



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS “PROF.^a CINOBELINA ELVAS”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**ENZIMAS EXÓGENAS SOBRE A METABOLIZABILIDADE
DOS NUTRIENTES DE INGREDIENTES ALTERNATIVOS
PARA FRANGOS DE CORTE**

FRANCINETE ALVES DE SOUSA
Bom Jesus – PI
2014

FRANCINETE ALVES DE SOUSA

**ENZIMAS EXÓGENAS SOBRE A METABOLIZABILIDADE
DOS NUTRIENTES DE INGREDIENTES ALTERNATIVOS
PARA FRANGOS DE CORTE**

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Atta Farias

Co-orientador: Prof. Dr. Stélio Bezerra Pinheiro de Lima

Dissertação apresentada ao *Campus* Prof. a Cinobelina Elvas da Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Zootecnia, na área de Produção Animal (linha de pesquisa Nutrição Animal), para obtenção do título de Mestre.

Bom Jesus - PI

2014

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial de Bom Jesus
Serviço de Processamento Técnico

S725e Sousa, Francinete Alves de.
Enzimas exógenas sobre a metabolizabilidade dos
nutrientes de ingredientes alternativos para frangos de corte. /
Francinete Alves de Sousa. – 2014.
54 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí,
Campus Prof.^a Cinobelina Elvas, Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia, área de Produção Animal (Nutrição Animal),
Bom Jesus-Pi, 2014.

Orientação: “Prof. Dr. Leonardo Atta Farias”.

1. Complexos multienzimáticos. 2. Digestibilidade.
3. Parede celular. 4. Proteases. 5. Saccharomyces cerevisiae.
Título I.

CDD 636.087

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS “PROF.^a CINOBELINA ELVAS”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Enzimas exógenas sobre a metabolizabilidade dos nutrientes de ingredientes alternativos para frangos de corte

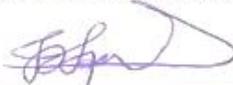
Autor: Francinete Alves de Sousa

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Atta Farias

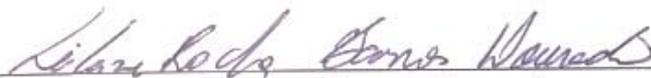
Co-orientador: Prof. Dr. Stélio Bezerra Pinheiro de Lima

Aprovada em: 12 de JUNHO de 2014

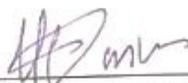
Banca Examinadora:



Prof. Dr. João Batista Lopes
UFPI – CMPP
(examinador externo)



Prof. Dr. Leilane Rocha Barros Dourado
UFPI – CPCE
(examinadora interna)



Prof. Dr. Leonardo Atta Farias
UFPI – CPCE
(orientador)

Bom Jesus – PI
2014

DEDICATÓRIA

A Deus,
Aos meus pais, Manoel Alves de Sousa e Julia Maria de Sousa,
A meu esposo Salvejânis Rocha de Moura e ao meu filhinho que está chegando.

AGRADECIMENTOS

A Deus, o meu salvador, que sempre me guia para as fontes das águas da vida... e que permitiu que estivesse concluindo mais uma etapa dessa caminhada. “Não tenho palavras Senhor pra agradecer tua bondade, nunca me deixas esquecer que tudo que tenho e tudo que sou e o que vier a ser, vem de Ti Senhor, pois dependo de Ti, espero em Ti”.

Ao meu paizão, Manoel Alves de Sousa e minha mãezinha Julia Maria de Sousa, aos meus irmãos Edivalton, Elieide, Eliene, Socorro, Belarmino (Neto), Graça, Elenice, Eldina, Euvania, Raione, Raioneide, Fabiano e Francisco, agradeço por tudo, amo muito vocês e também meus cunhados, cunhadas, sobrinhos e sobrinhas. A minha sogra Aurora e as minhas cunhadas, e demais familiares que acreditaram em mim, e contribuíram de alguma maneira com meus estudos.

Ao Salvejânis, que é razão da minha emoção. Agradeço pelo amor, carinho e compreensão.

Aos meus líderes, em especial o Pr. José Roberto, que estiveram sempre intercedendo a Deus por mim e pela minha família, muito obrigada, pelos conselhos e proteção.

Ao meu orientador professor Leonardo Atta Farias, agradeço pela orientação, pelo apoio, conselhos e preocupação. Serei sempre grata.

