

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

VINÍCIUS GONSALES SCHRAMM



**INTERAÇÃO DE XILANASE E FITASE EM DIETAS A BASE DE MILHO E  
FARELO DE SOJA PARA FRANGOS DE CORTE**

CURITIBA

2014

VINÍCIUS GONSALES SCHRAMM

**INTERAÇÃO DE XILANASE E FITASE EM DIETAS A BASE DE MILHO E  
FARELO DE SOJA PARA FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Alex Maiorka

Coorientadora: Prof. Dra. Ananda Portella Félix

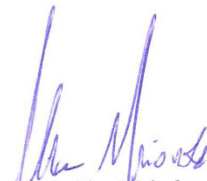
CURITIBA

2014

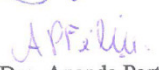
**PARECER****PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS****PARECER**

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada “**INTERAÇÃO DE XILANASE E FITASE EM DIETAS A BASE DE MILHO E FARELO DE SOJA PARA FRANGOS DE CORTE**” apresentada pelo Mestrando **VINÍCIUS GONSALES SCHRAMM** 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 A<sup>9</sup>TO para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 11 de fevereiro de 2014

  
Professor Dr. Alex Maiorka  
Presidente/Orientador

  
Dr. Everton Luis Krabbe  
Membro

  
Professora Dra. Ananda Portella Félix  
Membro

## COMITÊ DE ÉTICA

---



Universidade Federal do Paraná  
Setor de Ciências Agrárias  
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA

### CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo no. 035/2012, referente ao projeto "Utilização de amilase e xilanase em dietas para frangos de corte", sob a responsabilidade de Vinicius Gonsales Schramm, na forma em que foi apresentado (uso de 2934 frangos), foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 06 de fevereiro de 2013. -

### CERTIFICATE

We certify that the protocol number 035/2012, regarding the project "Utilização de amilase e xilanase em dietas para frangos de corte", under the charge of Vinicius Gonsales Schramm, in the terms it was presented (use of 2934 chicken), 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, Southern Brazil) during session on February 06, 2013.

Curitiba, 06 de fevereiro de 2013.



Patrick Schmidt  
Presidente



Rosangela Locatelli Dittrich  
Vice-Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais  
Setor de Ciências Agrárias  
Universidade Federal do Paraná.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Juliete e Wagner pelo amor e pelo incentivo

A minha namorada Fernanda pela compreensão e pelo amor

A minha irmã Carol pelo companheirismo e orgulho

Ao meu orientador Professor Dr. Alex Maiorka pelos conselhos não só nos assuntos acadêmicos, mas também para assuntos pessoais.

A minha co-orientadora Professora Ananda Portella Félix, por toda orientação e consideração.

Aos amigos Gus, Mineiro, Thiago, Mel, Stifler pela parceria e amizade.

A equipe do LEPNAN, Jean Durau, Marina, Lucas Barrili, Andréia Massuqueto, Gislaine Costa, Chayane da Rocha, Jean Natel, Lucas Barbosa, Vitor Zaveliski, Gabi, Geisiele, por toda ajuda e companheirismo tanto nos momentos suor quanto os de festas.

Ao pessoal do Laboratório de Nutrição Animal, Cleusa, Marcelo, Ruy, Hair e Aldo pela paciência e pela amizade.

**A todos o meu muito obrigado!**

## SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT .....	2
CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	3
1.1. INTRODUÇÃO .....	3
1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
1.2.1.Substratos para xilanase e fitases em dietas a base de milho e farelo de soja.....	5
1.2.1.1. Polissacarídeos não amiláceos .....	5
1.2.1.2. Fitato .....	7
1.2.2. Enzimas Exógenas.....	9
1.2.3. Atuação das carboidrases .....	10
1.2.4. Atuação das fitases .....	11
1.2.5. Digestibilidade .....	11
1.3. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	15
1.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	16
CAPÍTULO 2 –Interação de xilanase e fitase para frangos de corte na metabolizabilidade e digestibilidade de dietas e do milho. ....	23
2.1. RESUMO.....	23
2.2. INTRODUÇÃO .....	24
2.3. MATERIAL E MÉTODOS .....	26
2.3.1. EXPERIMENTO 1 – Digestibilidade e metabolizabilidade de dietas suplementadas com xilanase e fitase.....	26
2.3.1.1. Animais e local do experimento.....	26
2.3.1.2. Delineamento experimental e dietas .....	26
2.3.1.3. Ensaio de digestibilidade.....	29
2.3.1.4. Análises químicas.....	30
2.3.1.5. Análise estatística.....	30
2.3.2. EXPERIMENTO 2 – Digestibilidade e metabolizabilidade do milho suplementado com xilanase e fitase .....	31
2.3.2.1. Animais e local do experimento.....	31

2.3.2.2. Delineamento experimental e dietas .....	31
2.3.2.3. Ensaio de digestibilidade, Análises químicas e Análise estatística .....	33
2.4. RESULTADOS .....	34
2.4.1. EXPERIMENTO 1 – Digestibilidade e metabolizabilidade da dieta suplementado com xilanase e fitase .....	34
2.4.2. EXPERIMENTO 2 – Digestibilidade e metabolizabilidade do milho suplementado com xilanase e fitase .....	37
2.5. DISCUSSÃO .....	40
2.6. CONCLUSÃO .....	43
2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	44
CAPÍTULO 3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	49
3.1. DIGESTIBILIDADE DO MILHO .....	49
3.1.2. Escolha do método .....	49
3.1.2. Limitações da metodologia escolhida .....	50
3.2. ADITIVIDADE DAS ENZIMAS .....	51
3.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidade de polissacarídeos não amiláceos nos diferentes ingredientes na matéria seca (%) .....	7
Tabela 2. Percentagem de fósforo, fósforo fítico e fósforo disponível dos ingredientes vegetais utilizados em rações para frangos. ....	8
Tabela 3. Ingredientes e composição química das dietas experimentais do experimento 1.....	28
Tabela 4. Tratamentos experimentais (experimento 1).....	29
Tabela 5. Tratamentos experimentais (experimento 2).....	32
Tabela 6. Ingredientes e composição química das dietas experimentais do experimento 2.....	32
Tabela 7. Composição química analisada do milho utilizado nas dietas experimentais .....	33
Tabela 8. Coeficiente de metabolizabilidade aparente da matéria seca (CMAMS), energia metabolizável aparente (EMA) e coeficiente de digestibilidade aparente ileal da proteína bruta (CDAiPB) dos crescentes níveis de inclusão de xilanase sem e com inclusão de fitase (s/ f e c/ f, respectivamente) na ração. ....	34
Tabela 9 - Coeficientes de metabolizabilidade aparente da matéria seca (CMAMS), energia metabolizável aparente (EMA) e coeficiente de digestibilidade aparente ileal da proteína Bruta (CDAiPB) dos crescentes níveis de inclusão de xilanase sem e com inclusão de fitase (s/ f e c/ f, respectivamente) no milho. ....	37
Tabela 10. Variações da análises químicas e resultado na digestibilidade utilizando Matterson et al. (1965). ....	50



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Coeficientes de metabolizabilidade aparente da matéria seca da ração com níveis crescentes de xilanase sem e com inclusão de fitase (CMAMS e CMAMSf, respectivamente); Linear Response Plateau com dose máxima de xilanase 50 ppm com CMAMS de 66,4 e com dose máxima de xilanase 86 ppm com CMAMSf de 70,0. ....35
- Figura 2. Energia metabolizável aparente da ração com níveis crescentes de xilanase sem e com inclusão de fitase (EMA e EMAsf, respectivamente). ....36
- Figura 3. Coeficiente de digestibilidade aparente ileal da proteína bruta da ração com níveis crescentes de xilanase sem e com inclusão de fitase (CDAiPB e CDAiPBf, respectivamente).....36
- Figura 4. Coeficientes de metabolizabilidade aparente da matéria seca do milho com níveis crescentes de xilanase sem e com inclusão de fitase (CMAMS e CMAMSf, respectivamente). Linear Response Plateau com dose máxima de xilanase 50 ppm com CMAMSf de 80,7. ....38
- Figura 5. Energia metabolizável aparente do milho com níveis crescentes de xilanase sem e com inclusão de fitase (EMA e EMAsf, respectivamente). Linear Response Plateau com dose máxima de xilanase 50 ppm com EMAsf 3668.....38
- Figura 6. Coeficiente de digestibilidade aparente ileal da proteína bruta do milho com níveis crescentes de xilanase sem e com inclusão de fitase (CDAiPB e CDAiPBf, respectivamente).....39

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

® - registrado

°C - graus celcius

% - percentagem

ANOVA – análise de variância

C - carbono

Ca - cálcio

CA – conversão alimentar

CDA – coeficiente de digestibilidade do amido

CDAiPB – coeficiente de digestibilidade aparente ileal da proteína bruta

CDAiPBf - coeficiente de digestibilidade aparente ileal da proteína bruta com fitase

CDCa - coeficiente de digestibilidade do cálcio

CDiA – coeficiente de digestibilidade ileal do amido

CDiMS – coeficiente de digestibilidade ileal da matéria seca

CDMS - coeficiente de digestibilidade da matéria seca

CDP - coeficiente de digestibilidade do fósforo

CDPB - coeficiente de digestibilidade da proteína bruta

CEUA - Comitê de Ética ao Uso de Animais

CIA – cinza insolúvel ácida

CMAMS – coeficiente de metabolizabilidade aparente da matéria seca

CMAMSf - coeficiente de metabolizabilidade aparente da matéria seca com fitase

CR – consumo de ração

EB – energia bruta

EM – energia metabolizável

EMA– energia metabolizável aparente

EMAf - – energia metabolizável aparente com fitase

ED – energia diegstível

Fe - ferro

FI – fator de indigestibilidade

FXU - unidades de medida de atividade de xilanase

FYT - unidades de medida de atividade de fitase

GP – ganho de peso

IUB - União Internacional de Bioquímica

H - hidrogênio

Kg - quilograma

LRP - *Linear Response Plateau*

mg - miligrama

Mg - Magnésio

Mn - manganês

MS – matéria seca

nm - nanômetro

O - oxigênio

P - fósforo

PB – proteína bruta

PNA – polissacarídeos não amiláceos

ppm – partes por milhão

ton – tonelada

U - unidade

UFT- unidade de fitase ativa

UI - unidades internacionais

Zn - zinco



## INTERAÇÃO DE XILANASE E FITASE EM DIETAS A BASE DE MILHO E FARELO DE SOJA PARA FRANGOS DE CORTE

### RESUMO

A digestibilidade pode ser afetada negativamente por compostos presentes nas rações de frangos. As dietas a base de milho e farelo de soja são consideradas de elevada digestibilidade, mas contém baixas quantidades de polissacarídeos não amiláceos (PNA), que são compostos indigestíveis pelas enzimas endógenas e dificultam a digestibilidade dos nutrientes. Apesar da baixa concentração encontrada, os nutrientes estão envoltos pela parede celular que é rica nesses compostos, dificultando a digestão de nutrientes do interior da célula. O fitato é outro agente indigestível pelas enzimas endógenas que pode prejudicar a digestão das aves. Ele se complexa com a proteína e minerais, principalmente o fósforo e também agride a mucosa o que o torna potente fator antinutricional. Dessa maneira, adicionando enzimas exógenas que hidrolisem esses compostos, há melhorias no desempenho das aves. As carboidrases atuam hidrolisando os PNA e a fitases atuam no fitato. Porém os resultados dos estudos ainda são muito controversos devido a inúmeros fatores como dose enzimática, substrato da enzima, qualidade da matéria prima, pH, entre outros. Com o intuito de verificar a interação entre as enzimas fitase e xilanase, foram realizados dois experimentos avaliando metabolizabilidade de dietas a base de milho e farelo de soja (1º experimento) ou isoladamente do milho (2º experimento) com ou sem a inclusão de xilanase e fitase em frangos de corte. Ambos utilizaram 560 pintos de corte divididos em 8 tratamentos com 10 repetições de 7 aves cada. Os tratamentos experimentais (dietas ou milho) foram quatro níveis de xilanase (0, 50, 100 e 150 ppm) e dois níveis de fitase (0 e 100 ppm) em delineamento totalmente casualizado em esquema fatorial (2x4). Foi realizada a coleta parcial de excretas e coleta do conteúdo ileal. Foi verificada interação nos coeficientes de metabolizabilidade da matéria seca (CMAMS) e na energia metabolizável aparente (EMA) da dieta, em que até a dose de 50 ppm de xilanase, não houve diferenças entre sem e com fitase, a partir da dose 100 ppm de xilanase a inclusão de fitase aumenta esse coeficientes na dieta ( $P < 0,05$ ). Entretanto não houve interação no coeficiente de digestibilidade ileal da proteína bruta (CDAiPB) da dieta, mas foi observado efeito isolado das enzimas. Foi encontrado efeito quadrático e Linear Response Plateau (LRP) para CMAMS da dieta e aumentou linearmente a EMA e CDAiPB com fitase na dieta. Isso pode evidenciar um efeito aditivo entre as enzimas na dieta. No milho, não foram encontradas interações. Entretanto para todas as variáveis do milho o efeito da fitase positivo. O efeito da xilanase só não foi visualizado no CDAiPB do milho. Quando se adicionou somente a xilanase, aumentou linearmente os CMAMS e a EMA. Entretanto, quando se adiciona a fitase, foram encontrados efeitos de LRP em que o CMAMS e EMA respondem somente até a inclusão de 50 ppm de xilanase. Isso pode demonstrar um efeito não adicional das enzimas no milho. Com esses resultados, podemos concluir que as enzimas atuam em outros ingredientes da dieta como o farelo de soja.

