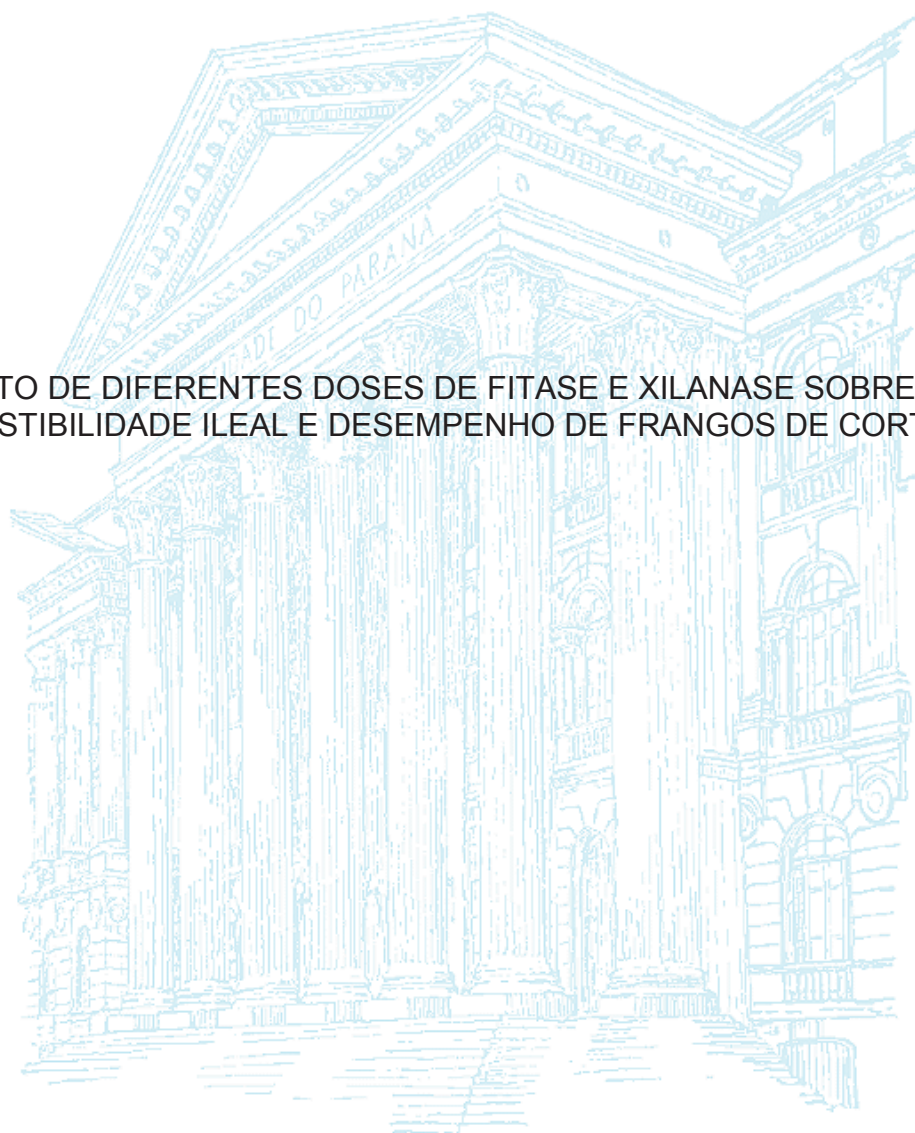


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PRISCILA RAIJCHE DE OLIVEIRA

EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE FITASE E XILANASE SOBRE A  
DIGESTIBILIDADE ILEAL E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE



CURITIBA  
2019

PRISCILA RAIJCHE DE OLIVEIRA

EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE FITASE E XILANASE SOBRE A  
DIGESTIBILIDADE ILEAL E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação  
em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias,  
Universidade Federal do Paraná, como requisito  
parcial à obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Alex Maiorka

CURITIBA

2019

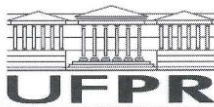
OL48e Oliveira, Priscila Rajjche de  
Efeito de diferentes doses de fitase e xilanase sobre a digestibilidade ileal e desempenho de frangos de corte / Priscila Rajjche de Oliveira. - Curitiba, 2019.  
57 p.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

Orientador: Alex Maiorka

1. Frango de corte – Alimentação e rações. 2. Enzimas. 3. Nutrição animal. I. Maiorka, Alex. II. Título. III. Universidade Federal do Paraná.

CDU 636.52/.58



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ZOOTECNIA -  
40001016082P0

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **PRISCILA RAJCHE DE OLIVEIRA** intitulada: **Efeito de diferentes doses de fitase e xilanase sobre a digestibilidade ileal e desempenho de frangos de corte**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 28 de Fevereiro de 2019.

  
ALEX MAIORKA

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

  
ANTÔNIO JOÃO SCANDOLERA

Avaliador Externo (UFPR)

  
LUIS DANIEL GIUSTI BRUNO

Avaliador Externo (UNIOESTE)

Dedico aos meus pais, que sempre me apoiaram a seguir meus sonhos. Vocês sempre serão o meu maior exemplo e o melhor de mim.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente aos meus pais: à minha mãe, marize, pelo apoio, confiança e por ser a melhor amiga que alguém poderia ter. Ao meu pai Walter, por todo o apoio e amor. Espero que um dia vocês tenham por mim o mesmo orgulho e admiração que tenho por vocês. Muito obrigado por tudo!

Ao meu orientador, Alex Maiorka, por ter me dado a oportunidade de fazer parte desse grupo incrível, pela orientação, preocupação e todos os conselhos, muito obrigado!

Aos meus amigos de colégio, Tati, Dyego, Marzia e Paola, que vêm me apoiando desde cedo.

Aos meus amigos de UFSC, Babi, Beni, Nico, Bá, Nina, Thai, Woody e Léo, que mesmo de longe fazem meus dias mais alegres.

Às minhas lindas amigas Manu e Rosi, que fizeram esses dois anos serem tão especiais e passarem tão rápido. Vocês são incríveis!

À minha querida amiga Josi, que inicialmente me adotou no LEPNAN e me ensinou muito do que sei hoje! Muito obrigado pelos ensinamentos e toda a ajuda!

Aos meus colegas de mestrado e doutorado do LEPNAN, Léo, Kariny, Gabi, Filipe, Fran, Marley, Barrilli, Nego, Mel, Ronan e Massu. E claro, aos melhores estagiários que tive o prazer de trabalhar, Alex, Thi, Nalesso, Gege, Isa, Josieder e Luís. Nunca foi tão divertido pesar frango! Certamente sentirei falta dos tempos de fazenda com vocês!

Aos professores do LEPNAN, Simone, Ananda, Chay e Scandolera que sempre nos ajudaram no que puderam.

Ao pessoal do Laboratório de Nutrição Animal, Cleusa, Hair, Ruy, Marcelo e Aldo, obrigado por toda a ajuda e paciência!

Ao Sr. Ismael, por toda a ajuda na fábrica de rações.

A todos que fizeram parte de alguma forma na minha vida, seja com conselhos, amizade e parcerias, ou apenas acreditando em mim, o meu muito obrigada!

**A TODOS VOCÊS O MEU MUITO OBRIGADO!**

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”. (Madre Teresa de Calcuta)

## RESUMO

O fósforo é um nutriente essencial para a manutenção e crescimento das aves, no entanto em dietas à base de milho e farelo de soja a maior parte do fósforo está indisponível, o que pode reduzir o desempenho dos animais. Neste contexto, a suplementação de fitase pode superar esses efeitos antinutricionais. Outra ferramenta possível é a associação entre enzimas, como a xilanase, como forma de maximizar a utilização dos nutrientes oriundos da dieta. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar diferentes inclusões de fitase associadas ou não à xilanase no desempenho e digestibilidade ileal de frangos de corte. Um total de 1.120 machos Cobb de um dia de idade foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, em quatro tratamentos e dez repetições de 28 aves cada, em arranjo fatorial 2 x 2 (2 níveis de fitase: 500 ou 1.500 FTU / kg, com ou sem 9.600 BXU / kg de xilanase). As rações e os animais foram pesados no momento do alojamento e aos 7, 21, 35 e 40 dias de idade para determinar o consumo de ração (CMR), ganho de peso corporal médio (GPM) e conversão alimentar (CA). No 21º dia de experimento, 40 aves por tratamento, sendo cada 4 aves a unidade experimental, foram eutanasiadas via deslocamento cervical e evisceradas para coleta de conteúdo ileal e avaliação de digestibilidade (MS, PB, EE e EDI). Os dados foram submetidos à análise de variância ( $p < 0,05$ ) e, quando significativas, as médias foram submetidas ao teste de Tukey a 5% de probabilidade. Não foram observados efeitos para fitase, xilanase e interação entre as enzimas no GPM e CMR ao longo de todo o período ( $p > 0,05$ ). No entanto, quando comparado com 500 FTU de fitase, o uso de 1.500 FTU melhorou significativamente a CA ( $p < 0,05$ ) durante 1-7, 1-21 e 1-34 dias. A maior dose de xilanase melhorou a digestibilidade da PB e EDI em 4,37% e 8,67%, assim como a maior dose de fitase melhorou em 5,53% a digestibilidade da PB. Estes resultados indicaram que a suplementação de fitase e xilanase podem melhorar digestibilidade e conversão alimentar de frangos de corte.

**Palavras-chave:** Conversão alimentar; Enzimas; Fatores antinutricionais.



## ABSTRACT

Phosphorus is an essential nutrient for poultry's maintenance and growth, however on corn-soybean meal diets most part of phosphorus are in the form of phytate, that is not digestible for broilers and consequently reduce animal's performance. The supplementation of phytase associated to other enzymes can overcome these anti-nutritional effects and improve broiler's performance. Thus, the goal of this study was to evaluate different phytase inclusions associated or not to xylanase on broiler's performance and ileal digestibility. A total of 1,120 Cobb one-day-old male were distributed in a completely randomized design, into 4 treatments (T) and 10 replicates of 28 birds on pen in a 2x2 factorial arrangement (2 levels of phytase: 500 or 1,500 FTU/kg; with or without 9,600 BXU/kg of xylanase). Feed and animals were weighed at placement and at 7, 21, 35 and 40 days-old to determine feed intake (FI), body weight gain (BWG) and feed conversion ratio (FCR). On the 21st day of the experiment, 40 birds per treatment, each 4 birds being the experimental unit, euthanized via cervical dislocation and eviscerated for ileal content collection and digestibility evaluation (DM, CP, CE and IDE). The data were submitted to analyses of variance ( $p < 0.05$ ) and, when significant, means were separated by Tukey test at 5% of probability. No effects were observed for phytase, xylanase and interaction between GPM and CMR enzymes throughout the period ( $p > 0.05$ ). However, when compared to 500 FTU phytase, the use of 1,500 FTU improved CA ( $p < 0.05$ ) for 1-7, 1-21 and 1-34 days. The highest dose of xylanase improved the digestibility of CP and IDE by 4.37% and 8.57%, as well as the highest phytase dose, which improved PB digestibility by 5.53%. These results indicated that phytase and xylanase supplementation may improve digestibility and feed conversion of broilers.