A professora Leilane Rocha Barros Dourado, a senhora sabe do carinho e admiração que tenho. Sei que sem a sua contribuição não seria possível concluir esse trabalho. Por tudo que aprendi, seus ensinamentos, conselhos, e oportunidades, muito obrigada professora.

Ao professor Stélio Bezerra Pinheiro de Lima, que desde a graduação tem contribuído para o meu desenvolvimento profissional e também pessoal, pois seus conselhos nos leva a refletir até sobre assuntos fora da universidade, muito obrigada professor.

À Universidade Federal do Piauí pela formação em Zootecnia e ao programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Piauí - CPCE, pelas oportunidades.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Piauí - FAPEPI, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor João Batista Lopes e à Fundação de Apoio à Pesquisa do Piauí – FAPEPI pelo financiamento parcial da pesquisa.

As empresas Safeeds, na pessoa de Ricardo Araújo Castilho e a DSM pelo fornecimento das enzimas.

Ao Colégio Técnico de Bom Jesus, pela autorização para utilização das instalações avícolas.

Ao Odair (Nordeste Rações), pela disponibilidade em nos atender quanto a utilização da fábrica de rações.

Ao diretor do Campus professor Stélio e ao professor Fábio por nos ajudar em coisas simples, mas fundamentais no momento do experimento, por facilitar transporte, motorista... muito obrigada.

Ao Dorgival (motorista de Universidade) por disponibilizar seu tempo, e não medir esforços em nos atender, mesmos nas madrugadas de abate dos frangos.

Ao Grupo de Estudos em Nutrição e Produção da Aves e Suínos - GENPAS, pelas contribuições no período experimental, todos são fundamentais neste grupo, muito obrigada.

Aos colegas de Pós-graduação em especial, minha querida Sheila Vilarindo pela força nos momentos difíceis, neste período de mestrado aprendi muito com você, estará sempre no meu coração.

Aos estagiários, Laércio, Glaucia, Jéssica, Higo e Eunides pela contribuição nos experimentos, e apoio nos momentos difíceis.

Serei sempre grata a todos.

BIOGRAFIA

FRANCINETE ALVES DE SOUSA, filha de Manoel Alves de Sousa e Julia Maria de Sousa, nasceu em Bom Jesus, Estado do Piauí, no dia 12 de Abril de 1985. Em Novembro de 2006 ingressou no curso de Zootecnia pela Universidade Federal do Piauí, Campus Professora Cinobelina Elvas - Bom Jesus - PI, concluindo em Dezembro de 2011. Em Março de 2012, ingressou no curso de Pós-graduação em Zootecnia, nível de Mestrado, na área de concentração Produção Animal, na Universidade Federal do Piauí, Campus Professora Cinobelina Elvas- Bom Jesus-PI, realizando estudos na Linha de pesquisa em Nutrição de Não-ruminantes.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO GERAL	xi
ABSTRACT GERAL	xii
INTRODUÇÃO GERAL	13
CAPÍTULO 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
1 ENZIMAS EXÓGENAS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE	16
1.1 Proteases	18
1.2 Complexos multienzimáticos	19
2 CARACTERIZAÇÃO E UTILIZAÇÃO DA LEVEDURA DE CANA-DE-AÇÚCAR (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	20
3 CARACTERÍSTICAS DO GRÃO DE MILHETO	23
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
CAPÍTULO 2. PROTEASES EXÓGENAS SOBRE A DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES DA LEVEDURA PARA FRANGOS DE CORTE	31
RESUMO	32
ABSTRACT	32
1 INTRODUÇÃO	33
2 MATERIAL E MÉTODOS	34
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4 CONCLUSÃO	40
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
CAPÍTULO 3. COMPLEXOS ENZIMÁTICOS SOBRE A DIGESTIBILIDADE DO MILHETO PARA FRANGOS DE CORTE	43
RESUMO	44
ABSTRACT	44
1 INTRODUÇÃO	45

2 MATERIAL E MÉTODOS	46
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4 CONCLUSÃO	51
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
CONSIDERAÇÕES FINAIS	54

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

TABELA 1 - Exemplos de enzimas utilizadas na alimentação animal.....	16
--	----

CAPÍTULO 2

TABELA 1 - Composição química e energética da levedura inativa de cana-de-açúcar (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>).....	34
---	----