**Palavras-chave:** digestibilidade; fitato; LRP; polissacarídeos não amiláceos

## INTERACTION XYLANASE AND PHYTASE IN CORN-SOY DIETS FOR BROILERS

### ABSTRACT

The digestibility may be adversely affected by compounds present in the diets of broilers. Diets based on corn and soybean meal are considered highly digestible but contains low amounts of NSP, which are indigestible compounds by endogenous enzymes and hinder nutrient digestibility. Despite the low concentration, nutrients are surrounded by the cell wall which is rich in these compounds, hindering the digestion of compounds within the cell. Phytate is another indigestible by endogenous agent apparatus that can impair digestion of birds. It complex with the protein and minerals, especially phosphorus and also affects the mucosa which makes potent anti-nutritional factor. Thus, by adding exogenous enzymes that hydrolyze these compounds, there are improvements in bird performance. The carbohydrases act by hydrolyzing the NSP in phytate and phytase act. But the results of the studies are still very controversial due to numerous factors such as enzyme dosage, enzyme substrate, raw material quality, pH, among others. In order to verify the interaction between the enzymes phytase and xylanase, two experiments were conducted to evaluate metabolizable diets based on corn and soybean meal (1st experiment) or isolation of maize (2nd experiment) with or without the inclusion of xylanase and phytase in broiler chickens. Both used 660 broiler chicks divided into 8 treatments with 10 replicates of 7 birds each. The experimental treatments (diets or corn) were four levels of xylanase (0, 50, 100 and 150 ppm) and two levels of phytase (0 and 100 ppm) completely randomized factorial (2x4) design. Partial excreta collection and collection of ileal contents was performed. Interaction was verified in coefficient of metabolizable dry matter (CMAMS) and apparent metabolizable energy (EMA) of the diet. Until the dose of 50 ppm of xylanase, there were no differences between with and without phytase dose 100 ppm of xylanase was observed, from the inclusion of this coefficient increases phytase in the diet ( $P < 0.05$ ). However it was no interaction in the coefficient of ileal digestibility of crude protein (CDAiPB) diet, but isolated effect of the enzymes was observed. Quadratic effect was found for LRP and CMAMS diet and increased linearly CDAiPB AME and phytase in the diet. This can demonstrate an effect of the addition of enzymes in the diet. In maize, no interactions were found. However for all variables of corn the positive effect of phytase. The effect of xylanase was not only viewed CDAiPB corn. When you add only the xylanase, linearly increased CMAMS and EMA. However, when phytase is added, effects LRP on the CMAMS and EMA, respond only to the inclusion of xylanase than 50 ppm were found. This may demonstrate no additional effect of enzymes in maize. With these results, we can assume that the enzymes act on other dietary ingredients such as soybean meal.

**Key words:** digestibility; non-starch polysaccharides; *LRP*; phytate

## CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1.1. INTRODUÇÃO

O desempenho produtivo e a saúde intestinal das aves podem ser afetados negativamente por ingredientes da dieta que contém substâncias antiqualitativas. Esses compostos causam efeitos adversos que nem sempre podem ser visualizados, porém, mesmo assim, causam perdas econômicas na produção de frangos por diminuírem a eficiência produtiva.

Ingredientes de origem vegetal contêm polissacarídeos não amiláceos (PNA) que são açúcares simples indigestíveis. Segundo Penz (1998), além da baixa digestibilidade, aumentam a viscosidade do conteúdo intestinal, diminuindo a velocidade de passagem dos alimentos, dificultando a ação de enzimas endógenas e também a produção de muco. Os PNA também atuam como barreira física de enzimas digestivas, reduzindo o aproveitamento dos nutrientes dos grãos (RIZZOLI, 2009).

Outro fator antiqualitativo, presente nos vegetais, é o ácido fítico, que é a reserva de fósforo dos vegetais (CHERYAN, 1980). Esse composto é indigestível, e se complexa com outros minerais (FIREMAN e FIREMAN, 1998) e com a proteína (KORNEGAY, 1996), o que prejudica a digestão e absorção desses nutrientes, além disso, causa perdas endógenas (SELLE et al., 2006).

A maioria das dietas para frangos são formuladas à base de milho e farelo de soja que são considerados ingredientes de elevada digestibilidade, apresentando baixa quantidade de PNA's (SORBARA, 2008). Apesar disso, são de origem vegetal, portanto possuem parede celular que é rica nesses compostos indigestíveis, capazes de reter os nutrientes no interior da célula. Isso faz com que os nutrientes fiquem indisponíveis para a atuação das enzimas endógenas.

Esses efeitos negativos podem ser reduzidos com adição de enzimas exógenas na dieta. Essas enzimas atuam de duas maneiras: as fitases, xilanases,  $\beta$ -glucanases, as quais não são produzidas pelas aves, hidrolisam compostos como fitatos e PNA. Enquanto que proteases, lipases e amilases atuam complementando a atuação de enzimas endógenas.

Baseado nisso, esse trabalho tem o objetivo de avaliar a adição de xilanase e fitase, atuando de forma conjunta, na digestibilidade e metabolizabilidade de dieta a base de milho e farelo de soja ou somente do milho em frangos de corte.



## **1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **1.2.1. Substratos para xilanase e fitases em dietas a base de milho e farelo de soja.**

#### **1.2.1.1. Polissacarídeos não amiláceos**

Todas as plantas, desde madeiras a grãos, têm em sua composição polissacarídeos não-amiláceos (PNA) (SJÖSTRÖM, 1993), isso porque a parede celular das células vegetais contém esses compostos principalmente arabinoxilanas e beta-glucanos (PALOHEIMO et al., 2011). Os PNA's são divididos em celulósicos (polímero mais abundante do planeta) que são cadeias de glicoses ligadas por ligações beta-1-4; não-celulósicos que podem ser arabinoxilanas, xilanas, que são compostos de xilose, arabinose, manose, galactose também ligadas por ligações beta-1-4 e pectinas (CHOCT et al, 2004). Entretanto as aves não possuem código genético para produzir enzimas capazes de hidrolisar essas ligações o que torna esses compostos indigestíveis.

Os PNA são polímeros de açúcares simples, porém devido a natureza das cadeias de ligações dos açúcares, são resistentes a hidrólise no trato gastrointestinal de monogástricos (BRITO et al., 2008). Segundo Penz (1998), além da baixa digestibilidade, esses compostos, que também podem ser chamados de fibras não amiláceas, podem causar outro problema aos animais, pois se não hidrolisados, aumentam a viscosidade do conteúdo intestinal, diminuindo a velocidade de passagem dos alimentos, dificultando a ação de enzimas endógenas e prejudicando a difusão e o transporte de nutrientes. Além da viscosidade os PNA's podem atuar como barreira física de enzimas digestivas, como amilase e protease, reduzindo o aproveitamento dos nutrientes dos grãos (RIZZOLI, 2009).

Os PNA são divididos em duas categorias de acordo com sua solubilidade: solúvel e o insolúvel. A fração solúvel é composta, principalmente, pela hemicelulose que é, por sua vez, formada por arabinoxilanas,  $\beta$ -glucanos e pentosanas. Segundo Carré et al. (2004), os PNA's que são solúveis em água, aumentam a viscosidade, o que diminui a digestibilidade dos nutrientes em frangos. Isso é explicado pelo fato

destes compostos formarem uma camada de água entre o nutriente e a enzima, impedindo sua atuação e por consequência diminuindo a digestibilidade (BEDFORD e MORGAN, 1996). A viscosidade da digesta aumentada pelos PNA solúveis ocorre, principalmente, pela presença das frações solúveis que são parte da hemicelulose,  $\beta$ -glucanos e arabinosilanos (OLIVEIRA e MORAES, 2007; TAVERNARI et al., 2008). Segundo os mesmos autores, essa solubilidade pode causar diversos problemas como excretas aquosas, em função da alta retenção de água no trato gastrointestinal dos animais. Esse fato pode prejudicar a qualidade da cama, podendo interferir na formação de amônia na cama, formação de cascão favorecendo o aparecimento de calos de pé, etc.

A fração insolúvel pode estar encapsulando os nutrientes pela sua estrutura que é indigestível, se tornando uma barreira entre a enzima e o nutriente (WYATT et al., 2008). Isso faz com que a porção insolúvel atue como uma barreira física entre o nutriente e o aparato enzimático endógeno. Portanto quanto maior a concentração desses compostos, menor o valor nutritivo do ingrediente (CHOCT e ANNISON, 1990; ANNISON e CHOCT, 1991; CHOCT, 1997).

Na Europa é comum dietas com altas concentrações desses compostos devido à base da formulação ser cereais de inverno (como trigo e cevada), ingredientes que possuem alta quantidade de PNA. Entretanto, no Brasil, Estados Unidos e países asiáticos, a maioria das dietas é formulada a base de milho, que segundo Gracia et al. (2003), não apresentam alta quantidade de PNA. A tabela 1 apresenta o teor de PNA de ingredientes utilizados na nutrição animal. Portanto o milho não apresenta muitos problemas com digestibilidade causados por esses compostos. Entretanto, a fonte protéica dessas dietas normalmente advém do farelo de soja, o qual pode conter quantidades consideráveis de PNA (CHOCT, 1997). A maioria desses são encontrados na forma insolúvel, conseqüentemente não aumentam a viscosidade intestinal (SORBARA, 2008), assim pouco interfere na digestão.

**Tabela 1.** Quantidade de polissacarídeos não amiláceos nos diferentes ingredientes na matéria seca (%)

Alimento	Polissacarídeos não-amiláceos		
	Solúvel	Insolúvel	Total
Trigo	2,4	9,0	11,4
Centeio	4,6	8,6	13,2
Cevada	4,5	12,2	16,7
Milho	0,1	8,0	8,1
Sorgo	0,2	4,6	4,8
Soja	2,7	16,5	19,2

(Adaptado CHOCT, 1997)

Entretanto, segundo Smith e Annison (1996) o milho e o farelo de soja possuem quantidades considerável desses compostos sendo aproximadamente 8% no milho, a maior parte cerca de 6% na forma insolúvel, enquanto o farelo de soja possui em torno de 27% de PNA's, sendo apenas 6% na forma solúvel. Segundo Charlton (1996) na soja esses compostos são em sua maioria encontrados na forma de pectinas, hemiceluloses e oligossacarídeos (rafinose e estaquiase). Essa quantidade é o suficiente para causar efeitos nos animais que ingerirem rações formuladas com esses ingredientes.

Dietas a base de milho e farelo de soja geralmente não apresentam grandes problemas causados por esses compostos, porém, ainda assim, apresentam nutrientes envoltos pela parede celular e, portanto, indisponíveis para a atuação de enzimas endógenas. Uma alternativa para resolver esse problema é adicionar enzimas exógenas à dieta que hidrolisem esses compostos, liberando os nutrientes que possam estar encapsulados.

#### 1.2.1.2. Fitato

O fitato é a maior fonte de reserva de fósforo nas plantas (REDDY at al., 1982; NEWMAN, 1991), que quando esterificado no álcool cíclico inositol com seis grupos de ácido fosfórico forma o ácido fitico (HEINZL, 1996). Esse composto também pode se complexar com outros cátions bivalentes como cálcio (Ca),

manganês (Mn), magnésio (Mg), ferro (Fe) e zinco (Zn) (FIREMAN e FIREMAN, 1998), esses compostos complexados podem formar a fitina nas sementes.

Segundo Cheryan (1980) a principal função do ácido fítico presente nos vegetais é a reserva de grupos fosfatos reativos, ou seja, uma fonte de fósforo para as sementes, estoque energético, fonte de cátions e segundo Reddy et al.(1982) pode também ser responsável pela iniciação da dormência. Entretanto, há variação na quantidade de fósforo fítico presente nos alimentos vegetais como demonstrado na Tabela 2, e na parte da planta onde é mais concentrado (SELLE et al.; 2003). No milho, segundo Baker (1991), o fitato é encontrado principalmente no gérmen e na soja, encontra-se principalmente associado aos corpos protéicos distribuído por toda semente.

**Tabela 2.** Percentagem de fósforo, fósforo fítico e fósforo disponível dos ingredientes vegetais utilizados em rações para frangos.

<b>Ingrediente</b>	<b>P total (%)</b>	<b>P fítico (% P Total)</b>	<b>P disponível (%)</b>
F. Arroz	1,61	80	19,9
F. Girassol	1,5	77	-
F. Soja	0,65	60	32,3
F. Trigo	0,99	71	33,3
Milho	0,24	72	33,3
Sorgo	0,26	66	34,6

Adaptado Rostagno et al. (2005)

Ainda, segundo Kornegay (1996), em pH ácido a neutro, pode apresentar poder quelante para proteínas. Também em pH ácido pode precipitar o  $Fe^{+3}$  (GRAF, 1983) e em pH próximo de 6,5, são formados os complexos entre Cobre > Zinco > Cobalto > Manganês > Ferro > Cálcio e o fitato na respectiva ordem de afinidade (OBERLEAS, 1973).

Quando a fitina presente nos ingredientes de origem vegetal é solubilizada no proventrículo e na moela, em pH 2,5 a 3,0 o composto passa a ser chamado de ácido fítico que é livre e reativo. Entretanto, com o avanço do alimento pelo trato da ave, há um aumento de pH, e então há a ligação do ácido fítico com minerais e proteínas (SELLE et al, 2006). Esse composto forma o fitato, que diminui sua solubilidade e facilidade de hidrólise (MAENZ et al., 1999).