**Key-words:** Anti-nutritional effects; Enzymes; Feed conversion ratio.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - POSSÍVEIS LIGAÇÕES ENTRE O FITATO E NUTRIENTES .....	9
--	---

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Conteúdo de PNA dos alimentos na matéria natural (%).....	6
<b>Tabela 2</b> - Conteúdo de fósforo (P) total, fítico e disponível dos ingredientes em matéria natural. ....	8
<b>Tabela 3</b> - Tratamentos experimentais. ....	30
<b>Tabela 4</b> - Ingredientes e composição química das dietas experimentais. ....	31
<b>Tabela 5</b> - Desempenho de 1 - 7 dias. ....	34
<b>Tabela 6</b> - Desempenho de 1 - 21 dias. ....	35
<b>Tabela 7</b> - Desempenho de 1 - 34 dias. ....	36
<b>Tabela 8</b> - Desempenho de 1 - 40 dias. ....	36
<b>Tabela 9</b> - Digestibilidade ileal da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e energia digestível no íleo (EDI) aos 21 dias. ....	37

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	- Análise de variância
BXU	- Birch xylan units (unidades de medida de atividade de xilanase)
CA	- Conversão alimentar
CDAi	- Coeficiente de digestibilidade ileal aparente
CDAiPB	- Coeficiente de digestibilidade ileal da proteína bruta
CEUA	- Comitê de Ética ao Uso de Animais
CMAMS	- Coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca
CMR	- Consumo médio de ração
CR	- Consumo de ração
EB	- Energia bruta
EM	- Energia metabolizável
EMA	- Energia metabolizável aparente
FI	- Fator de indigestibilidade
FTU	- Unidades de medida de atividade de fitase
GP	- Ganho de peso
GPM	- Ganho de peso médio
MS	- Matéria seca
PB	- Proteína bruta
PNA	- Polissacarídeos não amiláceos
PNA <sub>s</sub>	- Polissacarídeos não amiláceos solúveis
TGI	- Trato gastrointestinal
UI	- Unidades internacionais

## LISTA DE SÍMBOLOS

®	- Marca registrada
%	- Porcentagem
°C	- Graus Celsius

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>2</b>
	<b>CAPÍTULO I: UTILIZAÇÃO DE FITASE E XILANASE EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE.....</b>	<b>4</b>
<b>1.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
<b>1.2.</b>	<b>FATORES ANTINUTRICIONAIS .....</b>	<b>4</b>
<b>1.2.2.</b>	<b>FITATO.....</b>	<b>7</b>
<b>1.2.</b>	<b>ENZIMAS EXÓGENAS NA NUTRIÇÃO DE FRANGOS DE CORTE .....</b>	<b>10</b>
<b>1.2.1.</b>	<b>Xilanases .....</b>	<b>11</b>
<b>1.2.2.</b>	<b>Fitases.....</b>	<b>13</b>
<b>1.2.3.</b>	<b>Diferentes doses de fitase e Inositol .....</b>	<b>15</b>
<b>1.2.4.</b>	<b>Interação entre Fitase e Xilanase .....</b>	<b>16</b>
<b>1.3.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>18</b>
	<b>CAPÍTULO II - EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE FITASE E XILANASE SOBRE A DIGESTIBILIDADE ILEAL E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE.....</b>	<b>25</b>
	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>27</b>
<b>2.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>
<b>2.1.</b>	<b>ANIMAIS E LOCAL DO EXPERIMENTO .....</b>	<b>29</b>
<b>2.2.</b>	<b>DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E DIETAS.....</b>	<b>29</b>
<b>2.3.</b>	<b>AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO E ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE.....</b>	<b>32</b>
<b>2.3.1.</b>	<b>Análises químicas.....</b>	<b>32</b>
<b>2.4.</b>	<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA .....</b>	<b>33</b>
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>33</b>
<b>3.1.</b>	<b>DESEMPENHO .....</b>	<b>33</b>
<b>3.2.</b>	<b>DIGESTIBILIDADE .....</b>	<b>37</b>
<b>4.</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>4.1.</b>	<b>DESEMPENHO .....</b>	<b>37</b>
<b>4.2.</b>	<b>DIGESTIBILIDADE.....</b>	<b>40</b>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>42</b>
<b>6.</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>43</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Enzimas exógenas são utilizadas na nutrição animal para incrementar o valor nutritivo das matérias primas, por meio da remoção de fatores antinutricionais, da complementação das enzimas endógenas e do aumento da digestibilidade dos nutrientes (Cowieson *et al.*, 2006).

Em função da sua eficácia na redução da ação antinutricional do fitato, a fitase é uma das principais enzimas utilizadas nas rações para frangos de corte. Isto ocorre devido a sua capacidade de disponibilizar o fósforo complexado presente nos grãos, indisponível aos animais.

O fósforo é apontado como o terceiro ingrediente mais caro da ração, ficando atrás somente da energia e proteína, a inclusão da fitase pode ser utilizada como uma estratégia para reduzir os custos de formulação de dietas, altamente dependentes de fontes de fosfato inorgânico. Além disso, pode auxiliar também na redução do potencial poluente da produção, em virtude da menor excreção do fósforo pelos animais (Lott *et al.*, 2000).

Segundo Cowieson *et al.* (2006), ações extra-fosfóricas da fitase podem estar relacionadas com a utilização da molécula de inositol. O inositol é uma molécula de poliálcool cíclico, com fórmula que se assemelha a da glicose, que constitui o centro da molécula de um fitato. Na nutrição animal e humana o papel desta molécula ainda não está claro e é um assunto de interesse para pesquisas.

Pesquisadores também estudam quais seriam as melhores combinações de enzimas para otimizar o desempenho animal, com a utilização de *blends* contendo proteases, fitases, carboidrases, etc. As xilanases são carboidrases amplamente adicionadas em dietas animais com o objetivo de reduzir os efeitos dos polissacarídeos não amiláceos (PNA) no trato gastrointestinal (TGI), pois estes compostos atuam aumentando a viscosidade intestinal, atuando como uma barreira física na mucosa intestinal, e impede a ação de enzimas endógenas nos nutrientes (Choct *et al.*, 2004).

A suplementação da fitase em conjunto com a xilanase pode ser uma estratégia interessante, visto que a xilanase poderia aumentar a eficácia da fitase por melhorar o acesso desta enzima ao fitato, que estaria dificultado em virtude da viscosidade da digesta. Os efeitos de interação entre fitase e xilanase dependem de

diversos fatores como: concentração e fonte do fitato, balanço de íons dietéticos, concentração e tipo de proteínas contidas na dieta, etc. (Cowieson e Bedford, 2009).

Apesar de existirem diversos estudos com relatos da eficiência de utilização destas enzimas no desempenho de frangos de corte, ainda são necessários estudos que validem a utilização de doses elevadas de fitase, e elucidem sua interação com outras enzimas (Angel *et al.*, 2002).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes doses de fitase e xilanase sobre a digestibilidade ileal e desempenho de frangos de corte.



## **CAPÍTULO I: UTILIZAÇÃO DE FITASE E XILANASE EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE**

### **1. REVISÃO DE LITERATURA**

#### **1.2. FATORES ANTINUTRICIONAIS**

A utilização de ingredientes de origem vegetal e animal, assim como de coprodutos da indústria é uma prática comum na formulação de dietas para frangos de corte. Entretanto, muitos dos ingredientes de origem vegetal possuem compostos chamados fatores antinutricionais, que podem depreciar o valor nutricional das dietas (ANDRADE *et al.*, 2015).

Este termo é utilizado para denominar compostos naturalmente presentes em ingredientes vegetais que ao serem consumidos geram efeitos deletérios, como redução na digestibilidade, absorção e utilização dos nutrientes, assim como irritações e lesões na mucosa do TGI, que podem resultar no comprometimento do desempenho animal (BENEVIDES *et al.*, 2011).

Os fatores antinutricionais podem fazer parte de diferentes rotas metabólicas e atuar como elementos de defesa nos vegetais (GONTZEA; SUTZESCU, 1968). Entretanto, quando presentes nas dietas para animais de produção, estes compostos podem gerar diferentes efeitos que, muitas vezes não são identificados, mas que podem reduzir a produtividade e gerar perdas econômicas (PENZ JÚNIOR, 1998).

Como exemplo de fatores antinutricionais podem ser citados os taninos, que podem precipitar proteínas; os fitatos, que são capazes de formar complexos com proteínas e minerais; lectinas, que têm a habilidade de aglutinar hemácias; inibidores de proteases, entre outros. Entretanto, a utilização de tratamentos térmicos como tostagem (principalmente da soja), extrusão e peletização pode reduzir ou inativar a ação dos fatores antinutricionais. Esta é uma boa alternativa, visto que o aumento da temperatura e pressão são capazes de desativar os compostos termolábeis contidos nos grãos sem promover a perda de nutrientes (BRUMANO; GATTÁS, 2004). No entanto, determinados compostos são termoestáveis, e portanto persistem após o tratamento térmico. Dentre estes, destacam-se os PNA.

### 1.2.1. Polissacarídeos não amiláceos

Os PNA, também conhecidos como fibras, são componentes da parede celular vegetal e compreendem uma diversa classe de polissacarídeos como celulose, hemicelulose, pectinas e quitina que, quando presentes em grandes quantidades nas dietas para monogástricos, podem reduzir a sua digestibilidade e consequentemente o desempenho animal (KOCHER *et al.*, 2002).

De acordo com sua solubilidade, os PNA podem ser classificados em: insolúveis (celuloses, ligninas e algumas hemiceluloses) e solúveis (pectinas, gomas e hemiceluloses – arabinosilanos,  $\beta$ -glucanos, D-xilanos, D-mananos, xiloglucanos, etc.) sendo os insolúveis mais críticos para a nutrição de monogástricos, em virtude dos seus efeitos fisiológicos e morfológicos sobre o sistema digestório destes animais (CHOCT *et al.*, 2004).

Nas sementes de oleaginosas as substâncias consideradas PNAs são as pentoses, rafinoses, estaquioses e sacarose. Enquanto nos grãos de cereais os PNAs predominantemente são os compostos de arabinosilanos, beta-glucanos e celulose.

O milho e o sorgo contém baixíssimos níveis de PNA, entretanto, o trigo, triticale e centeio possuem quantidades consideráveis de PNA tanto solúveis quanto insolúveis (SORBARA, 2009). De acordo com Bedford (1997), as xilanases são praticamente ausentes no TGI de monogástricos. Entretanto, dependendo dos ingredientes utilizados, as rações destes animais podem conter generosas quantidades de arabinosilanos, substrato destas enzimas.

A quantidade destes compostos varia não somente entre diferentes ingredientes, mas também entre os mesmos, de acordo com a variedade do grão e a localização geográfica de onde ele foi cultivado. Diversos destes grãos são utilizados na formulação de dietas para animais de produção e possuem níveis elevados PNA e, consequentemente, menor qualidade nutricional (CHOCT, *et al.*, 1997). A tabela 1 demonstra diferentes quantidades de PNA encontrados em alguns dos ingredientes utilizados na produção animal.

**Tabela 1** - Conteúdo de PNA dos alimentos na matéria natural (%)

Cereal	Solúvel	Insolúvel	Total
Cevada grão	5,4	9,7	15,1
Soja farelo 45,4%	3,85	12,62	16,47
Trigo farelo	3,04	24,0	27,04
Arroz farelo	1,56	14,25	15,81
Sorgo grão	0,62	5,15	5,77
Milho grão	0,85	5,98	6,83

FONTE: Adaptado Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (2017)

Os efeitos antidualitativos dos PNAs no TGI dos animais podem ser diversos e dependem da sua natureza. Os PNAs solúveis acabam sendo os mais danosos para a digestão das aves, já que são capazes de interagir com o glicocálix da borda em escova intestinal dos enterócitos e ocasionar um aumento da espessura da camada de água na superfície da mucosa. Assim, o aumento da viscosidade da digesta atua como barreira física para a ação de enzimas digestivas, dificultando a digestão e absorção de aminoácidos, minerais, carboidratos entre outros nutrientes e, conseqüentemente, reduz a digestibilidade da dieta e desempenho animal (VAHOUNY, 1982). Isto ocorre principalmente pelo fato dos nutrientes se tornarem menos disponíveis para a digestão, resultando em uma depleção da digestão de gorduras, proteínas, carboidratos e outros micronutrientes (CONTE *et al.*, 2002).