TABELA 2 - Composição das dietas referencias	34
--	----

TABELA 3 - Dietas experimentais	35
---------------------------------------	----

TABELA 4 - Energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio (EMAn), coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB) e da energia bruta (CDEB), na matéria natural, de levedura inativa de cana-de-açúcar para frangos de corte	37
--	----

CAPÍTULO 3

TABELA 1 - Composição das dietas referências	47
--	----

TABELA 2 - Dietas experimentais	47
---------------------------------------	----

TABELA 3 - Energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio (EMAn), coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB) e da energia bruta (CDEB), na matéria natural, do milho para frangos de corte	49
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura da parede celular das leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) 21

RESUMO GERAL

SOUSA, F. A. Enzimas exógenas sobre a metabolizabilidade dos nutrientes de ingredientes alternativos para frangos de corte. 2014. 55f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, 2014.

RESUMO GERAL: objetivo-se de avaliar o efeito de enzimas exógenas sobre a energia metabolizável e coeficiente de digestibilidade de nutrientes da levedura de cana de açúcar e do milho para frangos de corte em diferentes fases de criação. Foram utilizados 1476 frangos de corte machos da linhagem Cobb, adquiridos com um dia de idade, sendo 900 frangos para o ensaio de metabolismo da levedura onde foi considerado aos períodos de 1 a 10, 11 a 20, 21 a 30 e 31 a 40 dias de idade e 576 frangos para o ensaio de metabolismo do milho considerando-se os períodos de 11 a 20, 21 a 30 e 31 a 40 dias de idade, distribuídas em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC). Para cada ensaio de metabolismo foram utilizados 3 tratamentos, seis repetições, no qual foram obtidos a partir da formulação de seis dietas, sendo uma dieta referência formulada a base de milho, farelo de soja e outra dieta teste que foi obtida pela substituição de 30% da dieta referência por levedura inativa de cana-de-açúcar e por 40% de grãos de milho. À dieta referência e à dieta teste foram adicionadas as enzimas proteases para o ensaio com levedura e os complexos enzimáticos CES (fitase, protease, xilanase, b-glucanase, celulase, amilase e pectinase) e o CEV (protease, celulase e amilase) para o ensaio com o milho. Para a levedura verificou que a suplementação com as proteases P1 e P2 reduziram significativamente os valores de EMA, CDMS e CDPB e não houve diferença entre os tratamentos para as variáveis EMAN e CDEB na fase de 1 a 10 dias. Nas fases de 11 a 20, 21 a 30, 31 a 40 dias, não houve efeito significativo entre os tratamentos avaliado. Para o milho, na fase de 11 a 20 dias, a suplementação com o CEV reduziu os valores de EMA, EMAN e CDPB, porém, a suplementação com o CES melhorou o CDPB do milho, e não houve efeito significativo para CDMS e CDEB. Na fase de 21 a 30 dias, houve menor aproveitamento da energia e dos nutrientes do milho com as suplementações CES e CEV. Na fase de 31 a 40 dias as suplementações reduziram significativamente os valores de EMA, EMAN, e o complexo CEV foi efetivo em aumentar o valor de CDPB do milho. A suplementação com proteases P1 e P2 em dietas com levedura inativa de cana de açúcar não melhora os valores de energia nem os coeficientes de metabolizabilidade dos nutrientes para frangos de corte. A inclusão dos complexos multienzimáticos CES e CEV não proporcionaram ganhos na energia metabolizável e melhoria nos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes do milho para frangos de corte.

