na Europa, onde muitos países possuem a agricultura baseada no plantio da cevada. Neste período descobriu-se que a B-glucanase era a enzima específica que poderia melhorar a performance da ave e eliminar problemas de cama, ocasionados por dietas baseadas em cevada. Mais tarde foi descoberto que arabinoxilanases (pentosanases) tinham o mesmo efeito sobre o trigo e dietas baseadas em centeio.

A maioria dos produtos enzimáticos utilizados na alimentação animal são extratos de fermentação preparados a partir de fungos, bactérias e leveduras, contêm principalmente amilases, pectinases, celulases e proteases e envolvem fermentação, extração, separação e purificação (PUCCI et al., 2003).

Recentemente, a biotecnologia tem evoluído muito no caminho de produzir substâncias para serem utilizadas em vários ramos da produção animal. Neste contexto, as enzimas têm sido importantes na melhoria do aproveitamento dos nutrientes presentes nos ingredientes que constituem as rações.

Quando mencionamos enzimas, o termo mais correto de se utilizar é o de produtos enzimáticos, uma vez que as condições nas quais as enzimas são produzidas são diferentes, resultando em produtos enzimáticos distintos. Com isso, pode-se afirmar que os diferentes produtos enzimáticos existentes no mercado não são iguais. Isto se deve a fatores específicos, inerentes às condições de fabricação das enzimas, tais como: tipo e cepa de microrganismos, meio de cultura utilizado, condições de fermentação e processamento (LECZNIESKI, 2005).

As indústrias produtoras de enzimas comercializam enzimas específicas ou complexos enzimáticos para serem adicionados em matérias-primas ou suplementados nas dietas, buscando sempre melhorar o valor nutritivo. Sendo assim, várias são as enzimas empregadas para melhorar o desempenho das aves, cuja a grande maioria já está presente no mercado há alguns anos e é utilizada para degradar ou acelerar a digestão dos compostos dos macro-ingredientes vegetais.

Algumas enzimas utilizadas em dietas para aves, a base de milho e farelo de soja, e seus possíveis efeitos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Enzimas mais usadas em dietas avícolas

Enzima	Substrato	Efeito
Xilanases	Arabinoxilanas	Redução da viscosidade da digesta intestinal
Glucanases	Betaglucanas	Redução da viscosidade da digesta intestinal Diminuição de ovos sujos
Pectinases	Pectinas	Redução da viscosidade da digesta intestinal
Celulases	Celulose	Aumento da digestibilidade da matéria seca
Proteases	Proteínas	Suplementação de enzimas endógenas Maior digestibilidade dos nutrientes
Amilases	Amido	Suplementação de enzimas endógenas Maior digestibilidade dos nutrientes
Fitases	Ácido fítico	Aumento na utilização do fósforo vegetal Remoção do fósforo fítico

Fonte: Adaptado de Cleophas et al. (1995), citado por Carvalho (2006)

Segundo ZANELLA (2001), existem três grupos de enzimas disponíveis no mercado: enzimas para alimentos com baixa viscosidade (milho, sorgo e soja), enzimas para alimento de alta viscosidade (trigo, centeio, cevada, aveia, tritcale e farelo de arroz) e enzima para degradar o ácido fítico dos grãos vegetais (melhorando a utilização do fósforo dos vegetais).

De acordo com a sua finalidade, as enzimas usadas em rações animais podem ser destinadas a completar a ação de enzimas endógenas; remover ou destruir fatores antinutricionais (Polissacarídeos Não Amiláceos – PNA e Ácido fítico); aumentar a digestibilidade total da ração; potencializar a ação de enzimas endógenas e diminuir a poluição ambiental por nutrientes excretados (P,N,Zn e Cu) (GUENTER, 2002; COUSINS, 1999; SOTO-SLANOVA, 1996).

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 nos premixes, essas alterações ocorrem por que a proteína perde sua estrutura secundária e/ou terciária, ou seja, o arranjo tridimensional da cadeia polipeptídica é rompido, fazendo com que, quase sempre, perca sua atividade biológica característica. Sendo assim, existe a preocupação de que as enzimas utilizadas na alimentação animal possam manter nível de atividade suficiente para obter resposta significativa.

### **2.3.1 Proteases**

Em razão da importante função que a proteína exerce no desenvolvimento animal e o custo proporcional deste nutriente na formulação de rações, o uso de proteases na nutrição avícola tem recebido considerável atenção atualmente. Embora dietas tradicionais à base de milho e de farelo de soja sejam consideradas de alta digestibilidade (KIDD et al., 2001; ODETALLAH et al., 2003), elas ainda contêm uma série de complexos proteicos que podem não ser facilmente digeríveis por aves jovens, que possuem baixa produção de enzimas nessa fase da vida (UNI et al., 1999).

As proteases constituem a família das hidrolases, responsáveis pela catálise das ligações peptídicas entre os aminoácidos das proteínas. São enzimas 18 endógenas e podem ser classificadas como endopeptidases ou exopeptidases. A diferença entre elas é que as endopeptidases limitam seu ataque a ligações de dentro da molécula proteica, quebrando grandes cadeias de peptídeos em segmentos de polipeptídios menores.

A adição de proteases exógenas pode representar um potencial desejável para inativação de fatores antinutritivos, tais como lectinas, proteínas antigênicas e inibidores de tripsina, presentes em determinados alimentos, particularmente em leguminosas (THORPE & BEAL, 2001; COWIESON et al., 2006) e, também, suplementar a atividade proteolítica em animais jovens, liberar peptídeos menores e facilitar a ação das enzimas endógenas.

Pesquisas realizadas, no Brasil, especificamente com frangos de corte, utilizam proteases exógenas de serina, tais como as enzimas endógenas, quimiotripsina, tripsina e elastase, entretanto, diferem dessas por serem endopeptidases

relativamente sem especificidade quanto à hidrólise de ligações peptídicas e, portanto, com potencial de ação sobre todas as proteínas (MENEGETTI, 2013).

A grande variedade de proteases endógenas produzidas no trato digestório das aves geralmente é suficiente para a adequada utilização de proteínas (NIR et al., 1993). No entanto, os resultados de digestibilidade constituem-se em bom indicativo de que consideráveis quantidades de aminoácidos e de proteína passam pelo trato digestório sem serem aproveitados e completamente digeridos (LEMME et al., 2004).

A suplementação de proteases exógenas nas dietas para animais monogástricos visa quebrar as proteínas pouco disponíveis, designadas de proteínas de armazenamento, presentes nos mais diversos ingredientes vegetais, as quais são geradas, principalmente, no desenvolvimento das sementes, e possuem enorme afinidade de se ligar ao amido, não conseguindo ser digerida pelo animal por formar complexo insolúvel na forma de quelato (BARLETTA, 2010).

De acordo com ISAKSEN et al. (2010), a adição de proteases em dietas avícolas apresenta outras ações potenciais como: aumentar a produção endógena de peptidase, reduzindo a necessidade de aminoácidos e energia, por melhorar a digestibilidade da proteína dietética, além de hidrolisar os 19 antinutrientes da proteína (lecitinas ou inibidores de tripsina), melhorando a eficiência com que a ave utiliza os aminoácidos, consequentemente reduzindo o turnover proteico.

A utilização de protease em dietas avícolas tem se mostrado eficiente tanto em termos técnicos, quanto econômicos, principalmente na última década, em decorrência dos altos custos dos ingredientes, assim como variabilidade na composição, qualidade e preços das farinhas de origem animal, assim, as principais enzimas voltadas para este contexto ganharam força sendo amplamente utilizadas e pesquisadas.

Nesse sentido, o uso da protease exógena pode ser um aliado útil na alimentação animal, pois a partir dos resultados de pesquisas, tornar-se-á possível elucidar os mecanismos de ação, dose ótima, os substratos preferidos das proteases, além de explorar as interações entre diferentes produtos enzimáticos.

### **2.3.1.1 Efeitos do uso de protease para frangos de corte**

MENGHETTI (2013) reportou a necessidade de considerar a resistência à atividade proteolítica quando se utiliza protease associada a outro grupo de enzimas,

pois ocorre a inespecificidade quanto à hidrólise das ligações peptídicas, com potencial de ação sobre todas as proteínas, inclusive as enzimas exógenas. Pode-se citar, como principal objetivo da utilização de proteases exógenas nas rações avícolas, a redução de proteína bruta da dieta sem alteração no desempenho zootécnico das aves (YU et al., 2007). O efeito benéfico da adição enzimática torna-se limitado, quando estas são adicionadas acima das exigências de aminoácidos das aves.