O aumento da viscosidade causado pelos PNAs solúveis no TGI depende da sua solubilidade e peso molecular. Entretanto, o efeito fisiológico da viscosidade na digestão e absorção de nutrientes parece ser similar, independentemente da fonte. Além disso, Wyatt *et al.* (2004) reforçam também que o aumento da viscosidade ajuda no desenvolvimento de doenças intestinais, tais como coccidiose e enterite necrótica.

De acordo com Brenes (1992) os  $\beta$  glucanos fazem com que as aves eliminem fezes mais líquidas, tendo efeito sobre a umidade da cama do aviário e aumento de amoníaco. Palenzuela *et al.* (1998) afirmam que em aves a viscosidade elevada do bolo alimentar, além de comprometer a digestibilidade da ração, também aumenta a quantidade de fezes úmidas, podendo, assim, dificultar a manutenção adequada da cama, que pode gerar problemas de manejo.

O aumento da viscosidade é apontada como o maior efeito antidualitativo dos PNAs, enzimas exógenas são comumente utilizadas em dietas para monogástricos

no intuito de contornar este efeito. Neste contexto, algumas enzimas exógenas têm a capacidade de quebrar grandes moléculas de PNA em polímeros menores e, conseqüentemente, reduzir a viscosidade da dieta e melhorar o valor nutritivo da ração (SORBARA, 2009).

Alguns PNAs também são capazes de se ligarem aos lipídios, colesterol e sais biliares, o que pode influenciar o metabolismo lipídico do intestino. Os PNA também podem aumentar a secreção de ácidos biliares, e conseqüentemente aumentar a excreção destes nas fezes. Estes efeitos podem levar a maiores mudanças na dinâmica do TGI e reduzir a eficiência de assimilação dos nutrientes pelo animal (IKEGAMI *et al.* 1990).

Entre os PNA insolúveis, destaca-se a celulose, que é o principal constituinte da parede celular das plantas e está presente em grande quantidade nos vegetais fibrosos. Para animais monogástricos, apresenta baixa digestibilidade, podendo reduzir também a digestibilidade de outros nutrientes, visto que elevados níveis de PNA insolúveis na dieta reduzem o tempo de permanência da digesta no trato, e conseqüentemente o tempo de atuação da digestão no TGI.

Diferentemente das dietas europeias, formuladas com uma grande quantidade de cereais de inverno (altamente ricas em PNA), no Brasil as dietas para frangos de corte são feitas a base de milho e farelo de soja, que possuem uma quantidade menor destes compostos. Entretanto, estes compostos ainda assim estão presentes e acabam por dificultar a digestão da dieta. O milho, por exemplo, possui cerca de 6,83% de PNA e o farelo de soja 16,47% (ROSTAGNO *et al.*, 2017). Sendo assim, a inclusão de enzimas exógenas nas dietas formuladas com tais cereais, pode ser utilizada como uma estratégia para otimizar a digestibilidade destas e o melhor desempenho dos animais (SCHRAMM *et al.*, 2017).

### **1.2.2. Fitato**

Por vezes fitato, ácido fítico, mio-inositol, mio-inositol hexafosfato e fitina são citados como sinônimos do mesmo composto antinutricional, entretanto são compostos distintos: mio-inositol hexafosfato, ácido fítico ou fitato é o termo utilizado para se referir ao sal misto de ácido fítico; mio-inositol é a forma livre do anel aromático do fitato, sem os grupamentos fosfato; já a fitina refere-se especificamente ao complexo de mio-

inositol hexafosfato com potássio, magnésio e cálcio, assim como ocorre nas plantas (SELLE; RAVINDRAN, 2007).

O fitato, também conhecido como mio-inositol ácido hexafosfato, é um componente natural das plantas que tem a função de servir de estoque de fósforo e outros minerais, liberados por intermédio da ação da fitase endógena na germinação. Ele é encontrado principalmente no gérmen, porém na soja se encontra principalmente associado aos corpos proteicos distribuídos pela semente (BAKER, 1991).

A quantidade de fósforo fítico presente nos grãos vegetais é variável quanto as espécies (Tabela 2). Entretanto, sua concentração nos ingredientes vegetais normalmente varia entre 5-25 g/kg (COWIESON *et al.*, 2011).

Como os grãos compõem os principais ingredientes das dietas para aves, incapazes de sintetizar a enzima fitase em níveis suficientes, boa parte do fósforo contido na molécula de fitato não é aproveitada. Para compensar o nível limitado de fósforo oriundo dos grãos, fosfatos inorgânicos são adicionados às dietas e acabaram por se tornar um dos ingredientes mais onerosos para frangos de corte (TAMIM *et al.*, 2004).

**Tabela 2** - Conteúdo de fósforo (P) total, fítico e disponível dos ingredientes em matéria natural.

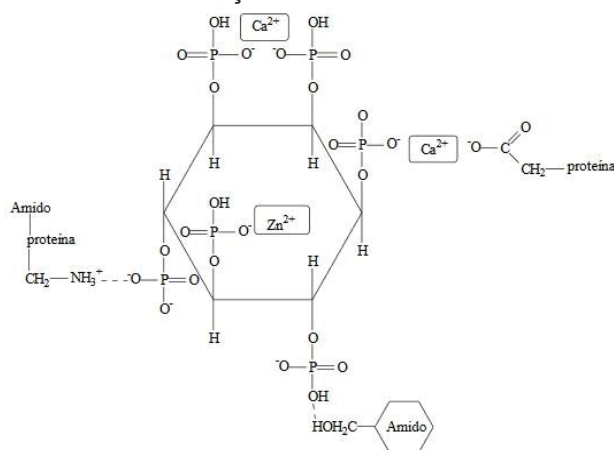
Ingredientes	% de fósforo (P)		
	P total	P fítico	P disponível
Milho	0,25	0,19	0,06
Farelo de soja	0,63	0,39	0,24
Milheto	0,31	0,21	0,10
Sorgo baixo tanino	0,26	0,18	0,08
Farelo de trigo	0,97	0,64	0,33
Farelo de arroz	1,67	1,43	0,24

FONTE: Rostagno *et al.* (2011).

A molécula de ácido fítico é composta por um anel de 6 carbonos (inositol) ligado a 6 moléculas de fosfato e possui aproximadamente 28,2% de fósforo, grande parte ligados ao fitato e conseqüentemente indisponível (NELSON, 1967). O fitato é um derivado do ácido fítico que, por ter um alto potencial de quelação é capaz de se complexar com cátions bivalentes como o cálcio, ferro, magnésio e zinco (Figura 1), o que aumenta a necessidade de suplementação destes nutrientes para os animais.

O aproveitamento da energia e digestibilidade das proteínas também podem ser afetados pelo fitato, que é considerado um fator antinutricional (KORNEGAY, 1996).

**Figura 1** - POSSÍVEIS LIGAÇÕES ENTRE O FITATO E NUTRIENTES



FONTE: kornegay, 2001.

Segundo Selle *et al.* (2006), a presença do fitato nas dietas para frangos de corte piora a energia metabolizável e a digestibilidade de aminoácidos em virtude da sua complexação com diversos nutrientes, maior dificuldade de acesso a enzimas digestivas e também por causar perdas endógenas em virtude da agressão que este composto causa na mucosa intestinal. De acordo com Cowieson *et al.* (2006) o fitato é capaz de alterar a taxa de renovação das células intestinais, aumentando a produção de mucinas e conseqüente perda de nitrogênio endógeno.

Cowieson *et al.* (2009) sugere que 1g de fitato é capaz de se ligar a 10g de proteína em condições ideais. Entretanto a magnitude desta reação depende de fatores como: solubilidade do fitato, quantidade de cálcio na dieta, pH do meio, ponto bioelétrico da proteína e sua estrutura (se terciária ou quaternária). Neste contexto, observa-se que a própria composição da dieta pode desempenhar um papel de resposta na fitase, já que alguns ingredientes podem ou não contribuir com a reatividade do fitato na dieta.

Ao avaliar a digestibilidade ileal de aminoácidos essenciais em dietas com adição de fitase a base de milho e a base de trigo, Ravindran *et al.* (2000) observaram aumento de 3,9% na digestibilidade da dieta a base de milho e 13,4% na dieta a base de trigo, o que corrobora a idéia de que a magnitude da resposta de aminoácidos com a suplementação de fitase parece ser dependente dos ingredientes utilizados na dieta.

A dificuldade de absorção do fósforo e outros nutrientes leva a uma maior suplementação e consequente excreção destes no ambiente, que pode gerar sérios impactos ambientais em águas de superfície e lençóis freáticos potencialmente contamináveis através da lixiviação destes compostos oriundos das excretas das aves, que são utilizadas como fertilizantes orgânicos na agricultura (BIEHL *et al.*, 1998).

Sendo assim, a suplementação da fitase em dietas para frangos de corte tem sido utilizada, principalmente, como estratégia nutricional para reduzir os custos com a suplementação de fósforo inorgânico na ração, amenizar os efeitos antinutricionais do fitato e reduzir o potencial poluente da produção.

## **1.2. Enzimas exógenas na nutrição de frangos de corte**

Na indústria avícola brasileira diversas pesquisas são feitas para identificar alternativas que otimizem a utilização de nutrientes pelos animais, com o objetivo de melhorar o desempenho e reduzir problemas ambientais. Em virtude desta crescente demanda, pesquisas referentes à suplementação de enzimas exógenas na alimentação animal têm se destacado cada vez mais como uma possível estratégia para tornar a produção mais eficiente e sustentável.

Enzimas são catalisadores biológicos que atuam sobre substratos específicos. Segundo Wyatt *et al.* (1997) a suplementação de enzimas exógenas é feita por três razões diferentes: aumentar a digestibilidade dos nutrientes da ração, remover ou hidrolisar fatores antinutricionais e suplementar as enzimas endógenas. Na nutrição animal, enzimas exógenas são utilizadas como uma estratégia para possibilitar o máximo aproveitamento da dieta, melhorar os índices zootécnicos e, conseqüentemente, a lucratividade da produção (SORBARA, 2009).

Inicialmente, a adição de enzimas exógenas nas dietas para frangos de corte tinha como objetivo reduzir a ação dos PNA em rações europeias (à base de cereais de inverno, ricos em PNA), atuando principalmente nos PNA solúveis através da redução da viscosidade no TGI dos animais. Já no Brasil, onde a maioria das dietas são à base de milho e soja, a utilização de enzimas para esta finalidade poderia ser questionável, já que estas rações são classificadas como de baixa viscosidade (CHOCT, 1997).

As fitases começaram a ser utilizadas na década de 90 para promover o melhor aproveitamento do fósforo da dieta e reduzir a sua excreção no meio ambiente. Com o tempo, observou-se que a utilização destas enzimas melhorou não somente o aproveitamento do fósforo, mas também da energia e proteína das dietas (BARLETTA, 2011).

As enzimas exógenas atuam de diferentes formas; enquanto as proteases, amilases e lipases atuam, principalmente, complementando a atuação das enzimas endógenas, as xilanases, glucanases e fitases, que tem sua atividade praticamente nula em aves (LESLIE, 2007).

Como as enzimas são muito específicas em relação a sua ação e substrato, a utilização de somente um tipo de enzima na alimentação animal talvez seja insuficiente para maximizar a utilização das dietas. Sendo assim, a suplementação com complexos enzimáticos pode ser mais efetiva, uma vez que poderia atuar simultaneamente sobre diferentes fatores antiqualitativos da dieta (ZANELLA, 1998).