Palavras-chave: complexos multienzimáticos, digestibilidade, milho, parede celular, proteases, *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT GERAL: the objective of this study was to evaluate the effect of exogenous enzymes on the metabolizable energy and nutrient digestibility coefficient of sugarcane yeast and millet for broiler chickens at different stages of breeding. A total of 1476 male broilers of the Cobb lineage, purchased one day old, were used, with 900 broiler chickens being tested for yeast metabolism, for periods of 1 to 10, 11 to 20, 21 to 30 and 31 to 40 days of age and 576 chickens for the millet metabolism test considering the periods of 11 to 20, 21 to 30 and 31 to 40 days of age, distributed in a completely randomized experimental design (DIC). For each metabolism assay, three treatments, six replicates were used, in which they were obtained from the formulation of six diets, a reference diet formulated with corn, soybean meal and another test diet that was obtained by replacing 30% of the reference diet by inactive yeast of sugarcane and by 40% of millet grains. The protease enzymes for the yeast assay and the enzymatic complexes CES (phytase, protease, xylanase, β -glucanase, cellulase, amylase and pectinase) and CEV (protease, cellulase and amylase) were added to the reference diet and to the test diet. For yeast, it was found that supplementation with P1 and P2 proteases significantly reduced the values of EMA, CDMS and CDPB and there was no difference between the treatments for the EMAN and CDEB variables in the 1 to 10 days phase. In the phases of 11 to 20, 21 to 30, 31 to 40 days, there was no significant effect among the evaluated treatments. For millet, in the 11 to 20 days phase, supplementation with the CEV reduced the EMA, EMAN and CDPB values, however, CES supplementation improved the millet CDPB, and there was no significant effect for CDMS and CDEB. In the 21 to 30 days phase, there was less energy and nutrient utilization of millet with CES and CEV supplements. In the 31- to 40-day period, supplementation significantly reduced EMA, EMAN, and CEV complex was effective in increasing the value of millet CDPB. Supplementation with proteases P1 and P2 in diets with inactivated sugarcane yeast does not improve energy values nor nutrient metabolizability coefficients for broilers. The inclusion of CES and CEV multienzymatic complexes did not provide gains in the metabolizable energy and improvement in the nutrient digestibility coefficients of millet for broiler chickens.

Keywords: complex multienzyme, digestibility, millet, cell wall, proteases, *Saccharomyces cerevisiae*

INTRODUÇÃO GERAL

As dietas para frangos de corte são produzidas principalmente a base de milho e farelo de soja. Esses ingredientes possuem alto valor nutricional, elevada digestibilidade, e são produzidos em grandes quantidades, apresentando-se disponíveis no mercado interno. Mas existe uma grande variedade de alimentos que também podem ser utilizados, no entanto alguns fatores antinutricionais presentes nesses ingredientes podem limitar o seu uso. Com isso há a necessidade de melhorar a sua utilização, no qual as enzimas exógenas tem sido uma estratégia nutricional bastante interessante para melhorar a digestibilidade desses ingredientes.

As enzimas exógenas são eficientes em reduzir os inibidores de tripsina e lectinas, e polissacarídeos não amiláceos (TEJEDOR et al., 2001). Por muito tempo estas foram utilizadas em dietas formuladas com centeio, tricalhe, cevada e trigo, com objetivo de reduzir a viscosidade da digesta, mostrando-se eficientes em melhorar a digestibilidade das rações e conseqüentemente a energia metabolizável desses ingredientes.

As enzimas exógenas não possuem função nutricional direta, estas catalisam reações bioquímicas específicas, melhoram o valor nutritivo dos alimentos, equilibram as deficiências do sistema enzimático endógeno, reduz os fatores antinutricionais e aumentam a digestibilidade dos nutrientes (SEBASTIER; FICHER, 1996; BEDFORD; PARTRIDGE, 2001). Ainda é possível obter vantagens econômicas com possibilidade de formulações de rações com baixo nível nutricional pelo aumento da digestão e redução das perdas nutricionais.

Na produção animal busca-se constantemente reduzir custos com a produção e por isso tem-se dado atenção para a utilização de fontes alimentares alternativas, tanto energéticas como proteicas, para compor as dietas de frangos de corte, em que se incluem, os produtos de origem microbiana como as leveduras de cana-de-açúcar, resultante da produção de álcool, e alguns vegetais como o milheto que é produzido para esta finalidade.

As leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) constituem-se de um grupo de microorganismos unicelulares, com ampla utilização nos processos fermentativos (YAMADA et al., 2003), e apresentam composição química com potencial para utilização como fonte proteica alternativa ao farelo de soja. Além da disponibilidade, em função da safra de cana, material seco na fábrica de ração outros pontos podem ser considerados quanto a utilização de levedura de cana-de-açúcar na alimentação animal como, o alto conteúdo de proteína das células microbianas, balanceamento de aminoácidos, onde os

níveis de lisina e metionina sobressaem em relação a outras fontes proteicas, e o alto conteúdo de vitaminas, no entanto ainda há incertezas científicas quanto às recomendações de uso (ARAÚJO et al., 2009).