Caso o fitato fosse hidrolisado pelo animal seria uma fonte rica em fósforo (ONYANGO et al., 2005), porém os monogástricos apresentam quantidade insuficiente de fitase endógena para digerir efetivamente o fitato (NELSON, 1967). Isso faz com que haja a necessidade de suplementação de fonte inorgânica de fósforo na dieta, fazendo com que os custos aumentem. Portanto, o fósforo é o terceiro nutriente mais caro da dieta de frangos depois da energia e da proteína (BIEHL et al., 1998). Além da liberação de fósforo, a hidrólise do fitato pode liberar outros nutrientes que possam estar quelatados. Ambos aspectos viabilizam a utilização de enzimas que hidrolisam esse composto nas dietas de frangos de corte.

### **1.2.2. Enzimas Exógenas**

As enzimas digestivas são proteínas que atuam como catalizadores biológicos sobre substratos específicos. Na nutrição aumentam a digestibilidade de nutrientes específicos das matérias primas ou da ração como um todo (ZANELLA, 1998).

As primeiras enzimas exógenas foram adicionadas a dietas de animais com intuito de reduzir os efeitos de PNA como os arabinosilanos e os beta-glucanos de dietas a base de trigo, triticale, cevada e centeio (CHOCT et al., 2004). Entretanto, normalmente dietas a base de milho e farelo de soja são consideradas de baixa viscosidade (CHOCT, 1997), tornando a utilização dessas enzimas questionável. Porém a partir da década de 90, surgiram as fitases que não só melhoram a disponibilidade do fósforo fítico, mas também reduziram sua excreção no ambiente (BARLETTA, 2011). Segundo o mesmo autor, essas enzimas além de disponibilizarem o fósforo fítico aumentam a digestibilidade da energia e da proteína.

Atualmente estuda-se a atuação de complexos multienzimáticos com as enzimas trabalhando em conjunto para melhorar a digestibilidade. Algumas enzimas são adicionadas na dieta com intuito de complementar quantitativamente a atuação de enzimas endógenas e outras para hidrolizar compostos que prejudiquem a digestão. Porém pouco se sabe sobre a interação dessas enzimas dentro do trato do animal.

Contudo, há diferentes formas das enzimas exógenas atuarem mas todas são adicionadas as dietas com intuito de melhorar a digestibilidade.

### 1.2.3. Atuação das carboidrases

No ovo, a maioria da energia advém de fontes lipídicas e, logo que os pintainhos eclodem os carboidratos passam a ser sua principal fonte de energia. Porém aos 18 dias de idade no interior do ovo já é observado atividade de  $\alpha$ -amilase no pintinho (MORAN, 1985; SKLAN, 2001). Entretanto a atividade enzimática é muita baixa (NIR et al., 1993) e o aumento da secreção de amilase está ligado ao aumento da ingestão de alimento (MORAN, 1985). Portanto há deficiência de aparato enzimático para digestão de carboidratos nessa fase.

A mistura de amilase, protease e xilanase em dietas a base de milho e farelo de soja, pode beneficiar o desempenho zootécnico de frangos e isso pode indicar que esses animais têm deficiências na produção enzimática endógena em algumas fases da vida (ZANELLA et al., 1999).

Outra forma de atuação das carboidrases está no rompimento da parede celular dos ingredientes de origem vegetal, principalmente os compostos insolúveis, facilitando a atuação de enzimas endógenas sobre substrato (CHOCT et al, 2004). Segundo Cowieson (2005), a utilização de carboidrases aumenta o acesso de enzimas pela hidrólise do arabinosilano da parede celular. Isso pode justificar o aumento da energia metabolizável das dietas a base de milho e farelo de soja com a utilização de complexos enzimáticos, composto basicamente formado por amilases, proteases e xilanases. Desta forma uma enzima libera compostos do interior das paredes vegetais e as outras atuam complementando a atuação das endógenas.

Entretanto, mesmo com presença de substrato, algumas enzimas como xilanases, pentosanases, glucanases e fitases não são secretadas pela ave, pois o código genético das aves não tem a expressão para a síntese dessas enzimas (PENZ Jr., 1998). Portanto por mais que esses compostos estejam na dieta, a digestão enzimática deles não será realizada sem auxílio de enzimas exógenas.

As xilanases são produzidas por microrganismos livres, fungos, algas, protozoários e sementes de plantas (PALOHEIMO et al, 2011) e são adicionadas a dietas com o objetivo de diminuir a viscosidade da dieta e aumentar a digestão de compostos como xilanos e principalmente de arabinosilanos. Embora carboidrases proporcionem melhoria na digestibilidade dos nutrientes, segundo Carré (2004), esse efeito não pode ser somente atribuído à queda na viscosidade da dieta, mas

também a melhora na disponibilidade dos nutrientes que estão aprisionados nos PNA.

#### **1.2.4. Atuação das fitases**

Os resultados positivos obtidos com a inclusão de fitase na dieta provavelmente são relacionados com a ligação do fitato com o fósforo e demais nutrientes. A fitase quebra a ligação entre o fitato e o mineral, liberando-os para a absorção, isso aumenta a digestibilidade reduzindo a excreção no ambiente (SEBASTIAN et al., 1996). Selle e Ravindran (2007) relataram também uma melhora na digestibilidade de aminoácidos, segundo os autores esse resultado foi alcançado pela liberação das moléculas ligadas ao hexafosfato inositol pela hidrólise realizada pela fitase.

A presença do fitato nas dietas das aves piora a EM e a digestibilidade de aminoácidos não só pela ligação que esse composto possui com os nutrientes, ou dificultar o acesso de enzimas digestivas, mas também pelas perdas endógenas (SELLE et al., 2006) causada pela agressão do fitato a mucosa intestinal. Segundo Cowieson et al. (2006), o fitato altera o turnover das células intestinais, aumentando a produção de mucinas e conseqüentemente a perda de nitrogênio endógeno.

Dessa maneira os efeitos da fitase não podem ser somente atribuídos a liberação de nutrientes. O fitato é um importante agressor da mucosa intestinal de frangos, portanto sua hidrólise proporciona melhora de resultados nas aves (COWIESON et al., 2009).

#### **1.2.5. Digestibilidade**

Utilizando dietas suplementadas com 16.000 unidades de xilanase por kg de ração, Singh et al. (2012), não encontraram diferenças significativas no desempenho de frangos. No mesmo trabalho, os autores não encontraram diferenças entre peso dos cortes nobres (peito, coxa, sobrecoxa e asa). Gracia et al. (2003), melhorou CR, GP e CA de frangos em diferentes idades utilizando 40 ppm de  $\alpha$ -amilase.

Entretanto frangos alimentados com dietas contendo amilase apesar de aumentar o consumo de ração e o ganho de peso em dietas com decréscimo na

energia não apresentam melhora na conversão alimentar (SORBARA et al.,2009). Nesse trabalho os autores não encontraram diferenças na conversão alimentar entre o controle positivo e o controle negativo que era o que continha menos energia, e isso pode significar que havia um excesso de energia na dieta basal, pois mesmo com decréscimo na energia não houve diferença.

Utilizando carboidrases isoladas ou em complexos multienzimáticos com ou sem proteases, Aftab (2012), em uma revisão encontrou um aumento de 0,8 a 10% no ganho de peso. Entretanto, na conversão alimentar os resultados foram controversos.

Os resultados de digestibilidade em trabalhos com enzimas encontrados na literatura podem se diferenciar em função de inúmeros fatores. Uma delas é que existem várias metodologias para avaliar a digestibilidade dos ingredientes, isso pode alterar o resultado. Além das diferenças metodológicas há uma infinidade de enzimas isoladas e misturas delas no mercado, portanto os resultados dos estudos com elas são divergentes.

Segundo Leslie et al. (2007), a digestibilidade ileal da energia e o coeficiente de digestibilidade da matéria seca dos ingredientes milho e farelo de soja são melhorados com a adição de glucanase na dieta de frangos em diferentes idades. Esses resultados corroboram com os coeficientes de digestibilidade encontrados por WANG et al. (2005), que suplementaram 250 e 500 unidades de alfa-galactosidase na dieta de frangos de 18 a 21 dias de idade. Os autores observaram que os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), da matéria orgânica (CDMO) e da proteína bruta (CDPB) e a energia metabolizável (EM) melhoraram com a adição de enzima. Porém como os resultados entre 250 e 500 não diferiram entre si, o autor recomenda utilizar 250 UI.

Em uma revisão Aftab (2012), encontrou que a EM das dietas contendo diversos tipos de carboidrases isoladas ou complexos multienzimáticos de carboidrases aumenta de 1,6 a 6,2 % a digestibilidade da dieta sem a enzima. Na mesma revisão o autor encontrou que o CDPB aumenta de 3,3 a 7,1% e dos diferentes aminoácidos 1,7 a 12,2%.

Sabe-se que nutrientes que não são digeridos na parte anterior do intestino (principalmente duodeno e jejuno) pode servir como aporte nutricional para microbiota da porção final do intestino (BEDFORD, 2000). E muitas vezes esses microorganismos que se desenvolvem não são benéficos, podendo ser patógenos.



Portanto, as carboidrases podem modular a microflora intestinal (FERNANDEZ et al., 2000; APAJALAHTI e BEDFORD, 1999). Pois com a adição delas nutrientes tornam-se mais disponíveis para a digestão da ave, assim há menor quantidade para o patógeno. Dessa forma, percebe-se também que além de gerar melhoras na digestibilidade de frangos essas enzimas podem estar contribuindo para uma melhora na saúde intestinal.

Na literatura, há bastante divergência de resultados e isso pode ser explicado por vários fatores. Em uma revisão sobre utilização de carboidrases em dietas a base de milho e farelo de soja para frangos. Aftab (2012) mencionou alguns dos principais fatores que possam estar causando essa diferença nos resultados: qualidade de matéria prima (valor nutritivo); forma da dieta (peletização); pH ótimo da enzima, nível de energia da dieta (resposta da enzima), enzima ou complexo multienzimático (interação das enzimas); idade das aves (fases em que falta aparato enzimático); dose enzimática (padronização das unidades); composição dos ingredientes da dieta (interação dos ingredientes com enzima) e presença de fitase.

O efeito na digestibilidade também pode ser visualizado quando adiciona-se a fitase. Ao adicionarem 250 e 500 UFT/kg em dietas a base de milho e farelo de soja com níveis reduzidos de fósforo, Lan et al. (2002) encontraram EM superior ao controle positivo (com níveis normais de P). Efeito semelhante foi encontrado na EM corrigida para nitrogênio por Farrel (1993). Lelis et al. (2010) relataram que a EM corrigida para nitrogênio foi similar ao controle positivo, com níveis nutricionais utilizados na indústria.

Tejedor et al. (2001) descreveram incremento de 5,2%, 2,4% e 3,8% na digestibilidade ileal da MS, PB e EB. Ravindran et al. (1999), forneceu dietas semi-purificadas e observaram um aumento significativo na digestibilidade ileal da proteína e de aminoácidos no milho, sorgo, trigo, farelo de soja, farelo de canola, farelo de algodão e farelo de girassol. Zanella et al. (1999), relataram melhora de 3% no CDPB com adição de complexo enzimático. Melhorias no CDPB foram encontrados em vários estudos utilizando fitase (KONERGAY, 1996; SEBASTIAN, 1997).

Entretanto Adeola e Sands (2003) afirmam que não há melhora na digestibilidade ileal dos aminoácidos com adição de fitase.

Rutherford et al. (2004) observaram que a fitase, hidrolizou o fator antinutricional, o fitato, e disponibilizou minerais para serem absorvidos pelas aves.

Esse resultado também foi verificado por Tejedor et al. (2001), que utilizou duas fitases que aumentaram o coeficiente de digestibilidade do cálcio e do fósforo (5 e 4%, respectivamente).

### **1.3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Existe uma variedade de enzimas no mercado, porém ainda há dúvidas quanto a sua funcionalidade e seu retorno econômico. Portanto, algumas considerações devem ser feitas antes de adicioná-las na dieta: presença do substrato da enzima; viabilidade econômica da enzima; a dose enzimática; desempenho esperado da ave; tamanho da partícula da dieta; velocidade de passagem da dieta; a microbiota da ave; processamento da dieta; etc.

#### 1.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEOLA, O.; SANDS, J.S. Does supplemental dietary microbial phytase improve amino acid utilization? A perspective that it does not. *Journal of Animal Science*, v.81, E78-E85, 2003.

ANNISON, G.; CHOCT, M. Anti-nutritive activities of cereal non-starchpolysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects. **World's Poultry Science Journal**. v. 47, p.232-242, 1991.

AFTAB, U. Exogenous carbohydrase in corn-soy diets for broilers. **World's Poultry Science Journal**.v.68, p.447-464, 2012.

APAJALAHTI, J.;BEDFORD, M.R. Improve bird performance by feeding its microflora. **World Poult**. v.15, p.20-23, 1999.

BAKER, D.H. Bioavalilability of minerals and vitamins. In: Miller et al (Eds) Swine nutrition. Butterworth-Heinemann. p. 341-359,1991

BARLETTA, A. Introduction: Current Market and Expected Developments. In:BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. Enzymes in Farm Animal Nutricion. 2.ed. 2011. Cap.1, p.1-11.

BEDFORD, M.R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition - their current value and future benefits. **Animal Feed Science and Technology**. v.86, p.1-13, 2000.

BEDFORD, M.R. e MORGAN, A.J. The use of enzymes in poultry diets. **World's Poult. Sci. J.**, v.52, p.61-68, 1996.

BERTECHINI, A. G.; BRITO, J. A. G. Utilização correta das enzimas em rações de aves. In: FÓRUM INTERNACIONAL DE AVICULTURA, 2., 2007, Curitiba. Anais... Curitiba: ANIMAL WORLD, 2007. p. 237-240.

BIEHL, R. R., D. H. BAKER, and H. F. DELUCA. 1998. Activity of various vitamin D3 analogs for improving phosphorus utilization in chicks receiving diets adequate in vitamin D3. *Br. Poult. Sci.* 39:408–412.