E por isso, atualmente os estudos com complexos enzimáticos são mais frequentes, pois possibilitam avaliar a atuação conjunta de diferentes enzimas sobre a digestibilidade das dietas e desempenho animal. Em alguns casos os complexos enzimáticos são formados pela combinação de enzimas que atuam de forma complementar, enquanto umas eliminam as barreiras para atuação das enzimas exógenas, outras vão atuar aumentando quantitativamente as enzimas endógenas. Entretanto, os mecanismos de interação entre estas enzimas na fisiologia animal ainda necessita mais estudos (LELIS *et al.*, 2010).

### **1.2.1. Xilanases**

Os xilanos são biopolímeros encontrados em abundância na parede celular dos grãos. Estes compostos são formados por unidades de D-xilopirasil unidos por ligações na cadeia de carbono  $\beta$ -1,4, com graus variados de substituição. Apesar dos xilanos não serem digeridos por animais monogástricos, estes compostos estão presentes em abundância nas dietas e acabam por reduzir a digestibilidade e aproveitamento dos ingredientes pelos animais. Neste contexto, a suplementação de dietas com xilanase poderia auxiliar na minimização destes efeitos e melhorar absorção dos nutrientes da dieta (ADEOLA *et al.*, 2010).



As carboidrases, como a xilanase, podem ser produzidas por fungos filamentosos, leveduras, bactérias, protozoários e algas. Uma das principais funções da xilanase é a de quebrar ligações das fibras do polissacarídeo xilano, que atua na coesão das fibras de celulose, e assim liberar outros componentes encapsulados para a ação das enzimas endógenas, sendo-  $\beta$ -xilanase e  $\beta$ -xilosidade as principais enzimas responsáveis pela degradação do xilano. As xilanases microbianas têm uma composição proteica simples e sua temperatura de produção varia de 40 a 60°C, sendo que as xilanases bacterianas são conhecidas por serem mais termoestáveis. A melhor faixa de pH para produção enzimática de xilanases por microrganismos é obtida entre pH 4 e 7 (SIMÕES *et al.*, 2009).

Estas enzimas são utilizadas principalmente para melhorar a hidrólise dos PNAs contidos na parede celular vegetal dos cereais, que possuem a capacidade de se ligarem a grande quantidade de água, gerando aumento da viscosidade da dieta e interferindo na difusão dos nutrientes e das enzimas digestivas e suas interações com a mucosa intestinal, reduzindo conseqüentemente sua digestibilidade.

Sendo assim, em virtude do melhor aproveitamento dos nutrientes e redução da viscosidade intestinal, a adição destas enzimas em dietas para frangos de corte pode ser utilizada para melhorar a biodisponibilidade dos nutrientes e assim tornar possível o uso de formulações de rações com menores níveis nutricionais, sem que ocorra prejuízo no desempenho zootécnico (COWIESON, 2005).

O amido é a principal fonte energética das rações para frangos de corte, entretanto, as reservas de amido nos grãos de milho são intracelulares. Por este motivo, estudos buscam melhorar a digestibilidade e utilização energética do amido, assim como maximizar a degradação dos PNA por meio da suplementação de enzimas exógenas, que irão auxiliar na liberação dos nutrientes retidos dentro da célula e promover uma melhoria na utilização da energia e nutrientes da dieta, que estão fortemente associados a melhora do desempenho animal (ANGKANAPORN *et al.*, 1994).

De acordo com Sklan & Noy (2003), apesar dos pintinhos serem capazes de digerir amido logo após a eclosão, o alto consumo alimentar destes animais e conseqüente grande ingestão de amido em recém nascidos resulta em superação fisiológica de substrato-enzima, o que torna interessante a utilização de xilanases nas dietas iniciais.

### 1.2.2. Fitases

Entre as enzimas exógenas produzidas comercialmente, a fitase tem se destacado como uma das mais utilizadas. Isto ocorre principalmente em virtude da magnitude e consistência relativamente alta da sua eficácia, do aumento dos custos do fósforo inorgânico e da crescente preocupação com a poluição ambiental. Visto isto, a utilização da fitase é uma alternativa econômica para aumentar a disponibilidade do fósforo fítico, que se encontra na forma complexada nos cereais. A liberação e utilização do fósforo fítico é importante, visto que as reservas de fósforo inorgânico, atualmente utilizadas na nutrição animal, não são consideradas renováveis e no futuro deverão estar escassas (LOTT *et al.*, 2009).

São vários os fatores que influenciam o conteúdo de fósforo disponível, como o estágio de maturação dos grãos, idade e estado fisiológico dos animais (FUKAYAMA *et al.*, 2008) e, apesar de ter sua eficiência comprovada, a eficácia da fitase também depende do tipo de fitase, dos níveis de inclusão e estabilidade sob diferentes tipos de processamento, como por exemplo a peletização (SILVERSIDES; BEDFORD, 2004).

A fitase é uma enzima classificada como fosfatase de histidina ácida que tem a capacidade de quebrar a ligação entre o fitato e o fósforo, disponibilizando o fosfato retido nos grãos. Quando hidrolisado, o fitato libera inositol monofosfato e fósforo inorgânico (SEBASTIAN *et al.*, 1996). Selle & Ravindran (2007) observaram melhora na digestibilidade de aminoácidos, alcançada devido a liberação das moléculas ligadas ao inositol através da hidrólise realizada pela fitase.

A atividade da fitase é expressa em FTU, que representa a quantidade de enzima necessária para liberar um micromol de fósforo em um minuto em substrato de sódio fitato a 37 °C. A maioria das fitases produzidas comercialmente são microbianas, oriundas de fungos e bactérias, devido a sua maior compatibilidade com o trato gastrointestinal dos monogástricos. O pH ótimo de atividade destas enzimas varia entre 2 e 4,5 (pH ácido). Sendo assim, nas aves, a atividade da fitase ocorre principalmente na moela e no proventrículo (SELLE *et al.*, 2006).

Segundo Kornegay *et al.* (1996), a resposta da fitase está relacionada com o nível de fósforo inorgânico da dieta. Sendo assim, aves que consomem rações com baixos níveis de fósforo inorgânico teriam maior capacidade de hidrolisar o fitato, em

virtude da maior quantidade de substrato para a enzima atuar, já que com a redução de fósforo inorgânico a inclusão de ingredientes de origem vegetal aumenta.

O ganho de peso, consumo de ração, cinzas dos dedos e da tibia, taxa de retenção aparente de cálcio e fósforo, retenção total de matéria seca, cálcio e fósforo são parâmetros utilizados para a determinação da eficiência da fitase. Os mesmos autores afirmam que a quantidade ótima de fitase adicionada a uma dieta depende de fatores como: resposta e custo da fitase, fonte de fósforo na dieta, e o custo de descarte de fósforo excretado.

De acordo com Qian *et al.* (1997) a adição da fitase em dietas para frangos de corte pode melhorar o aproveitamento de fósforo fítico e cálcio, o que pode resultar em aumento no ganho de peso e melhora na conversão alimentar, entretanto, uma alta relação cálcio:fósforo poderia influenciar negativamente estes ganhos, já que níveis altos de cálcio interferem no efeito da fitase, por aumentar o pH e reduzir a solubilidade do fitato. Além disso, níveis de cálcio acima de 0,70% em pH 6,0 permitem a reação do cálcio e ácido fítico e formam o fitato de cálcio, que é inacessível à fitase em virtude da competição do cálcio com os sítios ativos da enzima.

A utilização da fitase pode ter efeitos positivos sobre o desempenho, eficiência alimentar, digestibilidade de proteína, utilização da energia, retenção mineral e crescimento ósseo de frangos de corte (Khan *et al.*, 2013). Simons *et al.* (1990) verificaram 15% de aumento de fósforo disponível com inclusão de 1.500 FTU/kg de fitase e aumento de 8% no ganho de peso de frangos de corte em relação ao tratamento sem utilização de fitase.

Ravindran *et al.* (2000) obtiveram aumento do coeficiente de digestibilidade de fósforo, nitrogênio e aminoácidos em frangos alimentados com dietas com inclusão de fitase. Biehl & Baker (1997), relataram que a suplementação de 1.200 FTU/kg de fitase teve efeito positivo no aproveitamento dos aminoácidos lisina, metionina e valina, contidos nas dietas de frangos de corte. Segundo este autor, o aumento obtido ocorreu em virtude da quebra da molécula de fitato e redução da complexação de nutrientes, o que possibilitou uma maior atuação de enzimas endógenas e aumento da digestibilidade da dieta.

Namkung & Leeson (1999) observaram melhoria na digestibilidade ileal dos aminoácidos totais e na energia metabolizável de dietas em rações para frangos de corte suplementadas com 1.200 FTU/kg de fitase.

### 1.2.3. Diferentes doses de fitase e Inositol

Usualmente, recomenda-se a inclusão de 500 FTU/kg de fitase na ração. Entretanto, resultados obtidos com a utilização de doses superiores a esta têm apontado a suplementação das chamadas *super dosing* de fitase como uma estratégia para reduzir a inclusão de ingredientes (e conseqüentemente custos de produção), sem comprometer a digestibilidade dos nutrientes e desempenho dos animais (SILVERSIDES *et al.*, 2004).

O primeiro experimento relatado testando super doses de fitase foi feito por Nelson *et al.* (1971), que adicionou doses de 950 e 7600 FTU/kg de ração. Neste experimento, notou-se que 950 FTU/kg reduziu a concentração de fitato em 38,9% enquanto a maior dose obteve uma redução de 94,4%. Este estudo acabou impulsionando o interesse na utilização de super doses de fitase na alimentação animal (COWIESON *et al.*, 2011).

A utilização de *super dosing* de fitase tem o objetivo de maximizar a utilização da molécula de fitato por meio da sua hidrólise total, que resulta em 6 ésteres de mio-inositol fosfato, que passarão por progressivas reações de desfosforilação, até a obtenção da molécula de inositol e 6 moléculas de fósforo inorgânico (SELLE; RAVINDRAN, 2007).

O inositol é o produto final da desfosforilação do ácido fítico via ação da fitase e, apesar de ter sido descoberto em 1993, ainda são necessários estudos sobre o seu modo de atuação no metabolismo de frangos de corte. Sabe-se que o inositol está envolvido em diversas partes do metabolismo, entretanto, buscam-se respostas sobre qual fator seria responsável pelo efeito sobre o crescimento de frangos quando são utilizadas elevadas doses de fitase (COWIESON; O'NEILL, 2013).

Walk *et al.* (2014) relataram que altos níveis de fitase resultaram na hidrólise quase completa dos fosfatos contidos na molécula de fitato, o que produziu aumento das concentrações de inositol na moela, melhorou o ganho de peso e a conversão alimentar de frangos. Os autores acreditam que os benefícios da utilização de sobredoses de fitase podem estar associados com a quebra completa do fitato e,

conseqüentemente, com o fornecimento de inositol, que poderia atuar como promotor de crescimento.

Da mesma forma, Rutherford *et al.* (2012) acreditam que a melhora no desempenho das aves alimentadas com dietas contendo altos níveis de fitase ocorre em razão da liberação dos minerais presentes no complexo fitato-mineral, da utilização do inositol (produto final da desfosforalização do ácido fítico) pelos animais e do aumento da digestibilidade do amido e da proteína, que estariam anteriormente complexados com o fitato.

Neste contexto, segundo Cowieson *et al.* (2011), podem haver 3 principais mecanismos para justificar a utilização de super doses de fitase na alimentação de frangos de corte:

- Maior liberação de fósforo ou restauração da relação cálcio:fósforo em dietas com redução destes minerais;
- Reduzir a concentração de fitato residual, remover seus efeitos antiqualitativos e aumentar a concentração de ésteres solúveis de fosfato;
- Gerar mio-inositol, que possui efeitos lipotrópicos, como as vitaminas.