Na produção de frangos de corte, o grão de milho é considerado uma alternativa econômica, principalmente no período de entressafra do milho, período em que o preço desse ingrediente se encontra mais elevado, sendo considerado cerca de 30% mais barato que o milho, além de possuir características consideráveis, em termos nutricionais, como teores de proteína, aminoácidos, minerais e energia metabolizável (EMBRAPA, 2006; ROSTAGNO et al., 2011).

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito de enzimas exógenas sobre a energia metabolizável e coeficiente de digestibilidade de nutrientes da levedura de cana de açúcar e do milho para frangos de corte em diferentes fases de criação.

CAPITULO 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Elaborada de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas

(<http://www.abnt.org.br/>)

CAPÍTULO 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 ENZIMAS EXÓGENAS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

Sabastier e Fish (1996) conceituam as enzimas como produtos de origem biológica que catalisam as reações bioquímicas envolvidas na célula, no qual estas reações representam a base do metabolismo de todos os organismos vivos. Tal como todas as proteínas, as enzimas são formadas por cadeias de aminoácidos, e podem catalisar as reações de uma grande quantidade de material. São substratos dependentes, ou seja, a secreção enzimática é ativada pela presença do substrato em que será responsável pela digestão (COSTA et al., 2004). No entanto são sensíveis ao ambiente físico-químico e as variações em que pode modificar sua atividade (SABASTIER; FISH, 1996).

O mercado de enzimas está crescendo rapidamente por causa dos métodos mais eficientes de produção, assim novos campos de aplicação e novas enzimas estão surgindo (BEILEN; LI, 2002), sendo visto um crescimento importante do uso de enzimas em rações para animais (KIRK; BORCHERT; FUGLSANG, 2002). Algumas enzimas utilizadas na indústria de alimentação animal estão sumarizadas na tabela 1.

As enzimas endógenas são produzidas pelo próprio animal e por microorganismos naturalmente presentes no intestino, porém o processo digestivo não tem sua eficiência máxima (BARLETTA, 2010). A principal razão para a utilização de enzimas em rações é o de melhorar o valor nutritivo dos alimentos, uma vez que esta utilização é vista como uma extensão do processo digestivo (BEDFORDE; PARTRIDGE, 2001). Os animais monogástricos e também os ruminantes, utilizam enzimas endógenas para digerir os nutrientes da alimentação.

Tabela 1. Exemplos de enzimas utilizadas na alimentação animal

Enzimas	Substrato	Função	Benefícios
Proteases	Proteínas	Hidrólise de proteínas	Aumenta a digestão das proteínas
Fitases	Alimentos vegetais	Liberação de fosforo	Melhora a absorção do fosforo
Xilanases	Trigo, centeio, tricale	Reduz a viscosidade	Melhora a digestão e utilização dos nutrientes

Amilase	Amido	Hidrolise do amido	Suplementa a amilase em animais jovens
β -Blucanase	Aveia, cevada	Reduz a viscosidade	Melhora a digestão e utilização dos nutrientes

Fonte: Adaptado de Marquardt, 1997.

Aves e suínos não digerem entre de 15 a 25% dos alimentos que ingerem, pelo fato dos ingredientes da ração apresentarem fatores antinutricionais que interferem nos processos digestivos e/ou o animal não produz enzimas específicas que degradam determinados componentes da dieta (BARLETTA, 2010). Desta forma, o menor aproveitamento de nutrientes pode representar um custo maior na produção animal e impacto ambiental, pela conseqüentemente eliminação de resíduos.

Existem várias classes de enzimas, como as oxirredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases, ligases (CLARKSON et al., 2001), sendo estas classificadas de acordo com o substrato que possui afinidade. Os tipos de enzimas comumente disponíveis no mercado são aquelas que quebram principalmente, proteínas, amido e fitato que são proteases, carboidrases e fitases, respectivamente (FORTES, 2010).