Segundo LIMA et al. (2007), a hidrólise das proteínas resistentes ao processo digestivo das enzimas das próprias aves proporciona redução da proteína bruta da dieta, sem causar alteração no desempenho zootécnico e no rendimento de carcaça das aves, apesar de ressaltarem que seus efeitos são mais pronunciados em dietas com reduzidos níveis aminoacídicos ou proteicos 20 (YU et al., 2007), possibilitando minimizar a excreção de nitrogênio, fator de enorme importância ecológica (OXENBOLL et al., 2011).

O uso de compostos enzimáticos, principalmente proteases, amilases e lipases, teoricamente, apresentaria melhores resultados em períodos iniciais do desenvolvimento animal, visto que há menor capacidade digestiva nesta idade (FERKET, 1993; UNI et al., 1999). Corroborando com isso, OLUKOSI et al. (2007), à suplementar amilase, xilanase e protease em rações para frangos de corte, observaram que o benefício da suplementação enzimática ocorre majoritariamente nos períodos iniciais da vida da ave.

ANGEL et al. (2011) avaliaram a adição de protease nas dietas de frangos, na fase inicial de 7 a 22 dias de idade. Analisaram seis tratamentos, um controle positivo (CP) com 23% proteína bruta (PB) e 5 controles negativos (CN) com 20% PB, redução de 12% na exigência de lisina e metionina e 10% para treonina, além de níveis crescentes da enzima (0, 100, 200, 400 e 800 mg/kg de ração). As aves do grupo CN, sem suplementação enzimática, obtiveram ganho de peso (GP) e consumo de ração (CR) 7% menor em relação as aves do CP, entretanto, quando a protease foi suplementada a partir de 200 mg/kg o desempenho foi equalizado. Esse resultado foi sustentado pela melhoria na digestibilidade da maioria dos aminoácidos essenciais a partir da dose mínima utilizada. No entanto, o grau de melhoria era dependente do aminoácido específico, tendo menores ganhos com isoleucina (3,2%), e maiores respostas com a treonina (7,8%).

O efeito positivo da adição de protease exógena foi relatado por FAVERO et al. (2009), que evidenciaram a recuperação do desempenho em frangos de corte,

alimentados com rações contendo milho, farelo de soja e farinha de carne e ossos, com reduções proteicas e energéticas. Esses autores concluíram que a suplementação de 200 g/ton, da enzima em questão, atenuou perdas de ganho de peso de frangos de corte quando reduções de 3 e 6% na proteína bruta das dietas foram feitas.

MAIORKA et al. (2011) também relataram melhora no desempenho, maior rendimento de carcaça e menor deposição de gordura abdominal para frangos de um a 28 dias de idade, suplementados com proteases em suas rações. GÓMEZ et al. (2011) verificaram que houve melhora da disponibilidade de 21 aminoácidos e o valor energético das rações para frangos de corte, dos 13 aos 21 dias de idade, com a adição da protease.

Resultados positivos com utilização de complexo enzimático contendo amilase, xilanase e protease, nas dietas de frangos de corte, foram descritos por RODRIGUES et al. (2003), que observaram melhoria na digestibilidade ileal de proteína bruta, do amido e da energia da ração. A suplementação de rações para frangos de corte com uma protease de serina apresentou melhorias na conversão alimentar, digestibilidade da proteína bruta, assim como na digestibilidade dos aminoácidos (BERTECHINI et al., 2009; CARVALHO et al., 2009).

## **2.4 Pesquisas com combinações de enzimas**

Como já foi exposto anteriormente, na fase inicial de criação, a digestão do amido é menor em relação a fase final do frango de corte, em decorrência da imaturidade do trato digestório, tanto em relação ao enterócito, que é considerado imaturo, pois nos primeiros dias do frango ainda está direcionando para a transferência de imunoglobulinas, além da absorção dos nutrientes, e, quanto a baixa produção de enzimas, sendo uma possibilidade o uso das amilases exógenas. Outras alternativas viáveis seriam, as enzimas que degradam os PNA's e as proteases, visto a maior quantidade de farelo de soja na fase inicial e quando há a utilização de ingredientes de origem animal, como farinha de carne e ossos, de penas e vísceras. Por outro lado, na fase final, reduz-se a soja e aumenta-se o milho, proporcionando mais uma alternativa ao uso da amilase exógena, devido a maior quantidade do substrato amido nas rações.

Além do desenvolvimento do trato digestório, do perfil de nutrientes e dos ingredientes das dietas em função da idade, vale ressaltar também que o frango de corte moderno é diferente daquele dos anos 90, em virtude da seleção e do melhoramento genético, visar a hiperfagia associada aos altos ganhos de tecido muscular, por isso, talvez, o frango moderno exceda a capacidade de uma absorção otimizada dos nutrientes.

Essas variações são decorrentes, principalmente, das diferentes matrizes dos alimentos e das próprias enzimas, entretanto, há possibilidades de que as altas reduções no valor energético da ração aliada a valorizações de nutrientes como fósforo, cálcio, proteína e aminoácidos, possa comprometer o desempenho dos animais em virtude de maior dificuldade em se adaptar e se manter em situação de deficiência nutricional. Além disso, as reduções nutricionais podem levar a resultados distintos em diferentes fases, de acordo com o nutriente mais limitante para a fase estudada (FRANCESCH; GERAERT, 2009), portanto, é necessário avaliar se há limitação fisiológica em algum momento, quando se utiliza vários grupos de enzimas nas formulações.

Os trabalhos conduzidos para avaliar os efeitos da suplementação enzimática nas rações de aves, referem-se quase sempre, ao uso de carboidrases e/ou proteases. A utilização de fitases já é uma realidade nas rações para aves e por isso, considera-se um aditivo usual nas formulações.

Avaliando a combinação de fitase e do complexo amilase, protease e xilanase, em rações de frango de corte, BARBOSA et al. (2008) observaram aumento na digestibilidade da proteína, da energia e do fósforo, refletindo em melhor desempenho, entretanto, as enzimas não foram suficientes em equalizar ou recuperar o desempenho das aves submetidas ao controle negativo, com redução de 130 e 145 kcal/kg de EMAn nas fases inicial e final, respectivamente, e 0,13 e 0,12 pontos percentuais para fósforo e cálcio, em relação as aves submetidas ao controle positivo.

De acordo com BRITO (2011), a dificuldade na mensuração de respostas principalmente com expectativa de ganho extra, com o uso de enzimas, pode-se dar em virtude de uma formulação errônea de dietas denominadas controle positivo, e principalmente as do grupo controle negativo (matriz de alimentos), e a baixa representatividade da amostra de animais.

## **2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**



As tendências estarão não apenas condicionadas ao desenvolvimento de novas enzimas, mas também, como resposta a ajustes na metodologia de uso das atuais enzimas, passando a ser obtidas a partir de outros microrganismos ou novos processos de cultivo dos mesmos. Por outro lado, o uso de enzimas na nutrição animal é um fato.

Pesquisas são necessárias para um melhor domínio do perfil de substratos presentes nas matérias primas, associado ao desenvolvimento de recursos analíticos práticos e viáveis de serem implantados pelo controle de qualidade das fábricas de rações.

É possível haver efeito associativo entre duas enzimas exógenas, tanto em relação ao desempenho, quanto em relação a digestibilidade de aminoácidos das dietas.

## 2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAFCO, 2006. **Official publication AFFCO**, ISBN 1-878341-18-9, 457 p.

ANGEL, R., TAMIM, N. M., APPLGATE, T. J., DHANDU, A. S., ELLESTAD, L. E. Química do ácido fítico: Influência na disponibilidade de fito-fósforo e na eficácia da fitase. **Journal Applied of Poultry Research**, 11, 471-480. 2011.

ARGENZIO, R.A. Funções Secretórias do Trato Gastrointestinal. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. Dukes: **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.319-329. 1993.

BARLETTA, A. Introduction: Current market and expected developments. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm animal nutrition**. 2nd. London: Cab International, 2010. cap. 1, p.1-11.