BRITO, M.S.; OLIVEIRA, C.F.S.; SILVA, T.R.G.; LIMA, R.B.; MORAIS, S.N.; SILVA, J.H.V. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos: revisão. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.2, n.4, p.111-117, 2008.

CARRÉ, B. Causes for variation in digestibility of starch among feedstuffs. **Poultry Science**. v.60 p. 76-89, 2004.

CHARLTON, P. Expanding enzyme application: higher amino acid and energy values for vegetable proteins. In: *BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY*, 12, Nottingham. Proceedings... Nottingham: Nottingham University Press, p.317-326. 1996.

CHERYAN, M. Phytic acid interactions in foods systems. *Food Science and Nutrition*, v.13, p.297-335, 1980.

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

CHOCT, M.; ANNISON, G. Anti-nutritive activity of wheat pentosans in broiler diets. **Brit. Poult. Sci.** v.3, p.811-821, 1990.

CHOCT, M. et al. A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. **Br. J. Nutr.** v.92, p.53-61, 2004.

COWIESON, A.J., Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 119, 293–305. 2005.

COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Using the precision-feeding bioassay to determine the efficacy of exogenous enzymes – A new perspective. *Animal Feed Science and Technology*, v.129, p.149-158, 2006.

COWIESON, A.J., BEDFORD, M.R., SELLE, P.H. et. al. Phytate and microbial phytase: implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. *World's Poultry Science Journal*, v.65, p.401-18, 2009.

FARREL, D.J. The beneficial effects of a microbial phytase in diets of broiler chickens and duck-lings. *Journal of Physiology Animal Nutrition*, v.69, p.278-283. 1993.

FERNANDEZ, F., et al. Diet influences the colonization of *Campylobacter jejuni* and distribution of mucin carbohydrates in the chick intestinal tract. **Cell. Mol. Life Sci.** v.57, p.1793–180, 2000.

FIREMAN, A.K.B.A.T.; FIREMAN, F.A.T. Fitase na alimentação de poedeiras. *Revista Ciência Rural*, v.28, n.3, p. 529-53, 1998.

GRACIA, M.I. et al.  $\alpha$ -amilase supplementation of broiler diets based on corn. **World's Poultry Science Journal.** v.82, p.436-442, 2003.

GRAF, E. Applications of phytic acid. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, v.60, p.1861-1867, 1983.

HEINZL, W. Technical specifications of natuphos. BASF Technical Symposium. World Congress Center, Atlanta, Georgia. January 23, p. 39-70, 1996.

ISAKSEN, M. F. et al. Starch- and Protein-degrading Enzymes: Biochemistry, Enzymology and Characteristics Relevant to Animal Feed Use. In:BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 2.ed. 2011. Cap.4, p.85-95.

JACKSON, M.E. Mannanase, Alpha-Galactosidase and Pectinase. In:BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 2.ed. 2011. Cap.3, p.52-127.

KORNEGAY, E. T. Effect of Phytase on the bioavailability of phosphorus, calcium, amino acids, and trace minerals in broilers and turkeys. BASF Technical Symposium. World Congress Center, Atlanta, Georgia. January 23, p. 39-70, 1996.

KORNEGAY, E.T. Digestion of phosphorus and other nutrients:the role of phytases and factors influencing their activity.In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. (Eds.) *Enzymes in farm animal nutrition*. Wallingford: Cab Publishing,2001. 432p.

LAN, G.Q.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. et al. Efficacy ofsupplementation of a phytase-producing bacterial culture onthe performance and nutrient use of broiler chickens fedcorn-soybean meal diets. *Poultry Science*, v.81, n.10,p.1522-1532, 2002.

LESLIE, M.A. et al. The effect of phytase and glucanase on the ileal digestible energy of corn and soybean meal fed to broilers. **Poultry Science**, v.86, p.2350-2357, 2007.

LELIS, G.R.; ALBINO, L.F.T.; SILVA, C.R.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES, P.C. BORSATTO, C.G. Suplementação dietética de fitase sobre metabolismo de nutrientes de frangos de corte. *R. Bras. Zootec.*, v.39, n.8, p.1768-1773, 2010.

MAENZ, DD; IRISH, GG; CLASSEN, HL. Carbohydrate-binding and agglutinating lectins in raw and processed soybean meals. *Animal feed Science and Technology*, v.76, n.3, p. 335-343, 1999.

MORAN, E.T. Digestion and absorption of carbohydrates in fowl and events through perinatal development. **Journal of Nutrition**. v.115, p.665-674, 1985.

NELSON, T. S. 1967. The utilization of phytate phosphorus by poultry—A review. *Poult. Sci.* 46:862–871.

NEWMAN, K. Phytase: The enzyme, its origin e characteristics: impact e potential for increasing phosphorus availability. In: *Biotechnology in feed industry. Proceedings of Alltech's seventh annual symposium*. Edt. Y. P. Lyons. Alltech Technical Publications, Nicholasville, Kentucky. p. 169-177, 1991.

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.

OLIVEIRA, M. C.; MORAES, V. M. B. Mananoligossacarídeos e enzimas em dietas à base de milho e farelo de soja para aves. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v.8, n.3, p.339-357, 2007.

ONYANGO, E.M.; BEDFORD, M.R.; ADEOLA, O. Efficacy of an evolved *Escherichia coli* phytase in diets of broiler chicks. *Poult. Sci.*, v.84, p.248-255, 2005.

PALOHEIMO, M. et al. Xylanases and Cellulases as Feed Additives. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 2.ed. 2011. Cap.2, p.12-53.

PENZ JÚNIOR, A.M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**, 35, 1998, Botucatu. *Anais...Botucatu-SP*, 1998, p.165-178.

OBERLEAS, D. Phytates. In: Toxicants Occurring Naturally in Foods. National Academy of Sciences, Washington, D.C. p 363. 1973.

RAVINDRAN, V., CABAUG, S., RAVINDRAN, G., et al. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broiler. Poultry Science, v.78, p.699-706. 1999.

REDDY, N. R., S. K. Sathe, and D. K. Salunkhe. Phytates in legumes and cereals. Adv. Food Sci. 28:1–92.1982.

RIZZOLI, P. W. Desempenho, incremento de energia e digestibilidade de nutrientes em rações de frangos de corte contendo enzimas exógenas. 2009. 64 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.

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

RUTHERFURD, S. M., T. K. CHUNG, P. C. MOREL, AND P. J. MOUGHAN. Effect of microbial phytase on ileal digestibility of phytate phosphorus, total phosphorus, and amino acids in a lowphosphorus diet for broilers. Poultry Science. 83:61-68, 2004.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R.Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization on broiler chickens. Poultry Science, London,v. 75, p. 1516- 1522, 1996

SELLE, P.H., WALKER, A.R. & BRYDEN, W.L.Total and phytate-phosphorus contents and phytase activity of Australian-sourced feed ingredients for pigs and poultry. Australian Journal of Experimental Agriculture. v.43, p. 475-479, 2003

SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. BRYDEN, W.L.; SCOTT, T.A. Influence of dietary phytate and exogenous phytase on amino acid digestibility in Poultry: A review. Journal of Poultry Science, 43:89, 2006.

SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. Review. Animal Feed Science and Technology. 135. 1-41, 2007.

SMITH, C.H.M.; ANNISON, G. Non-starch plant polysaccharides in broiler nutrition-towards a physiologically valid approach to their determination. Wld's Poult. Sci. J. 52, 203–221. 1996.



SJÖSTRÖM, E. **Wood Chemistry: Fundamentals and Applications**, 2nd edn. Academic Press, New York, p. 63–70., 1993.

SKLAN, D. Development of the digestive tract of poultry. *World's Poultry Science Journal* v.57, p.415-428, 2001.

SINGH, A. et al. Effects of xylanase supplementation on performance, total volatile fatty acids and selected bacterial population in caeca, metabolic indices and peptide YY concentrations in serum of broiler chickens fed energy restricted maize-soybean based diets. **Animal Feed Science and Technology**.v.177, p.194-203, 2012.

SORBARA, J.O.B. **Carboidrases em programas enzimáticos de rações para frangos de corte**. 2008. 71f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá.

SORBARA, J.O.B. et al. Enzymatic programs for broilers. **Brazilian Archive Biology and Technology**. v.52, p.233-240, 2009.

TAVERNARI, F. C.; CARVALHO, T. A.; ASSIS, A. P.; LIMA, H. J. A. Polissacarídeos não amiláceo solúvel na dieta de suínos e aves. *Revista Eletrônica Nutritime*, Viçosa, v.5, n.5, p. 673-689, 2008.

TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; LIMA, C.A.R.; VIEITES, F.M. Efeito da adição de enzimas em dietas de frangos de corte à base de milho e farelo de soja sobre a digestibilidade ileal de nutrientes. *Rev. bras. zootec.*, 30(3):809-816, 2001.

VALLE, F.L.P. Uso de fitase comerciais para frangos de corte contendo ou não ingredientes de origem animal. 2010. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná.

WARD, N.E. & FODGE, D. Ingredients to counterantnutritional factors: soybean - based feeds need enzymes too. *Feed Management* 47:13-18.1996.

WANG, C.L. et al. Effects of Alpha-galactosidase supplementation to corn-soybean meal diets on nutrient utilization, performance, serum indices and organ weight in broilers. *Asian-Australian Journal Animal Science*, v.18, n.12, p.1761-1768, 2005.

WEURDING, R.E. et al. The effect of site of starch digestion on performance of broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**. v.110, p.175-184, 2003.

WYATT, C. et al. Mechanisms of action for supplemental NSP and phytase enzymes in poultry diets. In: Poultry Nutr. Conf. 35, 2008. Carolina Feed Ind. Assoc. Raleigh, NC. p.1-11, 2008.

ZANELLA, I. Suplementação enzimática em dietas abase de milho e sojas processadas sobre adigestibilidade de nutrientes e desempenho de frangos de corte. Jaboticabal, 1998. 179p. Tese(Doutorado em Nutrição e Produção Animal) - Universidade Estadual Paulista.

ZANELLA, I. et al. Effect of Enzymes Supplementation of Broiler Diets Based on Corn and Soybeans. **Poultry Science**. v. 78, p.561-568,1999.

## **CAPÍTULO 2 –Interação de xilanase e fitase para frangos de corte na metabolizabilidade e digestibilidade de dietas e do milho.**

### **2.1. RESUMO**

Foram realizados dois experimentos com o objetivo de avaliar a metabolizabilidade de dietas a base de milho e farelo de soja (1º experimento) ou isoladamente do milho (2º experimento) com ou sem a inclusão de xilanase e fitase em frangos de corte. Ambos utilizaram 560 pintos de corte divididos em 8 tratamentos com 10 repetições de 7 aves cada. Os tratamentos experimentais (dietas ou milho) foram quatro níveis de xilanase (0, 50, 100 e 150 ppm) e dois níveis de fitase (0 e 100 ppm) em delineamento totalmente casualizado em esquema fatorial (2x4). Foi realizada a coleta parcial de excretas e coleta do conteúdo ileal. Foi verificada interação nos coeficientes de metabolizabilidade aparente da matéria seca (CMAMS) e na energia metabolizável aparente (EMA) da dieta. Até a dose de 50 ppm de xilanase, não houve diferenças entre sem e com fitase, com a dose 100 ppm de xilanase a inclusão de fitase aumenta esse coeficientes na dieta ( $P < 0,05$ ). Entretanto não houve interação no coeficiente de digestibilidade aparente ileal da proteína bruta (CDAiPB) da dieta, mas foi observado efeito isolado das enzimas. Foi encontrado efeito quadrático e LRP para CMAMS da dieta e efeito linear para a EMA e CDAiPB com fitase na dieta. Isso pode evidenciar um efeito de adição entre as enzimas na dieta. No milho, não foram encontradas interações. Entretanto para todas as variáveis do milho o efeito da fitase foi positivo. O efeito da xilanase só não foi observado no CDAiPB do milho. Quando se adiciona somente a xilanase, aumentou linearmente os CMAMS e a EMA. Entretanto, quando se adicionam a fitase, foram encontrados efeitos de LRP em que o CMAMS e EMA responderam somente até a inclusão de 50 ppm de xilanase. Isso pode demonstrar um efeito não adicional das enzimas no milho. Com esses resultados, podemos concluir que as enzimas atuam em outros substratos da dieta como o farelo de soja.

## 2.2. INTRODUÇÃO

As enzimas exógenas são adicionadas as rações animais com intuito de reduzir os custos, melhorando o aproveitamento dos nutrientes da dieta. Essas enzimas atuam basicamente de duas maneiras: hidrolisando compostos que prejudicam a digestibilidade ou complementando a atuação do aparato enzimático endógeno.

Dietas a base de milho e farelo de soja possuem baixas concentrações de polissacarídeos não amiláceos (PNA) (GRACIA et al., 2003; SORBARA, 2008). Porém, por esses ingredientes serem de origem vegetal podem estar encapsulando os nutrientes com sua estrutura que é indigestível, tornando-se uma barreira entre a enzima e o nutriente (WYATT et al., 2008). Determinadas frações dos PNA, são solúveis em água, portanto aumentam a viscosidade, formando uma camada de água entre o nutriente e a enzima (CARRÉ, 2004). Isto dificulta a atuação das enzimas endógenas e por conseqüência, diminuí a digestibilidade (BEDFORD e MORGAN, 1996).