#### **1.2.4. Interação entre Fitase e Xilanase**

O uso simultâneo de fitases aliadas a xilanases é cada vez mais comum na alimentação animal. Apesar disto, a aditividade das recomendações na matriz nutricional das dietas ainda é assunto de debate. Isto ocorre pois dependendo da limitação de nutrientes da dieta pode ser observada uma sub-aditividade, total aditividade ou até mesmo sinergia entre as enzimas. Além disto, a quantidade e qualidade do substrato utilizado nas dietas é frequentemente negligenciado e, apesar disto, é o que vai ditar a magnitude e consistência do efeito da utilização destas enzimas na liberação de nutrientes da dieta (COWIESON *et al.*, 2009).

A inclusão de enzimas exógenas como a fitase e xilanase podem atuar reduzindo os efeitos negativos do fitato e PNA na digestibilidade das dietas. Entretanto, fisiologicamente, a interação entre estas duas enzimas ainda não foi completamente elucidada (GEHRING *et al.*, 2013).

Entretanto, sabe-se que quando utilizadas em dietas a base de milho e farelo de soja, a adição de xilanases poderia facilitar a atuação da fitase na liberação de

nutrientes por melhorar o acesso ao fitato que estaria até então retido na parede celular (KARIMI *et al.*, 2013). Apesar disto, fatores como a concentração e fonte dos substratos, pH da água utilizada e linhagem e idade das aves podem causar variação na resposta interativa entre fitase e xilanase (COWIESON *et al.*, 2009).

### **1.3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A utilização de enzimas exógenas na nutrição de frangos de corte é uma das alternativas disponíveis para melhorar a digestibilidade das dietas e, conseqüentemente, eficiência da produção animal. Existe uma grande variedade de enzimas no mercado assim como resultados diversos sobre a sua atuação no desempenho animal. Entretanto, o conhecimento dos mecanismos fisiológicos de atuação destas enzimas individualmente e em conjunto, assim como da ação do inositol ainda precisa ser melhor estudado.

## 2 REFERÊNCIAS

ADEOLA, O., JENDZA, J. A., SOUTHERN, L. L., POWELL, S. & OWUSU-ASIEDU, A. Contribution of exogenous dietary carbohydrases to the metabolizable energy value of corn distillers grains for broiler chickens. **Poultry Science**, v.89, n.9, p.1947-1954, 2010.

ANDRADE *et al.* Efeito de fatores antinutricionais encontrados nos alimentos alternativos e seu impacto na alimentação de não ruminantes – Revisão. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.12, n.6, p.4393-4399, 2015.

ANGEL, R.; TAMIN, N.M.; APPLGATE, T.J.; DHANDU, A.S. *et al.* Phytic acid chemistry: influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. **Journal of Applied Poultry Research**, v.11, p.471-480, 2002.

ANGKANAPORN, K., CHOCT, M., BRYDEN, W.L., ANNISON, E.F. Effects of wheat pentosans on endogenous amino acid losses in chickens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.66, p.399–404, 1994.

BAKER, D.H. Bioavailability 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 Nutrition**. 2 ed. Cap.1, p.1-11, 2011.

BEDFORD, M.R. Reduced viscosity of intestinal digesta and enhanced nutrient digestibility in chickens given exogenous enzymes. In: Marquardt, R.R., Han, Z. (Eds.), **Enzyme in Poultry and Swine Nutrition**. International Development Research Centre, Ottawa, Canada, p.19–28, 1997.

BENEVIDES *et al.*, Fatores antinutricionais em alimentos: Revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v.18, n.2, p. 67-79, 2011

BIEHL, R. R.; D. H. BAKER; H. F. DELUCA. 1998. Activity of various vitamin D3 analogs for improving phosphorus utilization in chicks receiving diets adequate in vitamin D3. **British Poultry Science**. v.39, n.3, p.408–412.

BIEHL, R.R., BAKER, D.H. Microbial phytase improves amino acid utilization in young chicks fed diets based on soybean meal, but not in diets based on peanut meal. **Poultry Science**. v.76, n.2, p.355-360, 1997.

BRENES, A. Influencia de la adición de enzimas sobre o valor nutritivo de lãs raciones en la alimentación aviar. **Selecciones avícolas**, Salamanca, p.787-94, 1992.

BRUMANO, G.; GATTÁS, G. Soja integral extrusada na alimentação de aves e suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.1, n.3, p.134-146, 2004.

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

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

COWIESON, A.J., Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. **Anim. Feed Science and Technology**. v.119, p.293–305, 2005.

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

COWIESON, A.J., BEDFORD, M.R. The effect of phytase and carbohydrase on ileal amino acid digestibility in monogastric diets: complimentary mode of action? **Word's Poultry Science Journal**, v.65, p.609-624, 2009.



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

COWIESON AJ, WILCOCK P, BEDFORD MR. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. **World's Poultry Science Journal**. v.67, p.225–236, 2011.

COWIESON, A.J., O'NEILL, H.V.M. Effects of exogenous xylanase on performance, nutrient digestibility and caecal thermal profiles of broilers given wheat-based diets. **British Poultry Science**. v.54, p.346–354, 2013.

FUKAYAMA, E.H.; SAKOMURA, N.K.; DOURADO, L.R.B.D. *et al.* Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.629-635, 2008.

GEHRING, C. K., M. R. BEDFORD, AND W. A. DOZIER. Interactive effects of phytase and xylanase supplementation with extractable salt-soluble protein content of corn in diets with adequate calcium and nonphytate phosphorus fed to broilers. **Poultry Science Journal**. v.92, p.1858–1869, 2013.

GONTZEA, I., SUTZESCU, P. **Natural antinutritive substances in feedstuffs and forages**. 3.ed. New York: S. Karger, NY. 356p, 1968.

IKEGAMI, S., TSUCHIHASHI, F., HARADA, H., TSUCHIHASHI, N., NISHIDE, E. AND INNAMI, S. **The Journal of Nutrition**. v.120, p.353-360, 1990.

KARIMI,A.; MIN,Y.; LU,C. COTO,C.; BEDFORD,M. R.; WALDROUP, P. W. Assessment of potential enhancing effects of a carbohydrase mixture on phytase efficacy in male broiler chicks fed phosphorus-deficient diets from 1 to 18 days of age. **Poultry Science Journal**. v.92, p.192–198, 2013.

KHAN, S.A., H.R. CHAUDHRY, Y.S. BUTT, T. JAMEEL., AND F. AHMAD. The Effect of Phytase Enzyme on the Performance of Broiler Flock (A-Review). **Poultry Science Journal**. v.7, n.2, p.117-125, 2013.

KOCHER A, CHOCT M, ROSS G, BROZ J, CHUNG TK. Effects of enzyme combinations on apparent metabolizable energy of corn-soybean meal-based diets in broilers. **Journal Applied Poultry Research**. 2003. v.12, n.3, p.275-283.

KORNEGAY, E.T. DENBOW, D.M, YI. Z AND RAVINDRAN, V. Response of broilers to graded levels of microbial phytase added to maize-soyabean-meal-based diets containing three levels of non-phytate phosphorus. **British Journal of Nutrition**. v.75, p.839-852, 1996.

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. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 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.

LOTT, J.N.A.; OCKENDEN, I.; RABOY, V. *et al.* Phytic acid on phosphorus crop seed and fruit: a global estimate. **Seed Science Research**. v.10, p.11-33, 2000.

NAMKUNG, H., LEESON, S. Effect of phytase Enzyme on dietary Nitrogen-corrected apparent metabolizable energy and ileal digestibility of nitrogen and amino acids in broiler chicks. **Poultry Science**. v.78, n.9, p.1317-1319, 1999.

NELSON, T. S. The utilization of phytate phosphorus by poultry - A review. **Poultry Science**. v.46, p.862–871,1967.

PALENZUELA, P. R.; GARCÍA, J.; BLAS, C. Fibra soluble y su implicación en nutrición animal: enzimas y probióticos. In: **Avances en Nutrición y Alimentación Animal**. Barcelona: FEDNA. p. 227-240, 1998.

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

QIAN, H., E. T. KORNEGAY, AND D. M. DENBOW. 1997. Utilization of phytate phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol, and the calcium: total phosphorus ratio in broiler diets. **Poultry Science**. v.76, p.37–46.

RAVINDRAN., V., S. CABAUG, G. RAVINDRAN, P.H. SELLE, AND W.L. BRYDEN. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorous levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutrient retention, **British Poultry Science**, v.41, n.2, p.193-200, 2000.

ROSTAGNO *et al.* **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, 2011.

ROSTAGNO *et al.* **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, 2017.

RUTHERFURD SM; CHUNG TK; THOMAS DV; ZOU ML; MOUGHAN PJ. Effect of a novel phytase on growth performance, apparent metabolizable energy, and the availability of minerals and amino acids in a low-phosphorous corn-soybean meal diet for broilers. **Poultry Science**. v.91, n.5, p.1118-1127, 2012.

SCHRAMM, V. G. *et al.* Interaction between xylanase and phytase on the digestibility of corn and a corn/soy diet for broiler chickens. **Poultry Science**. v.96, p.1204–1211, 2017.

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

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**, v.43, p.89-103, 2006.

SILVERSIDES FG, SCOTT TA, BEDFORD MR. The effect of phytase enzyme and level on nutrient extraction by broilers. **Poultry Science**. 2004; v.83, n.6, p.985–989, 2004.

SIMÕES *et al.* Screening of culture condition for xylanase production by filamentous fungi. **African Journal of Biotechnology**. 8. 6317-6326, 2009.

SIMONS PCM, VERSTEEGH HAJ, JONGBLOED AW, KEMME PA, SLUMP P, BOS KD, WOLTERS MGE, BEUDEKER RF, VERSCHOOR GJ. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. **British Journal of Nutrition** v.64, p.525-540, 1990.

SKLAN, D., NOY, Y. Crude protein and essential amino acid requirements in chicks during the first week posthatch. **British Poultry Science**. v.44, p.266–274, 2003.

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

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

TAMIM, N., M., R. ANGEL, AND M. CHRISTMAN. 2004. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. **Poultry Science**. v.83, p.1358–1367.

WALK, C., SANTOS, T., BEDFORD, R. Influence of superdoses of a microbial phytase on growth performance, tibia ash, and gizzard phytate and inositol in young broilers. **Poultry Science**. v.93, n.5, p.1172-1177, 2014.

WYATT, C. *et al.* Applying enzymes to sorghum-based broiler diets. **Proc. Aust. Poult. Sci. Symp.** 9, Sydney, Australia. p. 116–118, 1997.

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

VAHOUNY, G.V. **Federation Proceedings**. v.41, p.2801-2806, 1982.