BERTECHINI, A. G.; BRITO, J. A. G. Utilização correta de enzimas em rações de aves. In: **Fórum internacional de avicultura**, 2007, Curitiba. Anais... Curitiba: Animal World, 2009.

BRITO, M. S., FRANKLIN, C., OLIVEIRA, S., ROCHA, T. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos - **Revisão. Acta Veterinária Brasilica**, 2(4), 111–117. 2011.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. **Bioquímica Ilustrada**. 2.ed. Porto Alegre: Artes Máficas Sul, 1996. 446p.

CHAMPE, PAMELA C., RICHARD A. HARVEY, AND DENISE R. FERRIER. **Bioquímica ilustrada**. Editora Artmed, 2006.

CLEOFHAS, G.M.L; VAN HARTINGSVELDT, W.; SOMER, W.A.C. Enzyme can play na inportant role in poultry nutrition. **World Poultry Science, Cambridge**, v. 11,p. 12-15, 1995.

COUSINS, B. Enzymes in bird nutrition. In: **I Symposium international acav - embrapa sobre nutrição de aves**. 1999, Concórdia, SC. Anais... Concórdia: EMBRAPA/CNPSA, 1999. P.118-132.

COWIESON, A. J., RAVINDRAN, V. Effect of exogenous enzymes in maizebased diets varying in nutrient density for young broilers: growth performance and digestibility ofenergy, minerals and amino acids. **British Poultry Science**, 49(1), 37–44. 2008.

FAVERO, A. et al. Effect of protease enzyme on performance and ileal digestibility of broilers grown to 42 days of age in floor pens. IN: **International poultry scientific forum**, 2009, Atlanta. Abstracts... Atlanta: Poultry Science, 2009. P. 9.

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

GUENTER, W. Practical experience with the use of enzymes. Capturado em 19 de agosto de 2016. Disponível em: <http://www.idrc.ca/books/focus/821/chp6.html>.

HORTON, H.R.; MORAN, L.A.; RAWN, J.D. Properties of enzymes. In: **Principles of Biochemistry**. 2ed. River: Prentice-Hall Inc. 1996. P.119-146.

ISAKSEN, M.F.; COIESON, A.J.; KRAGH, K.M. Starch-and protein degrading enzymes: biochemistry, enzymology and characteristics relevant to animal feed use. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIGDE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition**. 2 nd. London: Cab International, 2010. cap. 4, p.85-94.

LECZNIESKI, J. L. Considerações práticas do uso de enzimas. In: **Seminário internacional de aves e suínos**, 5., 2006, Florianópolis. Anais... Florianópolis: AveSui, 2005.

LEMME, A.; RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W. L. Ileal digestibility of amino acids in feed ingredients for broilers. **World's Poultry Science Journal, Ithaca**, v. 60, p. 423-437, 2004.

LIMA, M.R.; SILVA, J.H.V.; ARAÚJO, J.A.; LIMA, C.B.; OLIVEIRA, E.R.A. Enzimas exógenas na alimentação de aves. **Acta Veterinária Brasileira**, Mossoró v.1, n.4, p.99-110, 2007.

MCDONALD, P.; EDWARDS, R. A.; GREENHALGH, J. F. D. **Animal nutrition**. 4. Ed. New York: Longman Scientific & Technical, 1990.

MENEGHETTI, C. et al. Altos níveis de fitase em rações para frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, n. 3, p. 624-632, 2011.

MOREIRA, I.; SCAPINELLO, C.; SAKAMOTO, M. U. Fisiologia da digestão e absorção de proteínas em aves. **Curso de fisiologia da digestão e metabolismo dos nutrientes em aves**. Jaboticabal: UNESP, 2004.

NIR, I. Comparative growth and development of the digestive organs and some enzymes in the broiler chicks and egg type chicks after hatching. **British Poultry Science, Oxford**, v. 34, n. 3, p.523-532, 1993.

ODETALLAH, N. H. et al. Versazyme Supplementation of Broiler Diets Improves Market Growth Performance. **Poultry Science, Champaign**, v. 84, p. 858-864, 2005.

OLUKOSI, O. A.; COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Age-related influence of a cocktail of xylanase, amylase, and protease or phytase individually or in combination in broilers. **Poultry Science**, v. 86, n. 1, p. 77-86, jan. 2007.

PENZ JÚNIOR, A. M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: **Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia**, 35, 1998, Botucatu-SP. Anais... Botucatu. 1998. P.165-178.

PINHEIRO, D. F. et al. Efeito da restrição alimentar precoce e suplementação enzimática em atividades de enzimas digestivas em frangos de corte. **Poultry Science, Champaign**, v.83, p. 1544-1550, 2004.

PUCCI, L.E.A.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F.; BERTECHINI, A.G.; CARVALHO, E.M. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32,n.4, p.909-917, 2003.

RODRIGUES, P.B.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; GOMES, P.C.; BARBOZA, W.A.; TOLEDO, R.S. Desempenho de frangos de corte, digestibilidade dos nutrientes e valores de energia de dietas formuladas com diferentes milhos, suplementadas com enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.1, p.171-182, 2003.

RUTZ, F. Proteínas: Digestão e Absorção – In: **Fisiologia Aviária Aplicada à Frangos de Corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p. 135-140, 2002.

SANTOS JÚNIOR, A.A.; FERKET, P.R. fatores que afetam a saúde intestinal e a colonização por patógenos. In: **Conferência apinco de ciência e tecnologia avícolas**, Santos, 2007. Anais... Campinas: FACTA, 2007. P.143-160.

SOTO-SALANOVA, M.F. Uso de enzimas em dietas de milho e soja para frangos de corte. In: **Conferência apinco de ciência e tecnologia avícolas**, 1996, Curitiba. Anais... Curitiba: FACTA, 1996. P.71-76.

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

ZANELLA, I. et al. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybean. **Poultry Science, Champaign**, v. 78, n. 4, p. 561-568, Apr. 1999.

ZANELLA, I. Suplementação enzimática em dietas avícolas. IN: **pré-simpósio de nutrição animal**, 2001, Santa Maria. Anais... Santa Maria, RS: UFSM, 2001. P.37-49.

## **CAPÍTULO II - EFEITO DE NÍVEIS DE PROTEASE SOBRE O DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE**

### **RESUMO**

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes níveis de inclusão de protease na dieta de frangos de corte sobre o desempenho destes animais durante 40 dias. Ainda se avaliou a cama de frango acerca dos elementos químicos excretados pelas aves. No experimento foram utilizados 480 pintos machos Cobb distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e oito repetições de doze aves cada. Os tratamentos consistiram de dieta farelada com inclusão de protease (0, 50, 100, 150 e 200 ppm) na ração. As aves alimentadas com maior inclusão de protease apresentaram melhor conversão alimentar (CA). Entretanto o ganho de peso (GP) das aves diminuiu com o aumento da inclusão da protease na dieta, assim como o consumo desta ração (CR). Para avaliação da cama de frango, foram coletadas cinco amostras de cama dos respectivos tratamentos e encaminhados para análise química (proteína bruta, cálcio, fósforo, sódio, potássio, boro, cobre, manganês, ferro, zinco e matéria seca). Os resultados obtidos com a análises dos minerais mostram que os macrominerais houve uma melhora na digestibilidade do fósforo e cálcio. Nos microminerais, os resultados foram muito vagos, a interpretação é de que os minerais são facilmente complexados no trato gastrointestinal entre eles, o que acarreta uma maior excreção desses minerais na cama independente da inclusão de protease.

**Palavras-chave:** aves, desempenho, protease, análise química

## **EFFECT OF PROTEASE LEVELS ON BROILER PERFORMANCE, FEATURES OF CHICKEN BED**

### **ABSTRACT**

This study was carried out with the objective of evaluating the effect of different levels of protease inclusion in the broilers diet on the performance of these animals during 40 days. The chicken litter was still evaluated for the chemical elements excreted by the birds. In the first experiment were used 480 male Cobb chicks distributed in a completely randomized design with five treatments and eight replicates of twelve birds each. The treatments consisted of a lean diet with protease inclusion (0, 50, 100, 150 and 200 ppm) in the diet. Birds fed higher protease inclusion had better feed conversion (CA). However, the weight gain (GP) of the birds decreased with the increase of the protease inclusion in the diet, as well as the consumption of this ration (CR). For the evaluation of the chicken bed, five bed samples of the respective treatments were collected and submitted to chemical analysis (crude protein, calcium, phosphorus, sodium, potassium, boron, copper, manganese, iron, zinc and dry matter). The results obtained with the analysis of the minerals show that the macrominerals showed an improvement in the phosphorus and calcium digestibility. In the microminerals, the results were very vague, the interpretation is that the minerals are easily complexed in the gastrointestinal tract between them, which entails a greater excretion of these minerals in the bed independent of the inclusion of protease.