Os benefícios do uso de enzimas exógenas na alimentação animal incluem: equilibrar as deficiências do sistema enzimático endógeno do animal, redução dos fatores antinutricionais que estão presentes em muitos ingredientes (BEDFORD; SCHULZE, 1998), melhorar a utilização das rações pelo aumento da digestibilidade dos nutrientes (SIMON, 2000), manutenção da saúde intestinal, pois menores quantidades de nutrientes estarão disponíveis no intestino do animal com potencial de crescimento de bactérias causadoras de doenças (BARLETTA, 2010) e além de que estas devem ser capazes de resistir às condições durante o processo de preparação das rações e/ou do trato gastrointestinal (MCCLEARY, 2001). Têm-se utilizado enzimas também com o objetivo de incorporar matérias primas de baixa qualidade às rações e melhorar o aproveitamento desses ingredientes (NERY et al., 2000). Segundo Pêsoa (2010), a utilização de enzimas pode proporcionar reduções nos custos de rações, no entanto, algumas estratégias devem ser consideradas, pois mesmo que existam bases científicas bem estabelecidas que justifiquem a adição de enzimas exógenas para alguns alimentos, essas informações ainda são insuficientes para outros.

1.1 Proteases

Nas aves, a digestão das proteínas é feita por meio de enzimas presentes no estômago (proventrículo) e intestino delgado. As enzimas digestivas que hidrolisam proteínas são chamadas de proteases e são sintetizadas como zimogênios inativos no estômago e no pâncreas (NERY et al., 2000; MOREIRA; SCAPNELLO; SAKAMOTO, 2004; ISAKSEN; COWIESON; KRAGH, 2010). As proteases são caracterizadas pela sua capacidade para hidrolisar ligações, antes ou depois de aminoácidos específicos (ISAKSEN; COWIESON; KRAGH, 2010).

Proteases são enzimas proteolíticas, classificadas como endopeptidases ou exopeptidases. Ambos os tipos de enzimas atacam ligações peptídicas de proteínas e de polipeptídeos e o que as diferenciam é o local de atuação na molécula proteica (MOREIRA; SCAPNELLO; SAKAMOTO, 2004). As proteases executam uma grande variedade de funções e sua importância na realização das funções metabólicas e reguladoras é evidente a partir de sua ocorrência em todas as formas de organismos vivos, porém os conhecimentos sobre os mecanismos pelos quais eles realizam essas funções é limitado (RAO et al., 1998).

As proteases são enzimas que degradam as proteínas de diversos vegetais que são utilizados como ingredientes na dieta de aves e suínos. Estas são responsáveis por quebrar as proteínas de armazenamento, e atuam sobre os fatores anti-nutricionais proteicos como os inibidores de tripsina que bloqueiam a ação da tripsina produzida pelo pâncreas e as lectinas que se ligam a açúcares, reduzindo a digestibilidade das proteínas. O calor é o método utilizado para eliminar esses fatores, porém ainda irá conter níveis residuais de inibidores de tripsina e lectinas no farelo de soja (RAO et al., 2010). As proteases podem ser usadas para reduzir os níveis de inibidores de tripsina e lectinas, melhorando, assim, a digestibilidade da proteína (BARLETTA, 2010).

As proteases de origem microbiana (bactérias do gênero *Bacillus* e fungos do gênero *Aspergillus*) são preferidas, pois possuem quase todas as características desejadas para as suas aplicações biotecnológicas e requerem espaço limitado para cultivo e são susceptíveis à manipulação genética (RAO et al., 1998, CHAUD; VAZ; FELIPE, 2007). Estas auxiliam na degradação das proteínas da soja, também atuam sobre os fatores antinutricionais, como os inibidores de tripsina e lectinas (THORPE; BEAL, 2001; BEDFORD; PARTRIDGE, 2001; BARLETTA, 2010) e são eficazes em manter o equilíbrio favorável da microflora no trato gastrointestinal e em melhorar o desempenho

produtivo em animais de produção. As proteases apresentam variadas aplicações industriais sendo utilizadas em muitas áreas da pesquisa, o que amplia o campo de utilização dessas enzimas (FLEURI; SATO, 2005).

1.2 Complexos multienzimáticos

Os complexos ou misturas, são produtos que contém mais de uma atividade enzimática que são originados a partir de uma fermentação de vários micro-organismos. A maioria dos complexos enzimáticos é direcionada a substratos da parede celular dos vegetais e a sua utilização tem como objetivo a liberação de energia e a redução da viscosidade do conteúdo intestinal. Os complexos são majoritariamente compostos por frações variáveis de xilanases, glucanases e celulases, e eventualmente outras atividades enzimáticas estão presentes nesses produtos nos quais pertencem a grupos tipicamente produzidos pelo pâncreas como as amilases, proteases e lipases (VIEIRA, 2010).