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

## **CAPÍTULO II - EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE FITASE E XILANASE SOBRE A DIGESTIBILIDADE ILEAL E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE**

### **RESUMO**

O fósforo é um nutriente essencial para a manutenção e crescimento das aves, mas nas dietas à base de milho e farelo de soja a maior parte do fósforo está na forma de fitato, que não é digestível para frangos de corte e conseqüentemente reduz o desempenho dos animais. A suplementação de fitase, associada ou não a outras enzimas, pode superar esses efeitos antinutricionais e melhorar o desempenho destes animais. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar diferentes inclusões de fitase associadas ou não à xilanase no desempenho e digestibilidade ileal de frangos de corte. Um total de 1.120 machos Cobb de um dia de idade foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, em quatro tratamentos e dez repetições de 28 aves cada, em arranjo fatorial 2 x 2 (2 níveis de fitase: 500 ou 1.500 FTU / kg, com ou sem 9.600 BXU / kg de xilanase). As rações e os animais foram pesados no momento do alojamento e aos 7, 21, 35 e 40 dias de idade para determinar o consumo de ração (CMR), ganho de peso corporal médio (GPM) e conversão alimentar (CA). No 21º dia de experimento, 40 aves por tratamento, sendo cada 4 aves a unidade experimental, foram eutanasiadas via deslocamento cervical e evisceradas para coleta de conteúdo ileal e avaliação de digestibilidade (MS, PB, EE e EDI). Os dados foram submetidos à análise de variância ( $P < 0,05$ ) e, quando significativas, as médias foram submetidas ao teste de Tukey a 5% de probabilidade. Não foram observados efeitos para fitase, xilanase e interação entre as enzimas no GPM e CMR ao longo de todo o período ( $p > 0,05$ ). No entanto, quando comparado com 500 FTU de fitase, o uso de 1.500 FTU melhorou significativamente a CA ( $p < 0,05$ ) durante 1-7, 1-21 e 1-34 dias. A maior dose de xilanase melhorou a digestibilidade da PB e EDI em 4,37% e 8,67% de 5,53%, assim como a maior dose de fitase melhorou em 5,53% a digestibilidade da PB. Estes resultados indicaram que a suplementação de fitase e xilanase podem melhorar digestibilidade e conversão alimentar de frangos de corte.

**Palavras-chave:** Conversão alimentar; Enzimas; Fatores antinutricionais.

## ABSTRACT

Phosphorus is an essential nutrient for poultry's maintenance and growth, however on corn-soybean meal diets most part of phosphorus are in the form of phytate, that is not digestible for broilers and consequently reduce animal's performance. The supplementation of phytase associated to other enzymes can overcome these anti-nutritional effects and improve broiler's performance. Thus, the goal of this study was to evaluate different phytase inclusions associated or not to xylanase on broiler's performance. A total of 1,120 Cobb one-day-old male were distributed in a completely randomized design, into 4 treatments (T) and 10 replicates of 28 birds on pen in a 2x2 factorial arrangement (2 levels of phytase: 500 or 1,500 FTU/kg; with or without 9,600 BXU/kg of xylanase. Feed and animals were weighed at placement and at 7, 21, 35 and 40 days-old to determine feed intake (FI), body weight gain (BWG) and feed conversion ratio (FCR). On the 21st day of the experiment, 40 birds per treatment, each 4 birds being the experimental unit, euthanized via cervical dislocation and eviscerated for ileal content collection and digestibility evaluation (DM, CP, CE and IDE). The data were submitted to analyses of variance ( $P < 0.05$ ) and, when significant, means were separated by Tukey test at 5% of probability. No effects were observed for phytase, xylanase and interaction between GPM and CMR enzymes throughout the period ( $p > 0.05$ ). However, when compared to 500 FTU phytase, the use of 1,500 FTU improved CA ( $p < 0.05$ ) for 1-7, 1-21 and 1-34 days. The highest dose of xylanase improved the digestibility of CP and IDE by 4.37% and 8.57%, as well as the highest phytase dose, which improved PB digestibility by 5.53%. These results indicated that phytase and xylanase supplementation may improve digestibility and feed conversion of broilers.

**Key-words:** Anti-nutritional effects; Enzymes; Feed conversion ratio.

## INTRODUÇÃO

A inclusão de enzimas exógenas na alimentação de frangos de corte tem sido amplamente utilizada para melhorar a digestibilidade das dietas, o desempenho animal e, conseqüentemente, aumentar a viabilidade econômica da produção. O aumento do valor nutritivo das dietas com suplementação enzimática pode ser obtido pelos seguintes mecanismos: liberação de fósforo pela hidrólise do fitato, liberação de nutrientes encapsulados pela parede celular vegetal, quebra da parede celular de PNAs, hidrólise de amido e proteínas e eliminação de fatores antiqualitativos (PACK; BEDFORD, 1997).

A suplementação de fitases nas dietas de animais monogástricos já é uma tecnologia consolidada e extensamente aplicada na produção. A liberação enzimática do fósforo de origem vegetal, oriundo da molécula de fitato, possibilita uma redução significativa na suplementação de fósforo inorgânico e conseqüente redução nos custos da dieta, assim como na excreção de fósforo, diminuindo o risco de problemas ambientais associados à utilização das excretas dos animais quando utilizadas como fertilizantes na agricultura (COWIESON; ADEOLA, 2005).

Além disto, a molécula de inositol, liberada a partir da hidrólise completa do fitato, tem sido amplamente estudada por suas ações extra-fosfóricas e influência no desempenho em frangos de corte. Entretanto, ainda são necessários estudos sobre os mecanismos fisiológicos envolvidos neste processo (COWIESON *et al.* 2006).

As xilanases também são comumente utilizadas nas formulações para frangos de corte com o intuito de reduzir os efeitos antiqualitativos dos PNA por meio da diminuição da viscosidade da dieta. Além disso, estas enzimas também podem atuar na despolimerização dos arabinoxilanos em compostos de menor peso molecular. O excesso de fibras no TGI pode agredir a mucosa intestinal, resultando na diminuição da altura dos vilos, que pode levar a redução da absorção dos nutrientes. Neste contexto, a suplementação da xilanase poderia auxiliar a amenizar estes efeitos (ADEOLA *et al.*, 2010).

Sendo assim, a adição da fitase juntamente com a xilanase pode se mostrar uma estratégia interessante, já que a xilanase poderia facilitar o acesso da fitase ao fitato, principalmente através da redução da viscosidade da digesta, aumentando a eficácia da fitase na hidrólise deste composto (COWIESON *et al.*, 2009). Sendo



assim, o objetivo foi avaliar o efeito de diferentes doses de fitase com ou sem a adição de xilanase na digestibilidade ileal e desempenho de frangos de corte.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética ao Uso de Animais (CEUA) do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

### 2.1. Animais e local do experimento

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental Canguiri, pertencente a Universidade Federal do Paraná - UFPR, localizada na cidade de Pinhais - PR. Foram utilizados 1.120 pintos de corte machos da linhagem Cobb®, alojados de 1 a 40 dias de idade em galpão de alvenaria.

Os animais foram distribuídas em boxes medindo 1,65 x 1,25 (comprimento x largura), sendo 2,06 m<sup>2</sup> de área. Foi utilizada cama de maravalha de primeiro lote. A ração e água foram fornecidas à vontade em comedouros tubulares e bebedouros nipple durante todo o período experimental.

A temperatura do galpão foi controlada por meio de campânulas com resistências elétricas e abertura de cortinas, dispostas nas laterais do galpão, sendo as temperaturas máxima e mínima dentro do galpão monitoradas diariamente. O controle da temperatura com resistências foi realizado até os 14 dias, após este período foi realizado apenas através do manejo de cortinas.

### 2.2. Delineamento experimental e dietas

Foram testados quatro tratamentos com 10 repetições de 28 aves por unidade experimental. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, arranjo fatorial 2x2, com duas doses de fitase e duas de xilanase (Tabela 3).

O programa de alimentação foi de 3 fases (Tabela 4): inicial (1-21 dias), crescimento (22-34 dias) e final (35-40 dias) de acordo com as recomendações de Rostagno *et al.*, 2017. Foi adicionado também 1% de Celite nas dietas inicial e final, utilizado para servir como marcador indigestível para posterior estudo de digestibilidade. As enzimas foram adicionadas de maneira *on top* na dieta e não foram consideradas na matriz de nutrientes.

A fitase utilizada foi a Quantum Blue® (AB Vista, Marlborough, UK), obtida a partir da modificação da bactéria *Escherichia Coli* (IUB N<sup>o</sup>. 3.1.3.26). Sua atividade

mínima é de atividade mínima é de 5000 FTU/ g, onde 1 unidade de atividade de fitase foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1  $\mu\text{mol}$  de fósforo inorgânico por minuto a partir de 5 mol de fitato de sódio a pH 5,5 a 37 ° C.

Já a xilanase utilizada foi Econase XT<sup>®</sup> (9.600 BXU/kg de xilanase, Econase XT 25, AB Vista, Wiltshire, UK), derivada do fungo *Trichoderma reesei* que originou a enzima termo estável endo-1,4-beta-xilanase (IUB N<sup>o</sup>. 3.2.1.8). A atividade desta enzima é expressa em unidades de xilanase (BXU), definida como a quantidade de enzima que produz 1 nanomol de açúcares redutores de xilanos em 1 segundo, em pH 5.3 e 50°C.

Para composição das dietas os ingredientes foram homogeneizados em misturador duplo cone de 60 kg para a pré-mistura e um misturador vertical com capacidade de 500 Kg, e foram fornecidas na forma farelada.

**Tabela 3** - Tratamentos experimentais.

<b>Tratamento</b>	<b>Fitase (FTU/kg)</b>	<b>Xilanase (BXU/Kg)</b>
F500	500	-
F1500	1500	-
FX500	500	9600
FX1500	1500	9600

**Tabela 4** - Ingredientes e composição química das dietas experimentais.

<b>Ingredientes (kg)</b>	<b>Inicial</b>	<b>Crescimento</b>	<b>Final</b>
Milho	58,98	69,60	74,41
Farelo de Soja	36,8	26,40	21,80
Calcário	1,39	1,26	1,12
Fosfato	0,95	0,82	0,64
Óleo de soja	0,60	0,80	1,00
Sal	0,54	0,46	0,41
Metionina	0,28	0,20	0,16
Lisina	0,17	0,20	0,21
Premix vitamínico*	0,15	0,12	0,08
Premix Mineral**	0,05	0,05	0,05
Colina	0,08	0,08	0,10
Celite	1,00	-	-
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Composição química estimada</b>			
EM (Kcal/ Kg)	2970	3094	3162
PB (%)	22,26	18,17	16,36
EE (%)	3,98	4,38	4,68
FB (%)	2,97	2,61	2,45
Ca disponível (%)	0,97	0,87	0,76
Ca total (%)	0,87	0,77	0,66
Xilanos (%)	0,43	0,34	0,30
Fitato (%)	1,13	0,99	0,95
P disponível (%)	0,46	0,42	0,38
P total (%)	0,57	0,51	0,46
Na, (%)	0,23	0,19	0,17
<b>Aminoácidos digestíveis</b>			
Lisina, (%)	1,23	1,00	0,89
Metionina, (%)	0,47	0,46	0,45
Met + Cis (%)	0,73	0,74	0,74
Treonina (%)	0,60	0,60	0,60
Triptofano (%)	0,19	0,18	0,18
Arginina (%)	1,12	1,09	1,07
Valina (%)	0,74	0,75	0,75
Isoleucina (%)	0,71	0,70	0,69

\*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, 20mg.

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

### 2.3. Avaliação de desempenho e ensaio de digestibilidade

Todas as aves dos boxes e as sobras de ração nos comedouros foram pesados aos 7, 21, 34 e 40 dias de idade, para determinar o consumo médio de ração (CMR), ganho de peso médio (GPM) e conversão alimentar (CA). A mortalidade foi verificada diariamente.

No 21º dia de experimento, foram eutanaziadas 40 aves por tratamento para a coleta de conteúdo ileal, sendo a unidade experimental composta pelo conteúdo da coleta de 4 aves. As aves foram eutanaziadas por deslocamento cervical e imediatamente evisceradas. O material foi coletado da porção intestinal compreendida a partir de 4 cm do divertículo de meckel em sentido distal até 4 cm antes da junção íleo-ceco-cólica. O conteúdo foi coletado manualmente por meio da compressão do íleo. As amostras foram então acondicionadas em recipientes plásticos identificadas, homogenizadas e congeladas a -18 °C para posterior cálculo de digestibilidade.