**Keywords:** birds, performance, protease, chemical analysis

## 1. INTRODUÇÃO

Avanços tecnológicos e científicos ocorreram nas últimas décadas na avicultura, tornando-a mundialmente um dos segmentos mais desenvolvidos da agropecuária. Estes avanços na produção avícola trazem consigo a integração do melhoramento genético, nutrição, sanidade e manejo. Na área da nutrição, muitas pesquisas têm sido realizadas na busca de alternativas que possibilitem a formulação de rações mais eficientes e econômicas, visto que as rações para aves de corte representam em média 75% dos custos de produção.

As dietas de frangos de corte no Brasil são compostas principalmente de milho e farelo de soja. Porém esses ingredientes possuem alguns componentes como os polissacarídeos não amiláceos que podem prejudicar ou dificultar a digestão de suas proteínas, comprometendo a liberação de nutrientes no trato gastrointestinal, bem como a sua integridade.

As enzimas exógenas aumentam a digestibilidade e a eficiência dos alimentos, reduzindo a ação de inibidores de crescimento, sobretudo os polissacarídeos não-amiláceos, componentes da parede celular dos cereais, auxiliando as enzimas endógenas nos processos digestivos. A soja é uma das matérias-primas que mais contribui com o aporte proteico em dietas avícolas, mesmo contendo quantidades elevadas de substâncias pépticas na estrutura de sua parede celular (SILVA et al., 2000).

No Brasil, as rações são formuladas quase que exclusivamente (cerca de 90%) a base de ingredientes de origem vegetal que, em sua maioria, possuem compostos antinutricionais para os animais de produção, os quais, não produzem em seu sistema digestório, enzimas capazes de digerir esses compostos, o que traz a necessidade da suplementação com enzimas exógenas (NRC, 1994; ROSTAGNO et al., 2005).

O desenvolvimento da biotecnologia, voltada para a nutrição animal, promove o lançamento de produtos que proporcionam melhores índices de produtividade e eficiência alimentar para monogástricos (Barbosa et al., 2008). Por esse motivo, o uso de enzimas exógenas tem sido considerado como alternativa para diminuir os custos de produção. Tal diminuição nos custos provocada pelo uso das enzimas pode estar relacionada à melhor eficiência de utilização de alimentos tradicionais (Peixoto e Maier 1993); e por viabilizar o uso de matérias primas alternativas (Guenter, 1997).

A adição de proteases exógenas pode representar um potencial desejável em suplementar a atividade proteolítica em animais jovens, liberando peptídeos menores e facilitando a ação das enzimas endógenas. Além de auxiliar na inativação de fatores proteínicos anti-nutritivos, derivados de encapsulamento e retrogradação do amido, geralmente atribuídos a temperatura de secagem e processos de térmicos (peletização e expansão) podem ainda degradar proteínas como zeína e kafirina (DARI, 2006). Contribuindo de forma significativa para degradação da matriz que envolve o grânulo de amido, liberando-o para ação das enzimas endógenas.

Em função do exposto, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da inclusão de diferentes níveis de protease na dieta de frangos de corte, sobre o desempenho zootécnico (consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar). Ainda, objetivou-se avaliar a qualidade da cama de frango.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local**

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Centro Estações Experimentais da Universidade Federal do Paraná, Fazenda Canguiri, no município de Pinhais – PR.

### **2.2 Animais e alojamento**

Foram utilizados 480 pintos de corte da linhagem *COBB 500*, no período de 1 a 40 dias de idade. As aves foram vacinadas no incubatório contra Bouda Aviária, Marek, Gumboro e Bronquite Infecciosa.

### **2.3 Instalações**

As aves foram alojadas em boxes (parcelas), com dimensões de 1,00 x 1,20 x 2,10m (l x c x h). Todas as parcelas eram equipadas com bebedouros pendulares e comedouros tubulares. Realizou-se o aquecimento por meio de resistências de 200 watts. Termômetros de máxima e mínima foram utilizados para verificar a temperatura.



## 2.4 Manejo

As aves receberam água e ração *ad libitum* e 24 horas de luz artificial durante os primeiros 14 dias de experimento. Diariamente, realizou-se a verificação da temperatura, fornecimento de ração, limpeza e abastecimento dos bebedouros. O galpão onde as aves foram criadas alcançou uma temperatura média de 27,4°C durante os 40 dias de idade. As aves eram inspecionadas removendo-se as mortas e anotando-se a data e peso corporal para posterior cálculo de mortalidade.

## 2.5 Dietas experimentais

A composição da dieta pode ser observada na Tabela 2. As dietas foram fabricadas em fábrica de rações do Centro de Estações Experimentais da UFPR. Foi fornecida dieta na forma farelada (de acordo com o tratamento) durante todo o período experimental.

As dietas experimentais foram formuladas de acordo com recomendações de Rostagno et al. (2011), em todos os tratamentos havia a mesma inclusão de fitase, quanto a protease um tratamento controle, sem protease e os demais sendo adicionado gradativamente a enzima protease. As dietas respeitaram 3 períodos de crescimento das aves durante o experimento, divididas em inicial, crescimento e final.

Tabela 2. Composição alimentar e nutricional das dietas experimentais.

Ingrediente (Kg)	Inicial	Crescimento	Final
Milho	69,80	131,16	223,47
Farelo de soja	46,13	74,05	104,54
Óleo de soja	2,121	3,440	8,417
Fosfato bicálcico	1,740	3,189	3,410
Calcário	1,172	2,639	4,465
Sal comum	0,460	0,946	1,442
Lisina	0,122	0,066	0,028
Metionina	0,262	0,510	0,615
Treonina	0,055	0,044	0,119
Premix vitamínico*	0,200	0,434	0,703
Premix mineral**	0,063	0,11	0,175
Níveis Nutricionais	Inicial	Crescimento	Final
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3050	3150	3250
Proteína bruta (%)	22,0	20,5	18,0
Cálcio (%)	0,95	0,90	0,80
Fósforo Disponível (%)	0,74	0,65	0,55
Sódio (%)	0,20	0,19	0,18
Cloro (%)	0,34	0,32	0,36
Lisina digestível (%)	1,17	1,20	1,30
Metionina digestível (%)	0,58	0,54	0,60
Metionina + Cistina (%)	0,88	0,83	0,97
Treonina disgestível (%)	0,79	0,74	0,79

\*Suplementação por kg de ração: vit. A, 15000UI; vit. D3, 5000 UI; vit. E, 100mg; vit. K, 5mg; ácido fólico, 3mg; ácido nicotínico, 75mg; ácido pantotênico, 25mg; riboflavina, 8mg; tiamina, 5mg; piridoxina, 7mg; biotina, 300qg; colina, 400mg; vit. B12, 20qg.

\*\*Concentração por kg de ração: iodo, 2mg; selênio, 200qg; cobre, 20mg; ferro, 50mg; manganês, 120mg; zinco, 100mg.

## 2.6 Variáveis analisadas

Durante o experimento, as aves e ração foram pesadas aos 7, 21, 35 e 40 dias de idade, para determinar o consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA).

A coleta da cama de frango, procedeu durante a realização do experimento.

A matéria-prima da cama de frango utilizada foi cepilho de madeira, foi espalhado de forma a ficar homogênea sob todas as parcelas de cada repetição. Durante o experimento, não houve troca da cama de frango em nenhuma das repetições, ela manteve-se até o final do experimento, onde foi coletada.

A maravalha utilizado como cama para os animais durante o experimento foi coletada para análise laboratorial.