Outro componente das dietas que pode causar perdas é o fitato que é a maior fonte de reserva de fósforo (P) nas plantas (REDDY et al., 1982; NEWMAN, 1991), podendo complexar cerca de 85% do P, tornando-o indisponível aos animais (BARBOZA e ROSTAGNO, 1998). Isso torna necessário incluir fontes de P inorgânicas na dieta, fazendo com que esse nutriente seja o terceiro mais caro da dieta para frangos depois da energia e da proteína (BIEHL et al., 1998). Esse composto também pode se complexar com outros cátions bivalentes como cálcio (Ca), manganês (Mn), magnésio (Mg), ferro (Fe) e zinco (Zn) (FIREMAN e FIREMAN, 1998). Em pH ácido a neutro, pode apresentar poder quelante para proteínas (KORNEGAY, 1996). Se o fitato fosse hidrolisado pelo animal seria uma fonte rica em P (ONYANGO et al., 2005), porém os não-ruminantes apresentam quantidade insuficiente de fitase endógena para digeri-lo (NELSON, 1967).

A utilização de enzimas exógenas na dieta como a xilanase e a fitase, podem reduzir esses efeitos, a xilanase pode liberar nutrientes encapsulados pela parede vegetal e os tornar disponíveis para as aves, repercutindo em melhora na digestibilidade (JUANPERE et al., 2005; NIAN et al., 2011) e, conseqüentemente, no desempenho das aves (CONTE et al., 2003). A fitase, que hidrolisa o fitato, pode

melhorar a digestibilidade (LELIS et al., 2010; ONYANGO et al., 2005), desempenho (PERNEY et al., 1993; CONTE et al., 2003; ONYANGO et al., 2005) e características ósseas das aves (PERNEY et al., 1993; ONYANGO et al., 2005 ). Entretanto, estudos verificando a interação entre fitase e a xilanase na digestibilidade e metabolizabilidade da dieta e do milho em aves ainda são escassos.

Nesse contexto, o presente trabalho tem o intuito de verificar interações entre níveis crescentes de inclusão de xilanase, sem e com inclusão de fitase, e seus efeitos isolados, na metabolizabilidade da matéria seca, energia metabolizável e no digestibilidade ileal da proteína bruta em dietas a base de milho e farelo de soja e milho isoladamente em frangos de corte.

## **2.3. MATERIAL E MÉTODOS**

Foram realizados dois experimentos aprovados pelo Comitê de Ética ao Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias sob o número 035/2012, emitido em 06 de fevereiro de 2013.

### **2.3.1. EXPERIMENTO 1 – Digestibilidade e metabolizabilidade de dietas suplementadas com xilanase e fitase**

#### **2.3.1.1. Animais e local do experimento**

Foram utilizados 560 pintos de corte da linhagem Cobb® com 1 dia de idade, alojados em gaiolas metabólicas de arame galvanizado com dimensões de 0,90 x 0,40 x 0,30 m (c x l x h), equipadas com comedouro e bebedouro tipo calha. Na parte inferior, as gaiolas eram providas de bandejas metálicas, as quais foram forradas com lona plástica, para coleta de excretas. A temperatura foi controlada por meio de campânulas a gás, lâmpadas incandescentes e abertura de janelas, mantida ao primeiro dia a temperatura de 31 °C e gradativamente sendo diminuída até 22 °C aos 21 dias de idade. A ração e a água foram fornecidos a vontade durante todo o período experimental.

#### **2.3.1.2. Delineamento experimental e dietas**

Todas as aves receberam a mesma dieta até os 14 dias de idade, sendo iniciado o fornecimento das dietas experimentais no 15° dia. As dietas experimentais foram formuladas de acordo com recomendações de Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (2011), adicionando 1% de cinza insolúvel ácida (CIA) como marcador indigestível de acordo com a tabela 3.

Para o ensaio de digestibilidade das rações, as aves foram divididas em 8 tratamentos em um delineamento inteiramente ao acaso com esquema fatorial (4x2), sendo quatro doses de xilanase (0, 50, 100 e 150 ppm) com e sem inclusão de fitase (0 ou 100 ppm) com 10 repetições de 7 aves cada, conforme tabela 4.

A xilanase (RONOZYME WX® (CT),NOVOZYMES) utilizada é uma endo-xilanase termoestável granulada de *Thermomyces lanuginosus*, produzida por fermentação submersa a partir de um microrganismo geneticamente modificado *Aspergillus oryzae*. A atividade principal da enzima é endo-1,4-β-xilanase (IUB No. 3.2.1.8). A atividade mínima da xilanase fúngica é declarada como 1000 unidades de xilanase/ fungos (FXU) por grama. A atividade da enzima é realizada incubando amostras de xilanase com um substrato arabinoxylan de trigo manchado de remazol. O substrato que não é convertido precipita com etanol. A cor azul do sobrenadante devido ao substrato manchado de remazol precipitada produtos de degradação é proporcional à atividade de endo-xilanase.

A fitase utilizada (RONOZYME HiPhos® (GT), NOVOZYMES) é uma preparação granular de fitase (IUB No. 3.1.3.26), obtida por fermentação submersa a partir de um microrganismo *Aspergillus oryzae*. A atividade mínima é de 10000 FYT por grama. Essa atividade é determinada com a fitase reagindo com fitato de sódio (sal de ácido fítico C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>24</sub>P<sub>6</sub>Na<sub>12</sub> dodeca sódio) e liberando fosfato inorgânico. Este fosfato é determinado a partir de um complexo espectrofotometricamente amarelo formado por um ácido reagente contendo molibdato / vanadato. O complexo amarelo é medido espectrofotometricamente num comprimento de onda de 405 nm.

As enzimas foram adicionadas na dieta de maneira *on top* na dieta. A xilanase não foi considerada na matriz de nutrientes. Entretanto com a adição da fitase, foi reduzido os níveis de fósforo em 0,15% e de cálcio 0,15% na dieta.

**Tabela 3.** Ingredientes e composição química das dietas experimentais do experimento 1.

<b>Ingredientes</b>	<b>Ração sem fitase</b>	<b>Ração com fitase</b>
Milho	54,68	55,90
Farelo de soja	35,93	35,93
Oleo de soja	4,39	4,39
Fosfato	1,82	0,99
Calcario	0,97	0,57
Sal	0,51	0,51
Metionina	0,29	0,29
Lisina	0,17	0,17
Treonina	0,04	0,04
Colina	0,05	0,05
Premix Vitamínico *	0,10	0,10
Premix Mineral**	0,05	0,05
Celite®	1,00	1,00
Total	100,00	100,00
<b>Composição química</b>		
EM (kcal/Kg)	3100	3100
PB (%)	21,00	21,00
Ca (%)	0,90	0,75
P disp. (%)	0,45	0,30
Na (%)	0,22	0,22
<b>Aminoácidos digestíveis</b>		
Lisina (%)	1,15	1,15
Metionina (%)	0,57	0,57
Met + Cis (%)	0,86	0,86
Treonina (%)	0,75	0,75
Triptofano (%)	0,23	0,23
Arginina (%)	1,34	1,34
Valina (%)	0,89	0,89

\*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.



**Tabela 4.** Tratamentos experimentais (experimento 1).

Tratamentos	Xilanase		Fitase	
	ppm	FXU/kg	ppm	FYT/kg
R0	0	0	0	0
R50	50	50	0	0
R100	100	100	0	0
R150	150	150	0	0
R0f	0	0	100	1000
R50f	50	50	100	1000
R100f	100	100	100	1000
R150f	150	150	100	1000

### 2.3.1.3. Ensaio de digestibilidade

Do primeiro dia de idade até o 14° as aves ingeriram uma dieta a base de milho e farelo de soja formulada de acordo com as Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (2011). Após o 15° dia de idade as aves começaram a ingerir as dietas experimentais. Durante o período experimental houve 5 dias de adaptação a dieta e posteriormente, durante 4 dias (21 aos 24 dias), foi realizada a amostragem de excretas pelo método de coleta parcial. A coleta foi realizada duas vezes ao dia, com auxílio de espátulas plásticas, sendo uma no período da manhã e outra no fim da tarde (as 9:00 e as 17:30 horas aproximadamente). Descartando-se as excretas próximas as gaiolas vizinhas, ao comedouro e ao bebedouro a fim de evitar contaminações. As excretas eram colocadas em sacos plásticos adequadamente identificados e imediatamente após a coleta, foram armazenadas em freezer - 18°C, para congelamento.

Para digestibilidade ileal da proteína, as aves foram abatidas por deslocamento cervical, evisceradas e posteriormente separou-se o intestino das mesmas. A fração ileal foi definida como 4 cm abaixo do divertículo de Meckel e 4 cm acima da junção íleo-ceco-cólica. Todo o conteúdo ileal foi retirado manualmente por compressão do íleo, com auxílio de tesouras e pinças e acondicionado em recipientes plásticos devidamente identificados. Em seguida, as amostras foram

congeladas instantaneamente em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -18°C.

#### **2.3.1.4. Análises químicas**

As excretas foram descongeladas em temperatura ambiente, homogeneizadas, retiradas subamostras e secas em estufa a 55°C até atingirem peso constante. O conteúdo ileal foi liofilizado em frascos previamente congelados à -20°C, sendo então colocados nas bandejas do liofilizador (Liofilizador ModulyoD, Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, USA) até a pressão de vácuo de  $5 \times 10^{-2}$  mbar. As amostras foram moídas em peneira 1 mm de diâmetro. Posteriormente, as excretas e as dietas experimentais, foram submetidas a análise de energia bruta (EB) em bomba calorimétrica (model 1261, Parr Instrument Co., Moline, IL). Outra fração da amostra, foi seca em estufa à 105°C para determinação da matéria seca (MS) (AOAC, 1995). O conteúdo de cinza insolúvel em ácido (CIA) das dietas, das excretas e do conteúdo ileal foram analisados segundo metodologia descrita por Scott e Boldaji (1997). As dietas e o conteúdo ileal foram analisados quanto à proteína bruta (PB) pelo método de Kjeldhal (AOAC, 1995).

A metabolizabilidade e digestibilidade das frações da dieta foram calculadas utilizando o fator de indigestibilidade (FI) ( $FI = CIA \text{ dieta} / CIA \text{ excreta}$ ). Para o coeficiente de metabolizabilidade aparente da MS (CMAMS =  $100 - FI$ ). Para energia metabolizável aparente (EMA) ( $EM = EB \text{ dieta} - (EB \text{ excretas} * FI)$ ). De forma semelhante a equação que foi utilizada para calcular o coeficiente de digestibilidade ileal aparente (CDAi) da PB foi ( $CDAiPB = (PB \text{ dieta} - (PB \text{ excretas} * FI)) / PB \text{ da dieta} * 100$ ).

#### **2.3.1.5. Análise estatística**

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) seguindo o esquema fatorial 2x4 ( $P \leq 0,05$ ) e quando a interação for significativa os dados serão submetidos a desdobramento pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Quando significativos para as variáveis quantitativas (níveis crescentes de inclusão de xilanase) foi feita regressão linear e quadrática.

A resposta a níveis crescentes de inclusão de xilanase deve seguir o mesmo modelo de todas as respostas biológicas. A partir de certa inclusão enzimática, o aproveitamento das dietas alcança um platô, não melhorando a uma com maior inclusão. Isso pode ser representado matematicamente pelo modelo de regressão segmentada que consiste em duas partes: uma linha inclinada, seguida de uma linha horizontal (platô), onde seus pontos de interseção vão determinar o ponto de quebra (ROBBINS, 1986), esse modelo pode ser chamado de *broken-line* ou de *Linear Response Plateau* (LRP). Portanto, também foi realizada regressão descontínua utilizando Linear Response Plateau (LRP) do software estatístico SAS 9.0, verificando para qual nível de xilanase houve a máxima resposta.

### **2.3.2. EXPERIMENTO 2 – Digestibilidade e metabolizabilidade do milho suplementado com xilanase e fitase**

#### **2.3.2.1. Animais e local do experimento**

Foram utilizados 560 pintos de corte da linhagem Cobb® de 1 dia de idade, alojadas em gaiolas metabólicas com as mesmas condições do experimento 1.

#### **2.3.2.2. Delineamento experimental e dietas**

Todas as aves receberam a mesma dieta até os 14 dias de idade, sendo iniciado o fornecimento das dietas experimentais no 15º dia. Para o ensaio de digestibilidade do milho foi utilizado um delineamento experimental semelhante ao experimento 1 conforme tabela 5. Entretanto, a dieta basal foi substituída por milho suplementado com calcário, fosfato e premixes vitamínico e mineral para atender a necessidade nutricional de minerais e vitaminas seguindo as recomendações das Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (2011), conforme tabela 6. A composição química analisada do milho está na tabela 7.

As enzimas foram adicionadas na dieta de maneira *on top* na dieta. A xilanase não foi considerada na matriz de nutrientes. Entretanto com a adição da fitase foi reduzido os níveis de fósforo em 0,15% e de cálcio 0,15% na dieta.

**Tabela 5.** Tratamentos experimentais (experimento 2).

Tratamentos	Xilanase		Fitase	
	ppm	FXU/Kg	ppm	FYT/kg
M0	0	0	0	0
M50	50	50	0	0
M100	100	100	0	0
M150	150	150	0	0
M0f	0	0	100	1000
M50f	50	50	100	1000
M100f	100	100	100	1000
M150f	150	150	100	1000

**Tabela 6.** Ingredientes e composição química das dietas experimentais do experimento 2.

Ingredientes	Milho sem fitase	Milho com fitase
Milho	95,15	95,85
Fosfato	2,30	1,48
Calcario	1,00	1,11
Sal	0,40	0,40
Premix Vitamínico *	0,10	0,10
Premix Mineral**	0,05	0,05
Celite®	1,00	1,00
Total	100,00	100,00
Composição química		
EM (kcal/Kg)	3110	3133
PB (%)	7,52	7,52
Ca (%)	0,93	0,78
P disp. (%)	0,50	0,35

\*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.