#### 2.3.1. Análises químicas

Para as análises químicas, o conteúdo ileal foi descongelado, liofilizado (Liofilizador ModulyoD, Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, USA) até a pressão de vácuo de  $5 \times 10^{-2}$  mbar e moído para realização das análises de matéria seca (MS) a 105 °C, proteína bruta (PB, método 954.01), extrato etéreo (EE, método 954.02) segundo a AOAC (1995) e energia bruta (EB), realizada em bomba calorimétrica (Ike Werke®Modelo C2000 Control).

O teor de cinzas insolúveis em ácido (CIA) foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Vankeulen and Young (1977).

Os cálculos da digestibilidade ileal dos nutrientes foram realizados a partir das formulas descritas abaixo:

$$\text{Fator de indigestibilidade (FI)} = (\text{CIA da dieta}) / (\text{CIA da digesta})$$

$$\text{Digestibilidade dos nutrientes (\%)} = \% \text{ do nutriente na dieta} - (\% \text{ do nutriente na digesta} \times \text{FI}) / \% \text{ do nutriente na dieta.}$$

Energia digestível: EDI (kcal/kg de MS) = EBda dieta - (EB da digesta x FI)

#### **2.4. Análise estatística**

As variáveis de desempenho foram previamente analisadas quanto a normalidade dos dados (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett), seguida por análise de variância (ANOVA) em esquema fatorial 2 x 2 ( $p < 0,05$ ) e quando detectada significativa, as médias foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância.

### **3. RESULTADOS**

#### **3.1. Desempenho**

Houve melhora na conversão alimentar ( $p < 0,05$ ) quando a maior inclusão de fitase (1500 FTU/Kg) foi utilizada, apresentando melhora de 2,09% em comparação a 500 FTU/Kg de fitase (Tabela 5).

Entretanto, não se observou efeito de interação entre Fitase e Xilanase para nenhum dos parâmetros avaliados ( $p > 0,05$ ). Da mesma forma, não houve efeito para os níveis de Xilanase no CMR, GPM e CA e para os níveis de fitase no CMR e GPM ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 5** - Desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes inclusões de fitase e xilanase de 1 a 7 dias.

TRATAMENTO		CMR (g)	GPM (g)	CA (g/g)
Fitase (FTU/kg)	Xilanase (BXU/kg)			
500	0	122	97	1,253
1500	0	121	99	1,224
500	9600	120	96	1,241
1500	9600	121	100	1,218
Principais efeitos				
500 FTU/Kg Fitase		121	97	1,247 <sup>a</sup>
1500 FTU/Kg Fitase		121	97	1,221 <sup>b</sup>
0 Xilanase		120	98	1,230
9600 BXU/Kg Xilanase		121	98	1,239
<b>CV%</b>		4,23	5,17	3,41
P-value Fitase		0,9376	0,1038	0,0310
P-value Xilanase		0,5605	0,9429	0,4630
P-value F*X		0,2958	0,4759	0,7906

Letras diferem médias entre si ao teste de tukey ( $p < 0,05$ ).

No período de 21 dias (Tabela 6) foi observado efeito para os níveis de Fitase na CA ( $p < 0,05$ ), onde a maior inclusão de Fitase (1500 FTU/Kg) mostrou-se 1,22% melhor que o nível de 500 FTU/Kg de fitase. Apesar disto, não houve efeito para níveis de fitase no CMR e GPM.

Neste período também não foi observado efeito de interação entre fitase e xilanase nos níveis de inclusão de xilanase para nenhum dos parâmetros avaliados ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 6** - Desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes inclusões de fitase e xilanase de 1 a 21 dias.

TRATAMENTO		CMR (g)	GPM (g)	CA (g/g)
Fitase (FTU/kg)	Xilanase (BXU/kg)			
500	0	1042	716	1,456
1500	0	1012	708	1,432
500	9600	1016	702	1,449
1500	9600	1044	727	1,437
Principais Efeitos				
500 FTU/Kg Fitase		1029	709	1,452 <sup>a</sup>
1500 FTU/Kg Fitase		1028	718	1,435 <sup>b</sup>
0 Xilanase		1030	714	1,443
9600 BXU/Kg Xilanase		1027	712	1,444
CV%		6,35	7,09	2,18
P-value Fitase		0,9643	0,5548	0,0498
P-value Xilanase		0,8792	0,8877	0,9111
P-value F*X		0,1175	0,2438	0,4729

Letras diferem médias entre si ao teste de tukey ( $p < 0,05$ ).

A conversão alimentar também foi melhorada ( $p < 0,05$ ) com a utilização do maior nível de fitase (1500 FTU/kg) aos 34 dias (Tabela 7), que apresentou-se 2,09% melhor quando comparado ao nível mais baixo de fitase (500 FTU/Kg). Não foi observado efeito da inclusão de fitase para CMR e GPM.

Não houve interação entre as enzimas utilizadas ou efeito para os níveis de Xilanase no CMR, GPM e CA ( $p > 0,05$ ).



**Tabela 7** - Desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes inclusões de fitase e xilanase de 1 a 34 dias.

TRATAMENTO		CMR (g)	GPM (g)	CA (g/g)
Fitase (FTU/kg)	Xilanase (BXU/kg)			
500	0	2797	1708	1,638
1500	0	2766	1706	1,622
500	9600	2765	1697	1,629
1500	9600	2814	1757	1,602
Principais Efeitos				
500 FTU/Kg Fitase		2781	1702	1,634 <sup>a</sup>
1500 FTU/Kg Fitase		2789	1732	1,612 <sup>b</sup>
0 Xilanase		2789	1727	1,615
9600 BXU/Kg Xilanase		2781	1707	1,630
<b>CV%</b>		4,75	4,93	1,74
P-value Fitase		0,8172	0,2097	0,0070
P-value Xilanase		0,8337	0,3954	0,0666
P-value F*X		0,2771	0,1920	0,5162

Letras diferem médias entre si ao teste de tukey ( $p < 0,05$ ).

Aos 40 dias não fo observado efeito de interação ou de níveis de inclusão de ambas as enzimas para nenhum dos parâmetros avaliados ( $p < 0,05$ ; Tabela 9).

**Tabela 8** - Desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes inclusões de fitase e xilanase de 1 a 40 dias.

TRATAMENTO		CMR (g)	GP (g)	CA (g/g)
Fitase (FTU/kg)	Xilanase (BXU/kg)			
500	0	3994	2311	1,729
1500	0	3971	2312	1,718
500	9600	3942	2292	1,720
1500	9600	4071	2366	1,721
Principais Efeitos				
500 FTU/Kg Fitase		3983	2301	1,724
1500 FTU/Kg Fitase		4021	2339	1,719
0 Xilanase		3983	2311	1,723
9600 BXU/Kg Xilanase		4006	2329	1,720
<b>CV%</b>		3,88	3,83	1,12
P-value Fitase		0,2314	0,1398	0,3825
P-value Xilanase		0,5883	0,4818	0,5928
P-value F*X		0,0845	0,1454	0,2933

### 3.2. Digestibilidade

**Tabela 9** - Digestibilidade ileal da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e energia digestível (ED) de frangos de corte alimentados com diferentes inclusões de fitase e xilanase aos 21 dias.

<b>TRATAMENTO</b>					
<b>Fitase (FTU/kg)</b>	<b>Xilanase (BXU/kg)</b>	<b>%MS</b>	<b>%PB</b>	<b>%EE</b>	<b>ED (Kcal/ g de MS)</b>
500	0	60,1	69,0	40,2	2341
1500	0	61,5	72,7	43,9	2409
500	9600	59,1	72,0	44,9	2502
1500	9600	61,7	76,1	50,4	2660
500 FTU/Kg Fitase		59,6	70,5 <sup>b</sup>	42,0	2535
1500 FTU/Kg Fitase		61,6	74,4 <sup>a</sup>	47,6	2421
0 Xilanase		60,8	70,9 <sup>b</sup>	42,5	2375 <sup>b</sup>
9600 BXU/Kg Xilanase		60,4	74,0 <sup>a</sup>	41,1	2581 <sup>a</sup>
<b>CV%</b>		6,07	3,78	18,18	11,59
P Fitase		0,1482	0,0004	0,0637	0,2498
P Xilanase		0,7655	0,0028	0,1230	0,0409
P F*X		0,6469	0,7837	0,7701	0,6427

Letras diferem médias entre si ao teste de tukey ( $p < 0,05$ ).

A utilização de 1500 FTU/Kg de fitase mostrou-se melhor do que a de 500 FTU/Kg ( $p < 0,05$ ), proporcionando um aumento de 5,53% na digestibilidade da PB.

A maior dose de xilanase (9600 BXU/Kg) melhorou a ED e PB ( $p < 0,05$ ) em 8,67% 4,37%, respectivamente, em comparação à não inclusão da enzima.

Não foram observados efeitos de interação em nenhuma das frações avaliadas, assim como de níveis de inclusão das enzimas na digestibilidade da MS e EE ( $p > 0,05$ ).

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Desempenho

A melhora na CA observada neste estudo deve-se principalmente à redução dos fatores antinutricionais do fitato, que melhora a digestibilidade da dieta e o

desempenho zootécnico. Conte *et al.* (2003) obtiveram melhor conversão alimentar sem diferença no GPM e CMR ao combinar fitase e xilanase em dietas frangos de corte aos 21 dias de idade, entretanto, tal estudo relatou a ação das enzimas em conjunto, diferentemente do atual trabalho, onde houve efeito isolado da fitase na CA. A melhora na CA pode ter ocorrido em função do incremento na energia metabolizável da dieta, ocorrido pelo aumento da digestibilidade dos nutrientes que poderiam estar entremeados à molécula de fitato e parede celular de grãos.

Ao avaliar o efeito da fitase e xilanase no desempenho de frangos de corte de 7 a 28 dias utilizando dieta com 57% de trigo, Ravindran *et al.* (1999) também não encontraram diferenças no GPM e CMR entre as dietas contendo enzimas individualmente ou combinadas. Porém, nas dietas em que foram utilizadas enzimas combinadas a conversão alimentar foi significativamente melhor, o que pode ter ocorrido devido à melhora na digestibilidade da dieta, assim como neste trabalho.

De acordo com Selle & Ravindran (2007), a suplementação de fitase em dietas que contenham níveis adequados de fósforo, como as utilizadas neste estudo, podem apresentar menores respostas no desempenho animal quando comparadas a dietas com redução deste mineral. Isto pode ocorrer pois dietas com inclusões elevadas de fósforo poderiam acomodar os efeitos antinutricionais do fitato e barrar respostas à suplementação de fitase.

Em um dos estudos Selle *et al.* (1999) testaram dietas padrão (com níveis adequados de fósforo) e dietas modificadas (com redução no fósforo, cálcio, proteína e energia e relatou-se que a fitase não influenciou o desempenho dos animais alimentados com a dieta padrão. Entretanto, observou-se o aumento de 7,6% no GPM e de 4,7% na CA nas dietas modificadas. Neste contexto, é possível admitir a diminuição dos níveis nutricionais da dieta e contornar a redução no desempenho com a suplementação de fitase, o que tem se mostrado economicamente viável.

Diferentemente deste trabalho, ao avaliarem resultados de 51 trabalhos com frangos de corte alimentados com dietas a base de milho e farelo de soja ou sorgo e farelo de soja, Pack & Bedford (1997) verificaram que a utilização de complexos enzimáticos com fitase e xilanase melhorou em média 2,2% o ganho de peso e 2,8% a conversão alimentar. Da mesma forma, Zanella *et al.* (1999) não verificou efeito no consumo de ração, porém obteve aumento de 2,2% no GPM e melhora de 2,04% na

CA ao avaliar dietas a base de milho e soja para frangos de 1 a 45 dias utilizando fitase e xilanase.