A cama de frango foi revolvida durante os respectivos dias 21, 35 e 40 de experimento. O revolvimento foi feito com pás de mão e enxadas, a fim de evitar a compactação do material. Ao final do experimento o material foi revolvido novamente em cada uma das repetições e posteriormente foram coletados 300g de material de cada repetição, esse material foi colocado em um balde plástico de 20 litros homogeneizado e retirado uma alíquota de aproximadamente 2000g que representava o determinado tratamento, essa alíquota foi inserida em sacos plástico, vedados e colocados em uma caixa de isopor.

As amostras de cada tratamento foram encaminhadas para laboratório de nutrição e análises químicas, e da Fundação ABC. A metodologia utilizada foi através soluções extratoras ácidas, Mehlich-1 (HCl 0,05 mol/L e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,0125 mol/L). Manual (2009) e Abreu Júnior (2009) listam a extração com solução Mehlich-1 como extratora de fósforo, potássio, sódio e micronutrientes baseada na solubilização desses elementos pelo efeito de pH, entre 2 e 3, sendo o papel do cloro o de restringir o processo de readsorção dos fosfatos recém extraídos.

Os parâmetros analisados nas amostras respeitaram seus respectivos tratamentos (cama seca, P0, P50, P100, P150, P200), e estão assim avaliados: Umidade, Matéria seca, Proteína bruta, Resíduo mineral, Cálcio, Fósforo, Sódio, Potássio, Boro, Cobre, Manganês, Ferro e Zinco.

## **2.7 Delineamento e tratamentos**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e oito repetições de doze aves cada. Os tratamentos experimentais foram: 1 - ração controle (P0); 2 - ração com inclusão de 50ppm protease (P50); 3 - ração com inclusão de 100ppm protease (P100); 4 - ração com inclusão de 150ppm protease (P150); 5 - ração com inclusão de 200ppm protease (P200).

## **2.8 Análise estatística**

Os dados foram analisados pelo programa estatístico *Statistix 8*, versão 8.0

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, variáveis dependentes e análise de regressão de dados ( $P < 0,05$ ). Para os tratamentos que são dependentes (ração com doses de protease 0, 50, 100, 150 e 200ppm) realizou-se análise de regressão.

### 3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Durante o período experimental, constatou-se elevada amplitude térmica no interior do galpão experimental, indicada pelas temperaturas mínimas e máximas registradas na (Tabela 3) em cada fase. A umidade relativa apresentou pequena variação no mesmo período, ficando dentro do intervalo recomendado por Abreu (2001).

Tabela 3. Temperatura máxima e mínima, umidade relativa do ar, durante o período experimental.

Idade (dias)	Temperatura (°C)			UR (%)
	Mínima	Máxima	Média	
1 a 21	22,3	35,3	28,8	70,1
22 a 35	20,5	30,6	25,5	65,3
36 a 40	21,2	34,5	27,9	62,1

Faria Filho (2006) descreve que aves em situação de estresse por calor têm como efeito direto a redução na produtividade, além de menor consumo de ração e aumento da mortalidade. No experimento percebeu-se uma redução no consumo de ração, o que acarretou em um decréscimo no ganho de peso das aves, entretanto mesmo as temperaturas tendo índices elevados para a linhagem, isso não foi significativo para o desempenho das aves.

Diversos fatores ambientais afetam diretamente o desempenho das aves. Dentre eles, os térmicos, representados principalmente, pela temperatura, pela umidade relativa do ar e pela velocidade do vento. Estes são os fatores que mais afetam as aves, pois comprometem a manutenção de sua homeotermia (OLIVEIRA et al., 2008), além de reduzir a digestibilidade dos nutrientes da ração (OLIVEIRA et al., 2008; LAGANÁ, 2009).

#### 3.1 Índices zootécnicos

Os valores médios dos parâmetros de desempenho zootécnico das aves obtidos de 1 a 40 dias de idade são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Desempenho de frangos de corte de 1 a 40 dias de idade alimentados com dietas de desempenho superior com inclusão crescente de enzima protease.

Dietas (protease)	Consumo de ração (g)	Ganho de peso (g)	Conversão alimentar (g/g)
P0	4039	2725	1,481
P50	3991	2723	1,467
P100	4018	2709	1,483
P150	4019	2750	1,463
P200	3945	2733	1,444
Probabilidade	0,6769	0,8705	0,3041
CV (%)	3,38	2,8	2,72

CV= Coeficiente de variação

### 3.1.1 Consumo de ração

Independente da inclusão de enzima não houve efeito significativo sobre o consumo de ração das aves ( $P < 0,05$ ), em comparação aos animais que não receberam a enzima (Tabela 4).

### 3.1.2 Ganho de peso

Os resultados obtidos com a inclusão da enzima protease na dieta dos animais não foram significativas ( $P < 0,05$ ), o ganho de peso entre os tratamentos teve uma pequena variação, a inclusão crescente de protease na dieta dos animais, não aprimorou o aproveitamento dos nutrientes.

Sendo as dietas brasileiras, ricas em farelo de soja como substrato proteico, e que muitas vezes não sofrem um tratamento térmico adequado, as suas proteínas ainda são passíveis de digestibilidade, fazendo com que seja primordial o uso de uma protease exógena.

Na avaliação do ganho de peso das aves com a inclusão crescente de protease na dieta, houve um leve aumento no ganho de peso, não formando um padrão de crescente linear no ganho de peso com crescentes níveis de protease. (Figura 1).

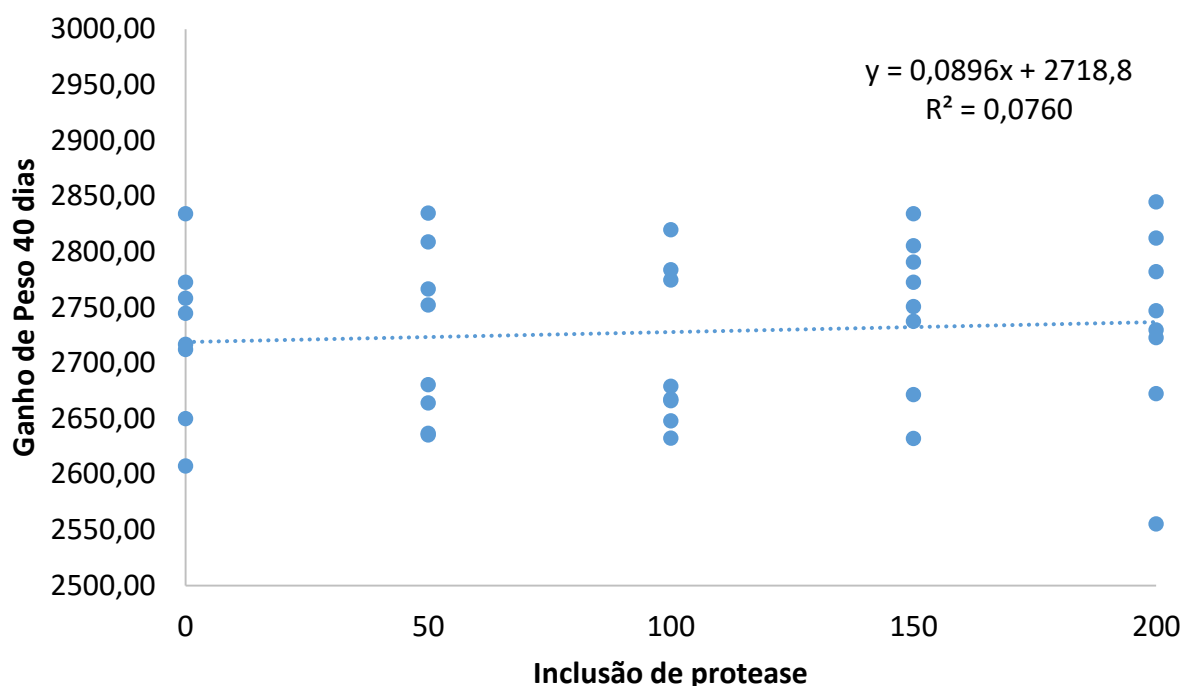


Figura 1. Ganho de peso de frangos de corte de 1 a 40 dias de idade alimentados com inclusão crescente de protease na dieta.

Quanto ao ganho de peso das aves, verificou-se leve aumento do peso dos animais, trabalhos como o de Maiorka et al. (2011) onde não verificaram diferenças significativas no peso corporal entre aves que não receberam protease nas dietas, e frangos de corte alimentados com a enzima. As aves alimentados com valores crescentes de protease na dieta estatisticamente consumiram menos ração consequentemente ganharam menos peso corporal, em relação as aves com dietas apenas com a enzima fitase.