**Tabela 7.** Composição química analisada do milho utilizado nas dietas experimentais

<b>Composição química</b>	<b>% da matéria seca</b>
Matéria seca	87,05
Proteína Bruta	7,45
Fibra Total	8,65
Fibra Insolúvel	7,55
Fibra solúvel	1,10
Amido total	78,00
Amilose na amostra	18,74
Amilose no amido	24,00
Cinzas	1,00
Cálcio	0,03
Fósforo	0,22

### **2.3.2.3. Ensaio de digestibilidade, Análises químicas e Análises estatísticas**

O ensaio de digestibilidade, as análises laboratoriais e estatísticas foram realizados da mesma maneira do experimento 1.

## 2.4. RESULTADOS

### 2.4.1. EXPERIMENTO 1 – Digestibilidade e metabolizabilidade da dieta suplementado com xilanase e fitase

Foram encontradas interações entre as enzimas ( $P < 0,05$ ) (fitase e xilanase) para coeficientes de metabolizabilidade aparente da matéria seca (CMAMS) e para energia metabolizável aparente (EMA) da ração, conforme tabela 7. Entretanto, não houve interação entre as enzimas para o coeficiente de digestibilidade aparente ileal da proteína bruta ( $P > 0,05$ ) (CDAiPB), havendo apenas efeito isolado, tanto da xilanase, quanto da fitase para essa variável.

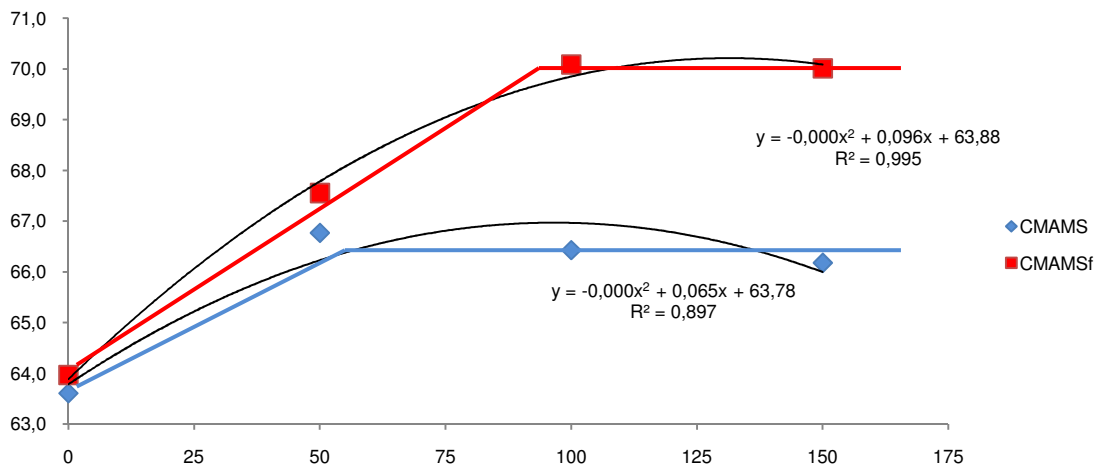
**Tabela 8.** Coeficiente de metabolizabilidade aparente da matéria seca (CMAMS), energia metabolizável aparente (EMA) e coeficiente de digestibilidade aparente ileal da proteína bruta (CDAiPB) dos crescentes níveis de inclusão de xilanase sem e com inclusão de fitase (s/ f e c/ f, respectivamente) na ração.

Xilanase (ppm)	CMAMS (%)		EMA (Kcal/Kg de MS)		CDAiPB(%)	
	s/ f	c/ f	s/ f	c/ f	s/ f	c/ f
0	63,6B	64,0B	3248	3272C	74,6	78,1
50	66,8A	67,5A	3308	3347B	75,8	79,1
100	66,4Ab	70,1Aa	3337b	3595Aa	76,6	83,1
150	66,2Ab	70,0Aa	3328b	3606Aa	77,6	83,1
<b>EPM*</b>	0,324		17,71		0,654	
<b>Probabilidades</b>						
<b>Fatorial</b>						
Fitase(A)	<0,001		<0,001		<0,001	
Xilanase (B)	<0,001		<0,001		0,013	
A*B	<0,001		<0,001		0,510	
<b>Regressão</b>						
Linear	0,006	<0,001	0,006	<0,001	0,181	0,002
Quadrática	0,005	<0,001	0,112	0,145	0,945	0,651
<b>LRP**</b>	0,014***	0,014****	0,091	0,238	0,074	0,063

Letras minúsculas diferem entre si na linha e letras maiúsculas na coluna ao teste de tukey ( $p < 0,05$ ). \* Erro padrão da média; \*\* Linear Response Plateau; \*\*\*dose máxima de xilanase 50 ppm com CMAMS de 66,4; \*\*\*\* dose máxima de xilanase 86 ppm com CMAMS de 70,0.

Não foram encontradas diferenças entre o CMAMS com ou sem fitase, até a dose de 50 ppm de xilanase. Entretanto, a partir da dose de 100 ppm de xilanase a inclusão de fitase melhora esse coeficiente na dieta ( $P < 0,05$ ).

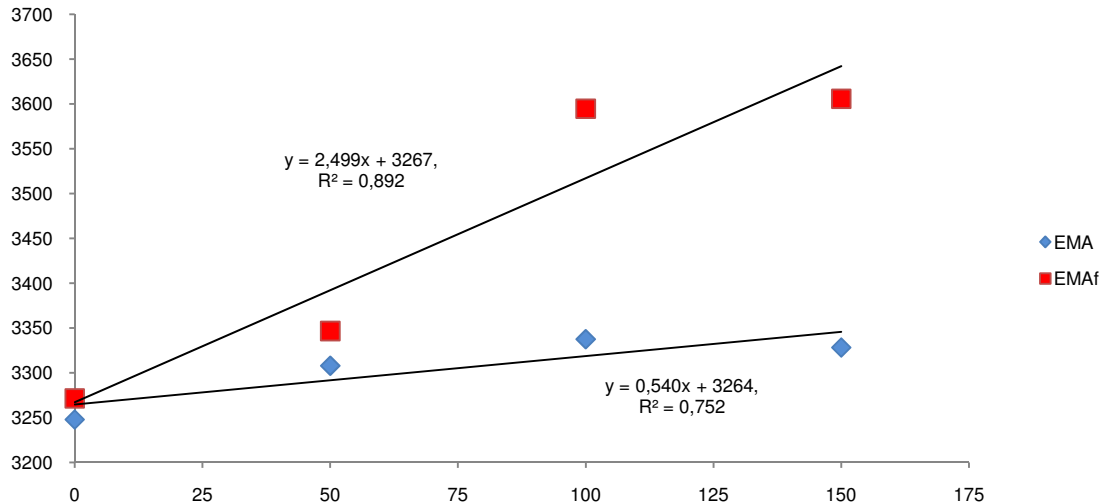
Foi observado efeito quadrático no CMAMS em resposta aos níveis crescentes de xilanase com ou sem a fitase, conforme figura 2. Todavia, também foi encontrado também efeito LRP, em CMAMS sem fitase respondendo linearmente até 66,4% a uma dose de 50 ppm de xilanase e CMAMS com fitase até 70,0% com dose de 86 ppm de xilanase. Essa resposta pode evidenciar um efeito aditivo das enzimas.



**Figura 1.** Coeficientes de metabolizabilidade aparente da matéria seca da ração com níveis crescentes de xilanase sem e com inclusão de fitase (CMAMS e CMAMSf, respectivamente); Linear Response Plateau com dose máxima de xilanase 50 ppm com CMAMS de 66,4 e com dose máxima de xilanase 86 ppm com CMAMSf de 70,0.

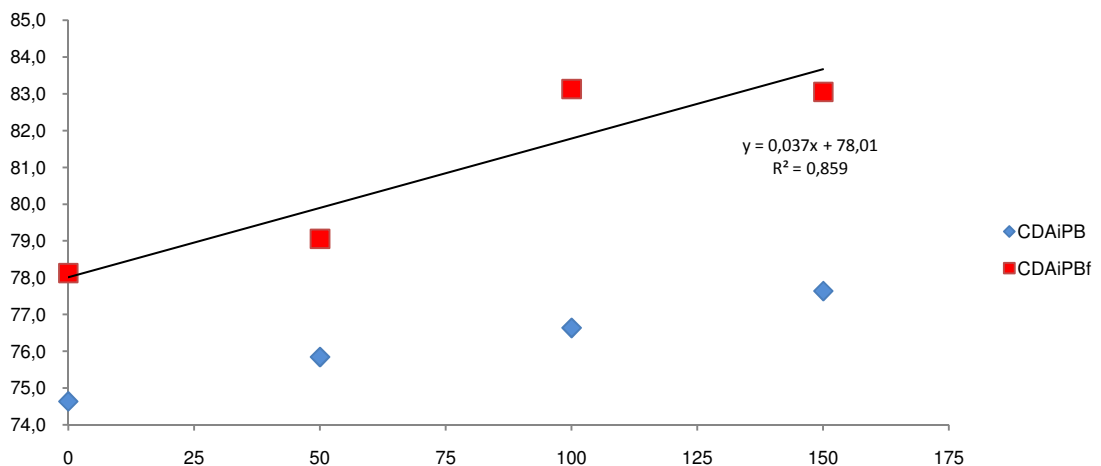
Semelhantemente ao CMAMS, não houve diferenças entre sem e com fitase na EMA até a dose de 50 ppm de xilanase. Porém, quando a dose aumentou para 100 ppm de xilanase, a inclusão de fitase melhorou a EMA da dieta ( $P < 0,05$ ).

A EMA apresentou resposta linear aos níveis crescentes de xilanase com ou sem a fitase, conforme figura 3. Entretanto o coeficiente de inclinação (b) da reta da EMA com fitase é maior, isso evidencia uma maior resposta a inclusão dos níveis crescentes de xilanase comparada a sem fitase.



**Figura 2.** Energia metabolizável aparente da ração com níveis crescentes de xilanase sem e com inclusão de fitase (EMA e EMAf, respectivamente).

A inclusão de fitase também melhorou CDAiPB da ração. Houve efeito positivo também da xilanase no CDAiPB da dietas. O CDAiPB da dieta com fitase respondeu linearmente aos níveis crescentes de xilanase, conforme (figura 4). Entretanto, o CDAiPB não respondeu as diferentes doses de xilanase quando não foi adicionada a fitase. Porém apesar de não haver resposta linear, houve um acréscimo de 3,0% com a maior dose (150 ppm).



**Figura 3.** Coeficiente de digestibilidade aparente ileal da proteína bruta da ração com níveis crescentes de xilanase sem e com inclusão de fitase (CDAiPB e CDAiPBf, respectivamente).



## 2.4.2. EXPERIMENTO 2 – Digestibilidade e metabolizabilidade do milho suplementado com xilanase e fitase

Não foram encontradas interações ( $p>0,05$ ) entre as enzimas adicionadas ao milho conforme tabela 8. Para os CMAMS e para EMA do milho, o efeito das enzimas foi positivo ( $p<0,05$ ). Para CDAiPB do milho foi encontrado melhora somente com a adição da fitase.

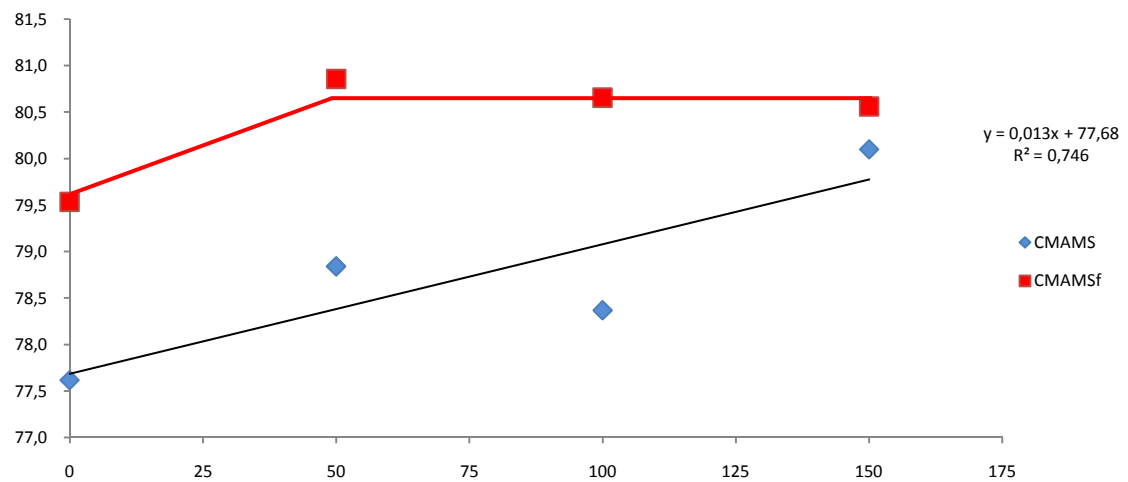
**Tabela 9** - Coeficientes de metabolizabilidade aparente da matéria seca (CMAMS), energia metabolizável aparente (EMA) e coeficiente de digestibilidade aparente ileal da proteína Bruta (CDAiPB) dos crescentes níveis de inclusão de xilanase sem e com inclusão de fitase (s/ f e c/ f, respectivamente) no milho.