Existem enzimas destinadas às rações para animais contendo matérias-primas alternativas como o trigo, cevada e triticale, e também para os alimentos comumente utilizados como o milho e o farelo de soja. Segundo Ficher et al. (2002), os objetivos pelos quais as enzimas são utilizadas nas rações já são bem definidos que é de complementar as enzimas que são produzidas pelo próprio animal em quantidades insuficientes (amilases e proteases) e fornecer enzimas que eles não conseguem sintetizar (celulases).

As xilanases, as celulases e as glucanases são produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, e são usadas na alimentação de frangos de corte para hidrolisar os polissacarídeos não amiláceos (PNA's), aumentando a digestibilidade dos alimentos. Os PNA's são constituintes da parede celular dos vegetais e devido à natureza de suas ligações não podem sofrer hidrólise pelo trato gastrointestinal dos monogástricos. Essa dificuldade reduz a energia dos alimentos e prejudica a utilização de outros nutrientes, pois os PNA's são solúveis em água com grande capacidade de absorver água gerando viscosidade na digesta dificultando a ação das enzimas digestivas (CONTE et al., 2003).

Em frangos de corte quando a adição de um complexo enzimático é utilizada, há a probabilidade de ter efeito maior do que quando são utilizados enzimas separadamente (OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2007), como por exemplo a fitase, em que existe limitação na sua atividade, quando é adicionada isoladamente por falta de acesso ao seu substrato (DOURADO, 2008). Melhores resultados podem ser encontrados com a utilização da enzima xilanase quando em associação com outras enzimas exógenas como a protease, amilases ou fitase, facilitando o acesso de outras enzimas como a fitase ao fitato

armazenado na parede celular e das outras enzimas ao conteúdo celular (OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2007; COWIESON; ADEOLA, 2005). Dessa maneira, outros nutrientes ficam a disposição das enzimas endógenas como as amilases, proteases, lipases, com melhor aproveitamento da energia, bem como a redução dos efeitos antinutricionais.

A amilase do gênero *Bacillus* é dirigida para trabalhar na região anterior do trato gastrointestinal do animal, para corrigir a digestão incompleta do amido do endosperma (COSTA et al., 2004). Em pintos de corte, a quantidade de amilase produzida pelo pâncreas é muito baixa devido à imaturidade do trato gastrointestinal (LIMA et al., 2007). A suplementação de α -amilase em pintos de corte reduziu o peso de pâncreas na primeira fase de criação (1 a 7 dias de idade) (GRACIA et al., 2003), indicando uma influência na síntese de enzimas endógenas pelo pâncreas, pois segundo Lima et al. (2007) a inclusão de enzimas exógenas em dietas para aves reduz a síntese de enzimas endógenas.

2 CARACTERIZAÇÃO E UTILIZAÇÃO DA LEVEDURA DE CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharomyces cerevisiae*)

As leveduras são caracterizadas como fungos unicelulares que se reproduzem assexuadamente por brotamento, com seu desenvolvimento ocorrendo em fermentação alcoólica (FRANCO; LANGDRAF, 2008). As formas predominantes são ovais ou elípticas, com dimensões variadas, apresentando cerca de 4 a 16 μ de diâmetro (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1997; MARTINS, 2009). Existem, pelo menos, 80 gêneros de leveduras com aproximadamente 600 espécies conhecidas, dentre essas, a *Saccharomyces cerevisiae* tornou-se um organismo importante para estudos (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007).

A parede celular das leveduras é bastante espessa, com cerca de 70 nm de espessura, e não apenas serve como proteção e estrutura, mas também é importante para o metabolismo celular (ASSIS, 1996). Os principais componentes da parede celular das leveduras são β -1,3 e β -1,6-glucanos ligados, mananoproteínas e quitina (ORLEAN, 2012) como apresentado na Figura 1. Os glucanos e a quitina são responsáveis pela rigidez da parede celular e definição de sua forma, enquanto as mananoproteínas e sua porção de carboidrato α -D-manano são responsáveis pelo reconhecimento e interações entre células, interações com o meio ambiente, e determinam a especificidade imunológica (GOMES, 2009).