O estresse calórico que as aves passaram durante o período do experimento, pode ter influenciado o consumo de ração dos animais, uma vez que as amplitudes térmicas se destacaram, o que pode ter gerado desconforto e por consequência o menor consumo de ração, este consumo não foi decrescente para todos os tratamentos, em alguns o consumo foi maior e em outro menor, independentemente da concentração de protease no tratamento.

### 3.1.3 Conversão alimentar

Não houve efeito da adição de enzima sobre a conversão alimentar ( $P < 0,05$ ), frangos que receberam as dietas sem enzima apresentaram resultados semelhantes quando comparados com aves alimentadas com enzima (Tabela 4). Da mesma forma, Schang et al. (1997) não observaram diferença significativa para CA em rações à base de milho e farelo de soja com e sem utilização de complexo enzimático.

Entretanto, o que se observou foi que com a maior inclusão de enzima na dieta há uma melhora na conversão alimentar em relação a todos os demais tratamentos, principalmente sobre o que não recebeu a enzima protease na dieta. Todavia essa conversão alimentar melhorada é um resultado não favorável cientificamente pois, uma vez que a melhora da conversão alimentar se deu ao custo de um menor ganho de peso. (Tabela 4).

Nas condições em que este experimento foi realizado, se verificou efeito principal do fator protease sobre a conversão alimentar, que discordam de Angel et al. (2011), onde os efeitos de proteases exógenas adicionadas às dietas de frangos de corte sobre o desempenho zootécnico são geralmente inconsistentes. As diferenças entre o tipo de protease testada, dos diferentes delineamentos experimentais, das amplitudes térmicas registradas durante o experimento, e principalmente da qualidade das matérias-primas utilizadas para a formulação das dietas, e a utilização do complexo enzimático fitase-protease ao invés do emprego de enzimas isoladas, podem explicar parcialmente os resultados conflitantes e variáveis relatados por trabalhos anteriores (MCNAB et al., 1996; MARSMAN et al., 1997; ZANELLA et al., 1999; GHAZI et al., 2002; PINHEIRO et al., 2004; OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2007; WALK et al., 2011).

Os melhores índices de conversão alimentar de frangos de corte no período de 1 a 40 dias de idade, alimentados com ração de alto desempenho, sem redução de proteína e aminoácidos, podem ser explicados pela maior quantidade de proteína e aminoácidos disponíveis nestas dietas para absorção, refletindo em maior deposição destes nutrientes no organismo animal.

Na avaliação dos diferentes níveis de inclusão de protease na dieta de frangos de corte (Tabela 4), verificou-se efeito linear ( $P < 0,05$ ) para conversão alimentar de frangos de corte no período total (figura 2).

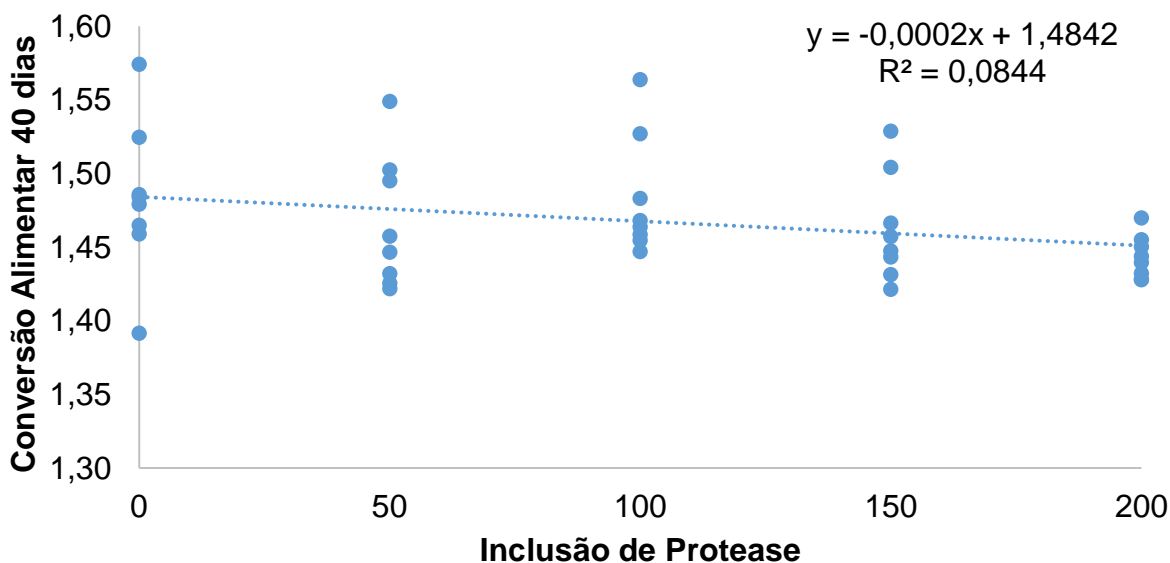


Figura 2. Conversão alimentar de frangos de corte de 1 a 40 dias de idade alimentados com inclusão crescente de protease na dieta.

Em trabalhos realizados por Favero et al. (2009) verificou que a suplementação de protease melhorou o desempenho de frangos de corte criados até 42 dias de idade, com melhora significativa sobre a conversão alimentar.

Bertechini et al. (2009), realizando estudos com protease suplementada em rações para frangos de corte observaram melhorias na conversão alimentar, e principalmente, na digestibilidade da proteína bruta e aminoácidos.

### 3.2 Cama de frango

Dentre os resíduos produzidos pela avicultura de corte está a cama de aviário. A cama é constituída das excretas das aves, material absorvente (maravalha), penas, restos de alimento e secreções. Para o correto manejo deste resíduo é necessário que se conheça sua composição, o ideal é a realização de uma análise de cama para que o manejo seja feito com a maior precisão.

Entre os principais componentes poluentes presentes nos dejetos avícolas estão o nitrogênio (N) e o fósforo (P). O fósforo em excesso fica acumulado no solo e só é dissolvido na água dos rios à medida que a capacidade de absorção de P pelas partículas do solo se torna saturada e com a ocorrência de chuvas este elemento é lixiviado. O problema do nitrogênio no solo é sua transformação em nitrato. Também



foi verificada uma correlação positiva entre a concentração de nitrato e nitrito nos rios e o nível de aplicação de nitrogênio no solo (fertilizantes e dejetos) (LEE & COULTER, 1990).

As aves não alcançam o desempenho máximo permitido pelo potencial genético em um meio desfavorável. O ambiente no qual as aves são criadas representa uma interação de variáveis Interdependentes, como por exemplo, a qualidade do ar, temperatura, umidade, ventilação, número de aves por metro quadrado, etc. A qualidade do ar é influenciada pelas condições da cama e está pelo tipo de material utilizado, que, juntamente com o grau de umidade e temperatura irão determinar os níveis de amônia presentes no meio. Além desses fatores inerentes ao ambiente interno, existem influências externas, como a própria temperatura ambiente, a época do ano e a localização da instalação.

A maravalha utilizado como “cama” para os animais durante o experimento foi coletada para análise laboratorial. Esta coleta ocorreu antes do início do experimento e os parâmetros avaliados estão descritos na tabela 5.

Tabela 5. Resultado da análise química da maravalha antes das aves serem alojadas.

Parâmetros (%)	Composição química (em base MS)
Matéria seca	100
Proteína bruta	8,18
Resíduo Mineral	0,68
Cálcio	0,28
Fósforo	0,06
Potássio	0,05
Sódio	0,02

Os valores apresentados (Tabela 5), demonstram concentrações normais de resíduos minerais. Segundo Andriguetto et al. (1983), níveis de proteína bruta em maravalha, encontram-se próximas a 7,0%, neste caso a maravalha analisada registrou níveis normais de proteína bruta. Esse material após ter sido utilizado como forração para o piso, onde as aves pisoteiam, passa por um período de descanso, um processo de fermentação, e depois pode ser utilizado para adubação de grandes culturas agrícolas, ou mesmo pode ser utilizado na nutrição de bovinos como aporte de nitrogênio a um menor custo para essa cadeia produtiva.