Xilanase (ppm)	CMAMS (%)		EMA (Kcal/Kg de MS)		CDAiPB (%)	
	s/ f	c/ f	s/ f	c/ f	s/ f	c/ f
0	77,6	79,5	3430	3574	78,0	82,9
50	78,8	80,9	3516	3673	80,5	83,3
100	78,4	80,7	3544	3671	80,7	83,1
150	80,1	80,6	3597	3662	82,6	83,5
<b>EPM*</b>	0,235		12,56		0,433	
<b>Probabilidades</b>						
<b>Fatorial</b>						
Fitase (A)	<0,001		<0,001		<0,001	
Xilanase (B)	0,028		<0,001		0,054	
A*B	0,413		0,273		0,194	
<b>Regressão</b>						
Linear	0,015	0,250	<0,001	0,006	0,007	0,641
Quadrática	0,687	0,193	0,543	0,012	0,808	0,944
<b>LRP**</b>	0,281	0,019***	0,123	0,005****	0,135	0,225

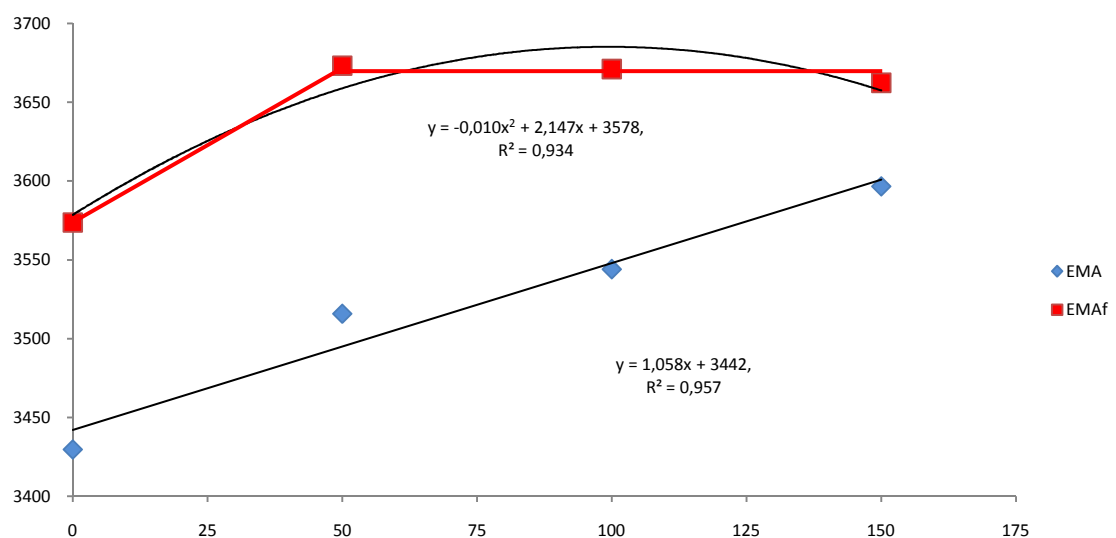
\* Erro padrão da média; \*\*Linear Response Plateau; \*\*\*dose máxima de xilanase 50 ppm com CMAMS de 80,7; \*\*\*\* dose máxima de xilanase 50 ppm com EMA 3668.

A resposta foi positiva a inclusão de crescentes níveis de xilanase no milho para CMAMS e CDAiPB sem fitase e para EMA com e sem fitase. O CMAMS sem inclusão de fitase respondeu linearmente a inclusão de xilanase (figura 5). Para CMAMS com fitase houve resposta LRP com platô em 80,7%, com dose máxima de

50 ppm de inclusão de xilanase. De maneira similar, a EMA sem fitase respondeu linearmente a inclusão de xilanase e a EMA com fitase foi observado efeito quadrático e LRP com platô em 3668, com dose de 50 ppm (figura 6). Esses resultados demonstram que com a inclusão de fitase a xilanase melhora sua atuação, porém alcança um platô, não respondendo a níveis acima de 50 ppm de xilanase.

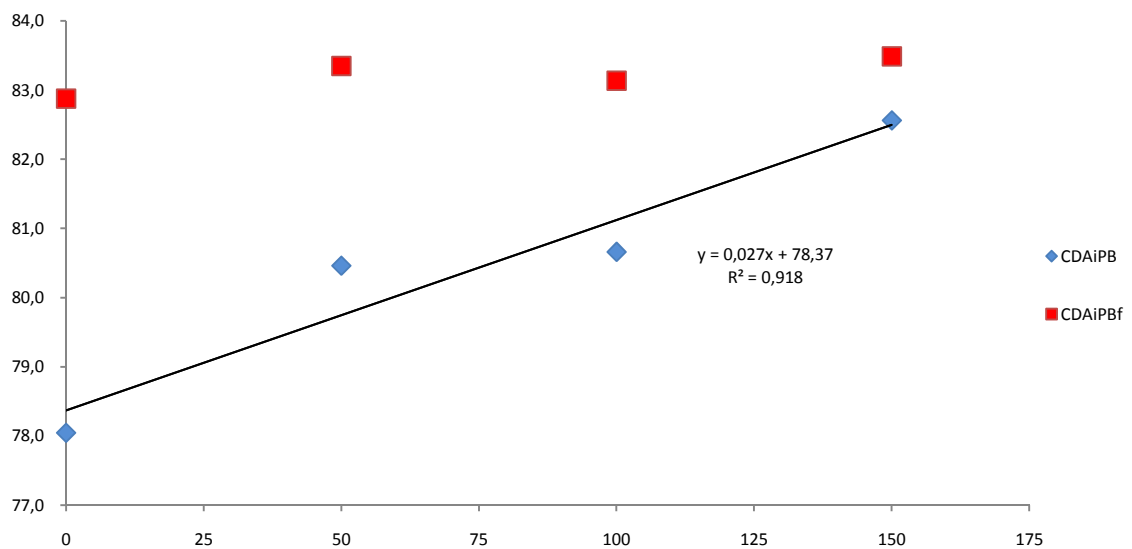


**Figura 4.** Coeficientes de metabolizabilidade aparente da matéria seca do milho com níveis crescentes de xilanase sem e com inclusão de fitase (CMAMS e CMAMSf, respectivamente). Linear Response Plateau com dose máxima de xilanase 50 ppm com CMAMSf de 80,7.



**Figura 5.** Energia metabolizável aparente do milho com níveis crescentes de xilanase sem e com inclusão de fitase (EMA e EMAf, respectivamente). Linear Response Plateau com dose máxima de xilanase 50 ppm com EMAf 3668.

Houve resposta linear do CDAiPB sem fitase aos níveis crescentes de xilanase (figura 7). Entretanto o efeito dos níveis crescentes de xilanase com a fitase não foi observado. Mesmo assim os resultados com a fitase foram superiores, demonstrando que a fitase apresenta melhores resultados mesmo estando sozinha. Esses resultados podem evidenciar interação entre os substratos das enzimas, tornando o efeito não adicional no milho.



**Figura 6.** Coeficiente de digestibilidade aparente ileal da proteína bruta do milho com níveis crescentes de xilanase sem e com inclusão de fitase (CDAiPB e CDAiPBf, respectivamente).

## 2.5. DISCUSSÃO

Nesse trabalho foi encontrado efeito aditivo da xilanase com a fitase na dieta. Esse efeito pode ter sido visualizado em função do fitato e alguns PNA solúveis estarem estreitamente relacionados (FROLICH, 1990). Cowieson e Adeola (2005), utilizando fitase associado com carboidrases relataram efeito semelhante ao encontrado no presente trabalho, com aumento no crescimento das aves com relação as que foram suplementadas somente com as enzimas isoladas. A utilização de proteases, amilase e celulasas permite a liberação do fitato e outros nutrientes, podendo facilitar a atuação da fitase (TEJEDOR et al., 2001). No entanto, Tiwari et al. (2010) afirmam que a maior parte do ganho no desempenho é devido a adição da fitase. Isso concorda com os resultados apresentados neste trabalho em que o efeito da fitase é maior do que o da xilanase.

Contraopondo o presente trabalho no qual foram encontradas interações para CMAMS e EMA, Leslie et al. (2007), não encontraram interações entre uma carboidrase (glucanase) e fitase na energia digestível (ED) e nem no coeficiente de digestibilidade da MS (CDMS) de dietas a base de milho e farelo de soja para frangos. Entretanto houve melhora da digestibilidade da energia e da MS quando adicionada a glucanase. O efeito positivo da fitase só foi relatado no CDMS.

Conte et. al. (2003), em um trabalho com dietas com baixo fósforo disponível, adicionando níveis crescentes de fitase (0, 400, 800, 1200 FTU/kg) sem e com inclusão de xilanase (1 kg/ton), também não encontraram interações entre as enzimas no desempenho de frangos de corte e nem nos parâmetros ósseos. Entretanto, os autores encontraram efeitos isolados. A inclusão de xilanase melhorou a conversão alimentar (CA) sem alterar os demais parâmetros de desempenho. E a inclusão de níveis crescentes de fitase proporcionou efeito linear para consumo de ração (CR) e ganho de peso (GP) e quadrático, para CA. A fitase também promoveu melhora linear da deposição de cinzas e P na tibia.

Os resultados positivos da adição de fitase na dieta no trabalho concordam com Tejedor et al. (2001), que com adicionando fitase (1 Kg/ton) encontraram um aumento ( $P < 0,05$ ), na digestibilidade ileal da MS, PB e EB em 5,2; 2,4; e 3,8%, respectivamente. Segundo os autores, estes resultados confirmam o efeito benéfico da fitase microbiana sobre a hidrólise do ácido fítico incrementando a digestibilidade

ileal de nutrientes das dietas de frangos. Em contrapartida, apesar de Lelis et al. (2010), encontrarem efeitos benéficos da enzima sobre EMA, no coeficiente de digestibilidade da PB (CDPB) e no coeficiente de digestibilidade do fósforo (CDP), adicionando 250 UFT e 500 UFT de fitase, não encontraram diferenças entre CDMS e no coeficiente de digestibilidade do Cálcio (CDCa) em frangos.

O efeito da xilanase no CMAMS concorda com Barbosa et al. (2008), que ao incluir um complexo multienzimático (650 U/kg de xilanase, 1.650 U/kg de amilase e 4.000 U/kg de protease; e fitase composta de 500 U/kg), também não encontraram diferenças no CDMS e nem CDCa. Entretanto, os mesmos autores encontram efeitos positivos das enzimas no CDPB, no CDP e na ED das dietas. Um efeito similar foi encontrado por Fukayama et al. (2008) que adicionando 0, 500, 750 e 1000 UFT/kg de ração não encontraram efeito linear na ED das dietas, porém observaram aumento de 3,66% quando é adicionado a maior dose de fitase na dieta. Esses dados condescendem os encontrados no presente estudo e com Tejedor et al. (2001), que encontraram incremento de 121 Kcal/kg na MS o que corresponde a 3,8% na ED com a inclusão de fitase.

Também foi encontrado melhora de 108 Kcal/kg, ou 3,2%, na ED de dietas a base de milho e farelo de soja suplementadas com xilanase, (COWIESON et al., 2010). Aftab (2012), em uma revisão relatou melhora de 2,2 a 5,3% na EM de dietas a base de milho e farelo de soja quando adicionados complexos enzimáticos que continham xilanase para frangos.

Houve efeito isolado das enzimas no CDAiPB, o efeito da fitase concorda com Valle (2010) que encontrou melhora de 3,46 % no CDAiPB de frangos aos 42 dias de idade com de redução nos níveis nutricionais com inclusão de 750 FYT/kg de fitase na ração. Provavelmente, tais resultados foram alcançados porque os aminoácidos que estavam ligados às moléculas do hexafosfato inositol foram liberados para sofrer o processo de digestão quando o fitato foi hidrolisado pela fitase suplementada na dieta das aves (SELLE e RAVINDRAN, 2007). Cowieson et al. (2009) sugerem que o melhor aproveitamento da proteína se deve à redução na perda endógena de nitrogênio em forma de mucinas quando hidrolisa as moléculas de fitato que agredem a mucosa. Porém, a melhora na digestibilidade de aminoácidos com a utilização de fitase são questionados por Adeola e Sands (2003) e por BOLING et al (2001) que afirmam que a suplementação de dietas com fitase não melhoram a digestibilidade ileal dos aminoácidos.

Os efeitos da xilanase no CDAiPB da dieta concordam com Cowieson et al. (2010), que encontraram melhora de 3,3% em dietas a base de milho e farelo de soja suplementadas com xilanase. Similarmente, utilizando complexos enzimáticos contendo xilanase foram encontrados melhora de 5,5 e 7,1% no CDAiPB das dietas (MENG e SLOMINSKI, 2005; RUTHERFURD et al., 2007).

Os resultados apresentados para o milho corroboram com Ravindran et al. (1999) que afirma que a fitase foi efetiva em um estudo em que os autores forneceram a enzima em dietas semi-purificadas e obtiveram melhora significativa na digestibilidade ileal de proteína e aminoácidos não só do milho, mas também de outros ingredientes. Entretanto similarmente ao observado no CDAiPB no milho, Olukosi et al. (2010) relataram que a inclusão da fitase com carboidrase não alcançou melhores resultados que a fitase sozinha. Ghorbani et al. (2009) também não encontraram melhorias na composição de carcaça adicionando as enzimas simultaneamente.

Entretanto, no milho, a resposta máxima para CMAMS e EMA com fitase é na inclusão 50 ppm de xilanase, isso pode evidenciar que as enzimas atuam em outros ingredientes da dieta, causando um efeito aditivo das enzimas na dieta. Isso pode ser devido a baixa presença de PNA solúveis no milho (0,1%) (CHOCT, 1997). Por outro lado, segundo o mesmo autor, a soja tem concentrações consideráveis desse composto (2,7%), podendo justificar o efeito positivo da xilanase na dieta.

## 2.6. CONCLUSÃO

A interação entre os níveis de xilanase e a fitase foi positiva na dieta, demonstrando no CMAMS e na EMA da dieta que as duas enzimas juntas apresentam vantagem com relação a elas sozinhas. Entretanto para CDAiPB, foi observado apenas efeito isolado da enzimas.