A melhoria na CA sem diferença no CMR e GP encontrada pode estar relacionada à melhora da digestibilidade através da liberação de nutrientes ligados ao fitato, assim como ao aumento da ED obtido com a maior inclusão de xilanase.

Ao estudar a ação de enzimas em dietas à base de milho com diferentes processamentos de soja, Figueiredo *et al.* (1998) observaram melhora significativa no ganho de peso e conversão alimentar das aves. Da mesma forma, Carvalho (2006), ao testar complexos enzimáticos para frangos de corte de 1 a 21 dias, verificou melhora no ganho de peso e conversão alimentar, sem diferença significativa no consumo de ração, o que pode ser explicado pelo aumento da digestibilidade da dieta.

Apesar de não ter sido observada interação entre as enzimas em nenhum dos parâmetros avaliados, Cowieson & Adeola (2005) obtiveram melhor conversão alimentar de aves consumindo dietas com fitase associadas a carboidrases em relação as que consumiram dietas com estas enzimas isoladas.

Segundo Olukosi *et al.* (2007), as carboidrases são capazes de atuar na desestruturação de PNA da membrana celular, o que pode facilitar o acesso da fitase ao fitato armazenado na membrana da parede celular. Estes autores verificaram melhora no desempenho e na digestibilidade da dieta ao utilizarem a combinação de fitase e complexo amilase, xilanase e protease, em dietas para frangos corte.

Apesar disto, Tiwari *et al.* (2010) afirmam que a maior parte da melhoria no desempenho, em dietas à base de milho e soja, é causado pela adição da fitase quando aliada a xilanase. É possível que estes resultados não tenham ocorrido no presente trabalho em virtude da pouca quantidade de substrato para a xilanase atuar, demonstrando efeito somente da fitase, isoladamente, na conversão alimentar. Além disso, Zou *et al.* (2013) afirmam que a ação da xilanase é maior em dietas pobres em energia, diferentemente das dietas utilizadas no atual estudo.

O efeito da fitase na conversão alimentar encontrado neste estudo pode ter ocorrido principalmente em virtude da ação da fitase no aumento da biodisponibilidade dos nutrientes da dieta. De acordo com Cowieson *et al.* (2011), a melhora no desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo altas doses de fitase, sem limitação de fósforo, é atribuída a redução dos fatores

antinutricionais do fitato, que leva a uma melhor absorção dos nutrientes. Além destes fatores, Tejedor *et al.* (2001) explicam que a melhora no desempenho de frangos de corte suplementados com a enzima fitase pode ser ocasionado pelo incremento na digestibilidade ileal da proteína bruta, cálcio e do fósforo.

#### 4.2. Digestibilidade

O aumento na digestibilidade da PB ocasionado quando utilizou-se 1500 FTU/Kg de fitase pode ter ocorrido em virtude do aumento da quebra da molécula de fitato pela enzima, o que pode ter liberado componentes geradores de energia, minerais e aminoácidos, que até então encontravam-se ligados à molécula de fitato e inacessíveis ao animal (COWIESON *et al.*, 2009).

Além disto, o fitato também é capaz de interagir e inibir a ação de proteases endógenas, como tripsina e quimio tripsina, o que pode ocasionar a redução da digestibilidade de proteínas e aminoácidos (LIU *et al.*, 2006). Ao avaliar dietas com alto teor de fitato, o mesmo autor verificou redução de 6% na atividade de pepsina no proventrículo. Entretanto, quando a fitase foi incluída na dieta a atividade da pepsina aumentou até 12% enquanto a de tripsina aumentou 32%. Sendo assim, o aumento na digestibilidade da PB encontrado neste estudo poderia ser atribuído não somente a liberação de nutrientes, como também ao aumento da atividade proteolítica gerado pela inclusão de fitase.

A melhora na digestibilidade da PB também pode ser explicada pela quebra do fitato pela fitase, já que esta molécula piora a digestibilidade de aminoácidos não só pela ligação com os nutrientes, ou por dificultar o acesso de enzimas digestivas, mas também pelas perdas endógenas (SELLE *et al.*, 2006) geradas pela agressão do fitato na mucosa intestinal. De acordo com Cowieson *et al.* (2006), o fitato altera o turnover das células intestinais, aumentando a produção de mucinas e conseqüentemente a perda de nitrogênio endógeno.

Ravindran *et al.* (1999), explica que além de influenciar na solubilidade do fósforo, o fitato também tem a capacidade de influenciar a dinâmica de secreção e absorção no TGI e, apesar destes mecanismos ainda não serem bem elucidados, o acredita-se que esta capacidade esteja relacionada à natureza reativa do fitato e agregação eletrostática da proteína dietética na fase gástrica da digestão.

A melhora na ED pode ter ocorrido em virtude da despolimerização dos polissacarídeos solúveis contidos na dieta, que pode ter diminuído a viscosidade das soluções aquosas na digesta e, conseqüentemente, aumentado o aproveitamento dos nutrientes e da energia do alimento (CHOCT, 1997).

Enquanto observou-se melhora apenas na digestibilidade da PB e ED, Tejedor *et al.* (2001) observaram aumento de 5,2%, 2,4% e 3,8% na digestibilidade ileal da MS, PB e EB, respectivamente, quando adicionada a fitase na ração. Já Zanella *et al.* (1999), relataram melhora de 3% na digestibilidade da PB com adição de complexo enzimático contendo fitase e carboidrase. Kornagay (1996) e Sebastian *et al.* (1996) também descreveram aumento na digestibilidade da proteína bruta com a adição de fitase em dietas para frangos de corte. Apesar disto, Adeola & Sands (2003) descreveram que a adição de fitase não melhorou a digestibilidade ileal de aminoácidos.

Apesar de não ter sido verificada interação entre as enzimas na digestibilidade das frações avaliadas, Schramm *et al.* (2017) relataram efeito de interação entre as enzimas na digestibilidade e metabolizabilidade da dieta ao avaliar a inclusão de níveis crescentes de xilanase com a inclusão ou não de fitase. Segundo os autores, a xilanase pode atuar facilitando o acesso da fitase ao seu substrato, assim como reduzir a ação dos PNA no TGI de frangos de corte.

A melhora na digestibilidade da PB E ED deste trabalho corroboram Coewison *et al.* (2009), que explica que apesar das carboidrases serem tradicionalmente utilizadas para melhorar a energia digestível da dieta, a adição de carboidrases, tais como xilanases e glucanases, também podem aumentar a digestibilidade de aminoácidos em aproximadamente 16% na maioria dos ingredientes vegetais. Entretanto, existem exceções como ingredientes com altas concentrações de fibras insolúveis (como o trigo), onde a melhora da digestibilidade é reduzida, e ingredientes com altas concentrações de fibras solúveis (como centeio e cevada) onde a melhora na digestibilidade é mais elevada.

O aumento na digestibilidade de PB e ED encontrado também pode ser explicado pela atuação da xilanase na hidrólise parcial dos PNA contidos nos ingredientes da dieta, que resulta na diminuição da viscosidade da digesta no intestino delgado promovendo melhor acesso às enzimas digestivas e conseqüente melhor aproveitamento dos nutrientes (MENG *et al* 2005).

Assim como neste estudo, Aftab (2012) observou um aumento de 3,3 a 7,1% na melhora da digestibilidade da PB em dietas utilizando carboidrases isoladas ou complexos enzimáticos de carboidrases. O mesmo estudo relatou um aumento de 1,7 a 12,2% na digestibilidade de aminoácidos.

Segundo Schramm *et al.* (2017), os resultados de digestibilidade com enzimas disponíveis na literatura podem se diferenciar em função de fatores como a existência de diferentes metodologias para avaliar a digestibilidade dos ingredientes e elevada quantidade de enzimas isoladas e misturadas no mercado, desta forma os resultados dos estudos podem ser divergentes.

## **5. CONCLUSÕES**

A inclusão de fitase pode ser utilizada para melhorar a conversão alimentar de frangos de corte de 1 a 34 dias de idade.

Fitase e xilanase são capazes de melhorar a digestibilidade ileal da PB em dietas para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade.

A adição de xilanase é capaz de melhorar a ED de dietas para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade.

## 6. REFERÊNCIAS

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.

ADEOLA, O., JENDZA, J. A., SOUTHERN, L. L., POWELL, S. & OWUSU-ASIEDU, A. Contribution of exogenous dietary carbohydrases to the metabolizable energy value of corn distillers grains for broiler chickens. **Poultry Science**, v.89, p.1947-1954, 2010.

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

CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides: chemical structures and nutritional significance. **Feed milling International**. V.191 p.13-26, 1997.

CONTE, A.J.; TEIXEIRA, A.S.; FIALHO, E.T.; SCHOULTEN, N.A.; BERTICHINI, A.N. Efeito da fitase e xilanase sobre o desempenho e as características ósseas de frangos de corte alimentados com dietas contendo farelo de arroz. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.32, p.1147-1156, 2003.

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

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

COWIESON, A.J., BEDFORD, M.R. The effect of phytase and carbohydrase on ileal amino acid digestibility in monogastric diets: complimentary mode of action? **World's Poultry Science Journal**, v.65, p.609-624, 2009.



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 AJ, WILCOCK P, BEDFORD MR. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. **World's Poultry Science Journal**. v.6,7 p.225–236, 2011.

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.

LIU, G.W.Z.; BRYANT, M.M.; ROLAND, D.A. Comparison of Natuphos and Phyzyme as Phytase Sources for Commercial Layers Fed Corn-Soy Diet. **Poultry Science**, v.85, p.64-69, 2006

MENG, X., B. A. SLOMINSKI, C. M. NYACHOTI, L. D. CAMPBELL, AND W. GUENTER. Degradation of cell wall polysaccharides by combinations of carbohydrase enzymes and their effect on nutrient utilization and broiler chicken performance. **Poultry Science**. v.84, p.37–47, 2005.

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

PACK, M.; BEDFORD, M. Feed enzymes for corn-soybean broiler diets. A new concept to improve nutritional value and economics. **World's Poultry Science Journal**, v.13, p.87-93, 1997.

RAVINDRAN, V.; SELLE, P.H.; BRYDEN, W.L. Effects of phytase supplementation, individually and in combination with glycanase, on the nutritive value of wheat and barley. **Poultry Science**, v.78, n.11, p.1588-1595. 1999.

SCHRAMM, V. G. *et al.* Interaction between xylanase and phytase on the digestibility of corn and a corn/soy diet for broiler chickens. **Poultry Science**. v.96, p.1204–1211, 2017.

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., V. RAVINDRAN, P. H. PITTOLO, AND W. L. BRYDEN. An evaluation of microbial phytase in sorghum-based broiler diets. **Proc. Aust. Poult. Sci. Symp.** v.11, p.97–100, 1999.

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. **Poultry Science**, v.43, p.89-103, 2006.

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

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. **Revista brasileira de zootecnia**. v.30, n.3, p.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. **British Poultry Science**, v.51, p.92-100. 2010.

VAN KEULEN, J. AND YOUNG, B.A. Evaluation of Acid Insoluble Ash as a Natural Marker in Ruminant Digestibility Studies. **Journal of Animal Science**, v.44, p.282-290, 1977.

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

ZOU, J., ZHENG, P., ZHANG, K., DING, X. & BAI, S. Effects of exogenous enzymes and dietary energy on performance and digestive physiology of broilers. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v4, p.1-9, 2013.