### 3.2.1 Análise dos elementos

As análises químicas dos 5 tratamentos do experimento estão na (Tabela 6), em todas as análises das camas em que os animais utilizaram como substrato, vários fatores demonstraram a importância que as enzimas tem na dieta de frangos de corte podem trazer para uma melhor digestibilidade, aproveitamento e menor excreção de elementos químicos na cama de frango, fator de grande impacto principalmente no que tange aos índices de impacto ambiental e mesmo nos índices zootécnicos de desempenho dos animais, como forma de melhorar tanto os dados de proteína ideal, como o de aproveitamento de todos os ingredientes da formulação.

Na (Tabela 6), encontram-se dados da análise química dos tratamentos que foram avaliados durante o experimento, sendo que o P0 continha em sua formulação apenas fitase, e nos demais tratamentos o complexo enzimático fitase-protease. A fitase foi a enzima objeto de estudo na avaliação dos laudos das análises químicas dos elementos, uma vez que ela é responsável pela degradação do ácido fítico que libera minerais e outros nutrientes contidos nos alimentos de origem vegetal, por meio da hidrólise e da ruptura das paredes celulares das sementes. Além disso, essa enzima reduz a viscosidade da digesta no trato gastrointestinal, aumentando a digestibilidade total da ração, melhorando o metabolismo dos nutrientes.

Tabela 6. Análise química dos elementos

Parâmetro	Unidade	Matéria seca				
		P0	P50	P100	P150	P200
Umidade	%	87,16	86,94	85,73	85,68	86,44
Matéria seca	%	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Resíduo mineral	%	12,84	13,06	14,27	14,32	13,56
Cálcio	%	1,45	1,40	1,59	1,57	1,52
Fósforo	%	0,73	0,75	0,84	0,82	0,79
Potássio	%	3,09	3,00	3,16	3,32	3,17
Sódio	%	0,50	0,54	0,58	0,61	0,59

A molécula de fitato possui estruturas altamente ionizáveis, que afetam a disponibilidade de cátions como cálcio, zinco, cobre, magnésio e ferro no trato gastrointestinal, formando complexos insolúveis. As análises nos dão parâmetros que analisados e comparados à trabalhos publicados mostrou que a inclusão de fitase na

dieta de frangos resultou em uma melhora da digestibilidade do fósforo e do cálcio, o que acabou por reduzindo os índices de excretas desses minerais na cama de frango.

Quanto ao sódio não houve diferença na retenção de sódio, entre tratamentos. No entanto, trabalhos anteriores demonstram que há interação entre a utilização de fitase e a exigência de sódio e que sob condições de fornecimento de dietas deficientes em sódio, os frangos apresentam preferência por dietas que contém fitase (Krabbe et al., 2012)

O potássio manteve os índices entre os tratamentos, fato que este pode estar relacionados aos níveis de proteína bruta da dieta, estudos mostram que em dietas com redução de proteína bruta os níveis de excreção de potássio foram menores, o que gerou um melhor aproveitamento deste elemento, caso que não ocorreu no experimento, uma vez que os índices de proteína bruta não foram variáveis para as formulações.

A molécula de fitato, além do fósforo, contém em sua constituição outros microelementos, como zinco, cobre, ferro e manganês. Em virtude dessa complexação, esses minerais, indispensáveis para os animais monogástricos, não podem ser disponibilizados sem o uso de enzimas exógenas para hidrolisar o complexo.

Os resultados da laboratoriais com elementos mais sensíveis a uma análise, como é o caso do Boro, Cobre, Manganês, Ferro e Zinco estão de encontro com dados de Sebastian et al. (1996), utilizando dietas normais, suplementadas com fitase, encontraram efeito significativo da fitase na taxa de retenção de cobre e zinco, além de melhorar o aproveitamento de outros minerais como manganês e ferro. Segundo estes mesmos autores, a fitase quebra o complexo fitato-mineral e libera minerais para absorção, o que reduz sua excreção e aumenta sua digestibilidade. Na (Tabela 7) encontram-se os dados do relatório de ensaio realizado para esses elementos da cama de frango.

Tabela 7. Análise química dos elementos

Parâmetro	Unidade	Matéria seca				
		P0	P50	P100	P150	P200
Boro	mg/kg	72,28	64,64	71,13	64,69	62,62
Cobre	mg/kg	80,95	68,92	75,12	71,38	69,43
Manganês	mg/kg	343,04	316,23	349,63	345,54	333,61
Ferro	mg/kg	936,07	881,6	798,63	792,2	827,27
Zinco	mg/kg	350,76	321,66	378,83	337,99	336,74
Matéria seca	%	59,89	61,05	56,63	58,43	60,32

Esses elementos, são muito instáveis, principalmente quando em contato com o pH do sistema gastrointestinal, à medida que o bolo alimentar avança, ocorre o aumento do pH, o ácido fólico então se complexa com minerais, e enzimas específicas, precipitando este complexo na solução aquosa do bolo alimentar, o que acaba não disponibilizando nutrientes ao animal.

Esses microminerais, interagem entre si, numa relação que pode ser positiva, quando há um equilíbrio entre eles, ou negativa, havendo um desequilíbrio de concentrações.

O que se avaliou dos dados obtidos é que existe uma interação negativa entre cobre e ferro, uma vez que há um desequilíbrio muito acentuado entre eles, a elevada concentração de ferro, acarreta uma interação negativa, indisponibilizando cobre. O manganês é outro elemento que está intimamente dependente do pH do meio para que seja prontamente absorvido pelo animal, pH elevado no lúmen intestinal, acabam por fazer com que o manganês seja excretado em grandes quantidades, o que ocorreu neste caso.

#### **4. CONCLUSÃO**

Os resultados evidenciam que a inclusão de protease é um ingrediente essencial na dieta de frangos de corte de 1 a 40 dias de idade, pois dietas com protease proporcionam uma melhor conversão alimentar (CA). Em contrapartida o ganho de peso (GP) das aves ao longo do experimento foi aumentado em relação aos tratamentos com menor inclusão de protease, o que nos evidencia que a proteases ajudou a melhorar o aproveitamento dos ingredientes da dieta, entretanto esse ganho não foi estatístico o que de certa não era o esperado. Nesse aspecto, os resultados laboratoriais da cama de frango mostraram-se positivos com o uso de enzimas na ração dos animais, uma vez que as excreções de elementos químicos diminuem, e esse efeito implica diretamente em uma melhor eficiência nutritiva para os animais e menores índices de danos ao meio ambiente proporcionado pelos elementos excretados na cama de frango.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARSCOTT, G. H.; ROSE, R. J. Use of barley in high efficiency broiler rations and influence of amylolytic enzymes on efficiency of utilization, water consumption and litter condition. **Poultry Science**, Ithaca, v. 38, p. 93-95, 1959

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

FARIA FILHO D. E.; ROSA P. S.; FIGUEIREDO, D. F. DAHLKE, F.; MACARI, M.; FURLAN, R. L. Dietas de baixa proteína no desempenho de frangos criados em diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.1, p.101-106, jan. 2006.

FAVERO, A.; et. al. Efeito do Uso de Protease na Ração Sobre o Desempenho de Frangos de Corte. In: **Conferência apinco de ciência e tecnologia avícola**, 27. 2009, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: PRÊMIO LAMAS, 2009.

FISCHER DA SILVA, A. V.; FLEMMING, J. S.; BORGES, S. A. Fontes de sódio e relação sódio:cloro para frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, n.1, p.53-58, 2000.

LAURENTIZ, A.C. Manejo nutricional das dietas de frangos de corte na tentativa de reduzi a excreção de alguns minerais de importância ambiental. **Tese Doutorado em Zootecnia**. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal , 2005.

LEE, J.; COULTER, B. A macro view of animal manure production in the European Community and implications for environment. In: **Manure and environment**. Anais. 1990

LELIS, G.R.; ALBINO, L.F.T.; BORSATTO, C.G. et al. Efeito da suplementação de fitase no metabolismo dos nutrientes em rações de frangos de corte. In: **Conferencia apinco de ciencia e tecnologia avicolas**, 2007, Santos. Anais... Santos: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2007

MAIORKA, A.; et al. Broiler chicken performance and ileal digestibility is improved by a protease used in corn/soybean meal/meat bone meal diet. In: **International poultry scientific forum**, Atlanta. Proceedings: Nutrition IV, n.102, 2009.