No milho não houve interações entre as enzimas. Porém houve efeito positivo da xilanase e da fitase no CMAMS e na EMA. Entretanto, o benefício causado com as enzimas atuando de maneira conjunta foi limitado, causando um efeito positivo somente até a dose de 50 ppm de xilanase. Essa resposta que foi observada no milho poderia em dietas comerciais dependendo das enzimas utilizadas e dos substratos presentes na dieta.

## 2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEOLA, O., AND J. S. SANDS. Does supplemented dietary microbial phytase improve amino acid utilization? A perspective that it does not. **Journal Animal Science**. 81(E. Suppl. 2):E78–E85. 2003.

AFTAB, U. Exogenous carbohydrase in corn-soy diets for broilers. **World's Poultry Science Journal**.v.68, p.447-464, 2012.

ANNISON, G.; CHOCT, M. Anti-nutritive activities of cereal non-starchpolysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects. **World's Poultry Science Journal**. v. 47, p.232-242, 1991.

ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS \$ AOAC. Official and tentative methods of analysis, 16.ed. AOAC, Washington, DC, USA, 1995

BARBOZA, W.A. e ROSTAGNO, H.S. Exigências nutricionais de lisina para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, v.4, 1998, Botucatu, Anais... Botucatu:SBZ, 1998. p.499-501.

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

BEDFORD, M.R. e MORGAN, A.J. The use ofenzymes in poultry diets. **World's Poult. Sci. J.**, v.52, p.61-68, 1996.

BIEHL, R. R., D. H. BAKER, and H. F. DELUCA. 1998. Activity of various vitamin D3 analogs for improving phosphorus utilization in chicks receiving diets adequate in vitamin D3. *Br. Poult. Sci.* 39:408–412.

BOLING, S. D.; PETER, C.M.; DOUGLAS,M. W.; SNOW,J. L.; PARSONS,C. M.; BAKER,D. H. Efficacy of phytase for increasing protein efficiency ratio values of feed ingredients. **Poultry Science**. v.80:1578–1584. 2001.

CARRÉ, B. Causes for variation in digestibility of starch among feedstuffs. **Poultry Science**. v.60 p. 76-89, 2004.



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

CONTE, A. J. ; TEIXEIRA, A. S. ; FIALHO, E. T. ; SCHOULTEN, N. A. ; BERTECHINI, A. G. Effect of phytase and xylanase on the performance and bone characteristics of broiler chicks fed diets with rice bran. *Rev. Bras. Zootec.*, 32 (5): 1147-1156, 2003.

COWIESON, A.J.; ADEOLA, O. Carbohydrase, protease and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. *Poult. Sci.*, 84: 1860-1867. 2005.

COWIESON, A.J., BEDFORD, M.R., SELLE, P.H. et al. Phytate and microbial phytase: implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. *World's Poultry Science Journal*, v.65, p.401-18, 2009.

COWIESON, A.J., BEDFORD, M.R., RAVINDRAN, V. Interaction between xylanase and glucanase in maize-soy-based diets for broilers. *British Poultry Science*, v.51, p.246-257, 2010.

FIREMAN, A.K.B.A.T.; FIREMAN, F.A.T. Fitase na alimentação de poedeiras. *Revista Ciência Rural*, v.28, n.3, p. 529-53, 1998.

FROLICH, W. 1990. Chelating properties of dietary fiber and phytate. The role for mineral availability. Pages 83–93 in *New Developments in Dietary Fiber*. I. Furda and C. J. Brine, ed. Plenum Press, New York, NY.

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

GRACIA, M.I. et al.  $\alpha$ -amilase supplementation of broiler diets based on corn. **World's Poultry Science Journal**. v.82, p.436-442, 2003.

GHORBANI, M.R.; FAYAZI, J.; CHAJI, M. Effect of dietary phytase and NSP-degrading enzymes in diets containing rapeseed meal on broiler performance and carcass characteristics. *Res. J. Bio. Sci.*, 4: 258-264. 2009.

KORNEGAY, E. T. Effect of Phytase on the bioavailability of phosphorus, calcium, amino acids, and trace minerals in broilers and turkeys. BASF Technical Symposium. World Congress Center, Atlanta, Georgia. January 23, p. 39-70, 1996.

LELIS, G.R.; ALBINO, L.F.T.; SILVA, C.R.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES, P.C. BORSATTO, C.G. Suplementação dietética de fitase sobre metabolismo de nutrientes de frangos de corte. R. Bras. Zootec., v.39, n.8, p.1768-1773, 2010.

LESLIE, M.A. et al. The effect of phytase and glucanase on the ileal digestible energy of corn and soybean meal fed to broilers. **Poultry Science**, v.86, p.2350-2357, 2007.

MENG, X.; SLOMINSKI, B.A. Nutritive value of corn, soybean meal, canola meal, and peas for broilers chickens as affect by multi-carbohydrase preparation of cell wall degrading enzymes. Poultry Science, v.84, p.1242-1251, 2005.

NELSON, T. S. The utilization of phytate phosphorus by poultry—A review. Poult. Sci. 46:862–871.1967.

NEWMAN, K. Phytase: The enzyme, its origin e characteristics: impact e potential for increasing phosphorus availability. In: Biotechnology in feed industry. Proceedings of Alltech's seventh annual symposium. Edt. Y. P. Lyons. Alltech Technical Publications, Nicholasville, Kentucky. p. 169-177, 1991.

NIAN, F.; GUO, Y.M.; RU, Y.J.; LI, F.D; PÉRON,A. Effect of exogenous xylanase supplementation on performance, net energy and gut microflora of broiler chickens fed wheat-based diets. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 24(3):400-406, 2011.

OLUKOSI, O.A.; SANDS, J.S.; ADEOLA O. Broiler individually or in combination in Ven Cobb broilerresponses to supplementation of phytase and admixture of carbohydrases and protease in maize-soyabean meal diets with or without maizedistillers' dried grain with solubles. Br. Poult. Sci., 51: 434-443. 2010.

ONYANGO, E.M.; BEDFORD, M.R.; ADEOLA, O. Efficacy of an evolved Escherichia coli phytase in diets of broiler chicks. Poult. Sci., v.84, p.248-255, 2005.

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.

RAVINDRAN, V., CABAUG, S., RAVINDRAN, G., et al. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broiler. *Poultry Science*, v.78, p.699-706. 1999.

REDDY, N. R., S. K. Sathe, and D. K. Salunkhe. 1982. Phytates in legumes and cereals. *Adv. Food Sci.* 28:1–92.

ROBBINS, K.L. A method, SAS program, and example for fitting the broken-line to growth data. Tennessee: University of Tennessee, Agricultural Experiment Station, 1986. 8p. (Research Report 86/09).

Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos. ROSTAGNO, H.S. et al. Tabelas Brasileiras de Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV, 2011. 252p

RUTHERFURD, S.M.; CHUNG, T.K. MOUGHAN, P.J. The effect of commercial enzyme preparation on apparent metabolizable energy, true ileal amino acid digestibility, and exogenous ileal lysine losses in broilers chickens. *Poultry Science*, v.85, p.665-672, 2007.

SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. Review. *Animal Feed Science and Technology*. 135. 1-41, 2007.

SJÖSTRÖM, E. **Wood Chemistry: Fundamentals and Applications**, 2nd edn. Academic Press, New York, p. 63–70., 1993.

SCOTT, T.A.; BOLDAJI, F. Comparison of inert markers [chromic oxide or insoluble ash (Celite™)] for determining apparent metabolizable energy of wheat- or barley-based broiler diets with or without enzymes. *Poultry Science*, v.76, p.594-598, 1997.

SORBARA, J.O.B. **Carboidrases em programas enzimáticos de rações para frangos de corte**. 2008. 71f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá.

TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; LIMA, C.A.R.; VIEITES, F.M. Efeito da adição de enzimas em dietas de frangos de corte à base de milho e farelo de soja sobre a digestibilidade ileal de nutrientes. *Rev. bras. zootec.*, 30(3):809-816, 2001.

TIWARI, S.P.; GENDLEY, M.K.; PATHAK, A.K.; GUPTA, R. Influence of an enzyme cocktail and phytase individually or in combination in Ven Cobb broiler responses to supplementation of phytase and chickens. *Br. Poult. Sci.*, 51: 92-100. 2010.

VALLE, F.L.P. Uso de fitase comerciais para frangos de corte contendo ou não ingredientes de origem animal. 2010. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná.

WYATT, C. et al. Mechanisms of action for supplemental NSP and phytase enzymes in poultry diets. In: *Poult. Nutr. Conf.* 35, 2008. Carolina Feed Ind. Assoc. Raleigh, NC. p.1-11, 2008.

## CAPÍTULO 3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

### 3.1. DIGESTIBILIDADE DO MILHO

#### 3.1.2. Escolha do método

O presente trabalho é parte de um projeto maior de desenvolvimento de complexo multienzimático baseado em xilanase, amilases e fitase.

Como se desejava saber além da digestibilidade da dieta, a digestibilidade do milho isolado. Para isso, utilizou-se a metodologia descrita por Matterson et al. (1965). Essa metodologia baseia-se na substituição de uma fração da dieta, pelo ingrediente/alimento teste. São calculadas as digestibilidades de ambas dietas (convencional e a com substituição) e a diferença entre elas é atribuída ao ingrediente/alimento testado.

Porém essa metodologia apresentou algumas limitações em nosso trabalho. Quando se obteve os resultados observou-se que não havia nada semelhante na literatura, logo se notou que algo havia ocorrido. Algumas hipóteses surgiram:

- 1) A dieta fornecida era composta a base de milho e farelo de soja (cerca de 56% de milho e 34% de soja). A dieta teste foi 60% da dieta convencional e 40% de substituição por milho. Portanto na fórmula proposta na metodologia descrita utilizou-se 40%. Entretanto, a inclusão do milho não foi somente de 40%, foi isso mais a quantidade presente já na dieta (60% de dieta convencional X 56% de inclusão milho = 33,6% de milho). Somando-se os 40% adicionados com o que já estava na dieta (33,6%), totaliza-se 73,6%. Isso pode ser a causa de erros nos cálculos de digestibilidade do milho.
- 2) A metodologia proposta é muito sensível a pequenas variações atribuindo essa variação a digestibilidade do ingrediente. Um exemplo disso pode ser visualizado em variação dentro da análise. Uma alteração na proteína bruta analisada de 22% para 23%, a digestibilidade aumenta em três pontos percentuais a digestibilidade do ingrediente, conforme tabela 9. Para frações menores a variação ainda é maior. Por exemplo, o extrato etéreo analisado 6,6% reduzido para 5% a digestibilidade do

alimento/ingrediente altera em 7%. O aproveitamento do ingrediente pode ainda ter maior erro quando se considera que foi utilizado cinza insolúvel ácida como indicador. Em uma variação de 0,63% a 0,70%, foi o suficiente para alterar em 6 pontos percentuais. Os resultados demonstrados são variações normais de laboratório, entretanto esses erros somados foram suficientes para prejudicar os resultados de digestibilidade do milho.

**Tabela 10.** Variações da análises químicas e resultado na digestibilidade utilizando Matterson et al. (1965).

Variável	Variação na análise		Variação na digestibilidade
	De	Para	
PB	22%	23%	3%
EE	5,0%	6,6%	7%
CIA	0,63%	0,70%	6%

Devido a essas considerações optou-se por utilizar a digestibilidade do milho, somente com o milho isolado.

### 3.1.2. Limitações da metodologia escolhida

O método escolhido foi o da substituição total da dieta pelo ingrediente teste, para o cálculo da digestibilidade do milho. Porém como toda a metodologia apresenta limitações, dentre elas:

- 1) Os animais ficaram fisiologicamente diferentes após a semana de adaptação. Como as aves estavam em fase de crescimento e a dieta era composta somente de milho mais os minerais e vitaminas, havia déficit de nutrientes, principalmente de proteínas. Isso limitou o crescimento dos animais, tornando-os visivelmente menores do que os que estavam ingerindo a dieta convencional. Portanto as aves não estavam na mesma idade fisiológica do que estariam com a dieta convencional.

- 2) Como havia déficit de nutrientes na dieta havia falta de proteínas. Essa falta de proteínas poderia ocasionar uma falta de aminoácidos para a síntese de enzimas endógenas o que pode alterar completamente a digestibilidade do ingrediente.

Existem algumas soluções parciais que podem criar outros problemas para a metodologia. Um exemplo é colocar alguma fonte protéica na dieta para evitar o déficit de aminoácidos para a síntese de enzimas. Isso poderia ser feito, porém teria que ser uma proteína de altíssima digestibilidade e de alto valor biológico para que não altere os resultados de digestibilidade do milho.

### **3.2. ADITIVIDADE DAS ENZIMAS**

O efeito aditivo das enzimas pode ser visualizados tanto na dieta quanto no milho. Porém a partir de 50 ppm de xilanase não houve resposta. Isso ocorreu porque pode ter havia uma falta de substrato para enzima atuar. Da mesma maneira que ocorreu no presente trabalho com o milho, pode ocorrer com outras enzimas na dieta. Em que não há uma resposta a adição de mais enzima devido a presença de outra que possa estar atuando em substratos interligados.

Portanto, antes de adicionar enzima na dieta deve haver um estudo da viabilidade dessas. Considerando tanto os ingredientes e sua composição (substratos das enzimas) quanto a interação delas com outras enzimas já presentes na dieta. Dessa maneira evita-se desperdiçar dinheiro com enzimas desnecessárias.

### **3.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

MATTERSON, L.D.; POTTER, L.M.; STUTZ, M.W. The metabolizable energy of feed ingredients for chickens. Agricultural Experimental Station Research Report, v.7, p.3-11, 1965.