MCNAB, J. M. Effect of enzyme supplementation to improve the nutritive and value of triticales in Poultry diets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 39, n. 3, p. 237-243, 1994.

MOUCHREK, E. Manejo de cama: materiais alternativos. In: **Curso manejo de frangos de corte**, Campinas, 1996. Livro texto... Campinas: FACTA, 1996. p. 47-67.

NRC – NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requeriment of poultry. 9ed. Washingt: **National Academy of Science**, 1994. 156p.

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

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

PERNEY, K. M.; CANTOR, A. H.; STRAW, M. L. The effect of dietary phytase on growth performance and phosphorus utilization of broiler chicks. **Poultry Science, London**, v. 72, n. 11, p. 2106-2114, 1993.

PUCCI, L. E. A.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. F. Níveis de óleo e adição de complexo enzimático na ração de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.4, p.909-917, 2003.

ROSTAGNO, H.S.Composição de alimentos e exigências nutricionais. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos**. Viçosa: UFV, 2005. 114p.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R.; LAGUE, P. C. The effects of supplemental microbial phytase on the performance and use of dietary calcium, phosphorus, copper, and zinc in broiler chickens fed corn-soybean diets. **Poultry Science**. 75:729–736. 1996

SOUZA, G.A; Farelo de Arroz integral como fonte de P em rações para frangos de corte. Porto Alegre, 1992, 148p. **Tese Doutorado em zootecnia** - Curso de pós-graduação em Zootecnia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## 6. REFERÊNCIAS GERAIS

AAFCO, 2006. **Official publication AAFCO**, ISBN 1-878341-18-9, 457 p.

ANGEL, R., TAMIM, N. M., APPLGATE, T. J., DHANDU, A. S., ELLESTAD, L. E. Química do ácido fítico: Influência na disponibilidade de fito-fósforo e na eficácia da fitase. **Journal Applied of Poultry Research**, 11, 471-480. 2011.

ARGENZIO, R.A. Funções Secretórias do Trato Gastrointestinal. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. Dukes: **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.319-329. 1993.

BARLETTA, A. Introduction: Current market and expected developments. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm animal nutrition**. 2nd. London: Cab International, 2010. cap. 1, p.1-11.

BERTECHINI, A. G.; BRITO, J. A. G. Utilização correta de enzimas em rações de aves. In: **Fórum internacional de avicultura**, 2007, Curitiba. Anais... Curitiba: Animal World, 2009.

BRITO, M. S., FRANKLIN, C., OLIVEIRA, S., ROCHA, T. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos - **Revisão. Acta Veterinária Brasilica**, 2(4), 111-117. 2011.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. **Bioquímica Ilustrada**. 2.ed. Porto Alegre: Artes Místicas Sul, 1996. 446p.

CHAMPE, PAMELA C., RICHARD A. HARVEY, AND DENISE R. FERRIER. **Bioquímica ilustrada**. Editora Artmed, 2006.

CLEOFHAS, G.M.L; VAN HARTINGSVELDT, W.; SOMER, W.A.C. Enzyme can play an important role in poultry nutrition. **World Poultry Science, Cambridge**, v. 11,p. 12-15, 1995.

COUSINS, B. Enzymes in bird nutrition. In: **I Symposium international acav - embrapa sobre nutrição de aves**. 1999, Concórdia, SC. Anais... Concórdia: EMBRAPA/CNPISA, 1999. P.118-132.

COWIESON, A. J., RAVINDRAN, V. Effect of exogenous enzymes in maize-based diets varying in nutrient density for young broilers: growth performance and digestibility of energy, minerals and amino acids. **British Poultry Science**, 49(1), 37-44. 2008.

FAVERO, A. et al. Effect of protease enzyme on performance and ileal digestibility of broilers grown to 42 days of age in floor pens. IN: **International poultry scientific forum**, 2009, Atlanta. Abstracts... Atlanta: Poultry Science, 2009. P. 9.

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



GUENTER, W. Practical experience with the use of enzymes. Capturado em 19 de agosto de 2016. Disponível em: <http://www.idrc.ca/books/focus/821/chp6.html>.

HORTON, H.R.; MORAN, L.A.; RAWN, J.D. Properties of enzymes. In: **Principles of Biochemistry**. 2ed. River: Prentice-Hall Inc. 1996. P.119-146.

ISAKSEN, M.F.; COIESON, A.J.; KRAGH, K.M. Starch-and protein degrading enzymes: biochemistry, enzymology and characteristics relevant to animal feed use. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIGDE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition**. 2 nd. London: Cab International, 2010. cap. 4, p.85-94.

LECZNIESKI, J. L. Considerações práticas do uso de enzimas. In: **Seminário internacional de aves e suínos**, 5., 2006, Florianópolis. Anais... Florianópolis: AveSui, 2005.

LEMME, A.; RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W. L. Ileal digestibility of amino acids in feed ingredients for broilers. **World's Poultry Science Journal, Ithaca**, v. 60, p. 423-437, 2004.

LIMA, M.R.; SILVA, J.H.V.; ARAÚJO, J.A.; LIMA, C.B.; OLIVEIRA, E.R.A. Enzimas exógenas na alimentação de aves. **Acta Veterinária Brasileira**, Mossoró v.1, n.4, p.99-110, 2007.

MCDONALD, P.; EDWARDS, R. A.; GREENHALGH, J. F. D. **Animal nutrition**. 4. Ed. New York: Longman Scientific & Technical, 1990.

MENEGHETTI, C. et al. Altos níveis de fitase em rações para frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, n. 3, p. 624-632, 2011.

MOREIRA, I.; SCAPINELLO, C.; SAKAMOTO, M. U. Fisiologia da digestão e absorção de proteínas em aves. **Curso de fisiologia da digestão e metabolismo dos nutrientes em aves**. Jaboticabal: UNESP, 2004.

NIR, I. Comparative growth and development of the digestive organs and some enzymes in the broiler chicks and egg type chicks after hatching. **British Poultry Science, Oxford**, v. 34, n. 3, p.523-532, 1993.

ODETALLAH, N. H. et al. Versazyme Supplementation of Broiler Diets Improves Market Growth Performance. **Poultry Science, Champaign**, v. 84, p. 858-864, 2005.

OLUKOSI, O. A.; COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Age-related influence of a cocktail of xylanase, amylase, and protease or phytase individually or in combination in broilers. **Poultry Science**, v. 86, n. 1, p. 77-86, jan. 2007.

PENZ JÚNIOR, A. M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: **Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia**, 35, 1998, Botucatu-SP. Anais... Botucatu. 1998. P.165-178.

PINHEIRO, D. F. et al. Efeito da restrição alimentar precoce e suplementação enzimática em atividades de enzimas digestivas em frangos de corte. **Poultry Science, Champaign**, v.83, p. 1544-1550, 2004.

PUCCI, L.E.A.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F.; BERTECHINI, A.G.; CARVALHO, E.M. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32,n.4, p.909-917, 2003.

RODRIGUES, P.B.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; GOMES, P.C.; BARBOZA, W.A.; TOLEDO, R.S. Desempenho de frangos de corte, digestibilidade dos nutrientes e valores de energia de dietas formuladas com diferentes milhos, suplementadas com enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.1, p.171-182, 2003.

RUTZ, F. Proteínas: Digestão e Absorção – In: **Fisiologia Aviária Aplicada à Frangos de Corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p. 135-140, 2002.

SANTOS JÚNIOR, A.A.; FERKET, P.R. fatores que afetam a saúde intestinal e a colonização por patógenos. In: **Conferência apinco de ciência e tecnologia avícolas**, Santos, 2007. Anais... Campinas: FACTA, 2007. P.143-160.

SOTO-SALANOVA, M.F. Uso de enzimas em dietas de milho e soja para frangos de corte. In: **Conferência apinco de ciência e tecnologia avícolas**, 1996, Curitiba. Anais... Curitiba: FACTA, 1996. P.71-76.

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

ZANELLA, I. et al. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybean. **Poultry Science, Champaign**, v. 78, n. 4, p. 561-568, Apr. 1999.

ZANELLA, I. Suplementação enzimática em dietas avícolas. IN: **pré-simpósio de nutrição animal**, 2001, Santa Maria. Anais... Santa Maria, RS: UFSM, 2001. P.37-49.