A parede celular das leveduras é formada por camadas externa e internas constituídas de mananoproteínas (20 a 23%) e glucanas (40 a 60%), respectivamente, onde

são necessárias enzimas específicas para o rompimento da parede externa de mananaproteínas, para disponibilizar as proteínas inseridas, dentre as quais as proteases são responsáveis pela degradação (FLEURI; SATO, 2005; FLEURI; SATO, 2008).

Chaud e Sgarbieri (2006) ao recuperarem 83,7% da parede celular das leveduras, encontraram 25,1% de mananas, 42,9% de glucanas, 9,5% de glicoproteínas e 6,2% de fração lipídica. As leveduras também possuem quantidades importantes de aminoácidos, pois em estudos com extratos de leveduras, Silva et al. (2009) encontraram em maior quantidade os aminoácidos, ácido glutâmico, leucina, ácido aspártico, alanina, prolina, lisina, valina, serina, isoleucina, glicina e treonina.

As leveduras de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) vem sendo testada como fontes de proteínas na produção de rações para várias espécies animais como frangos de corte, suínos, cães, bovinos e peixes (MEDRI; MEDRI; CAETANO FILHO, 2005; PARRA, 2009; SILVA et al., 2009; RIGUEIRA, 2009; LIMA, 2010).

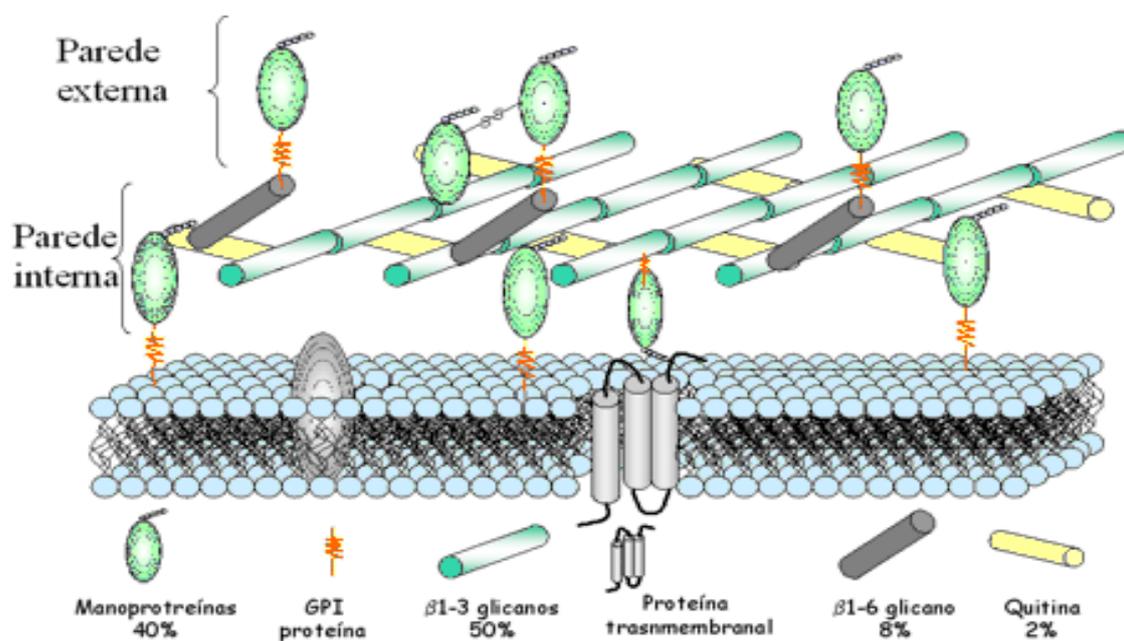


Figura 1. Estrutura da parede celular da levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*). Fonte: www.eq.ufrj.br/biose/nukleo/aulas/Microbiol/eqb353_aula_03.pdf

A produção de levedura em grande escala no Brasil se dá principalmente no segmento industrial sucro-alcooleiro (produção de açúcar e álcool), podendo ainda ser produzida nos setores, cervejeiro e de panificação (BARBOSA, 2011). O Brasil é líder na produção de cana-de-açúcar, com produções na safra 2012/2013 chegando a 588,9 milhões de toneladas e com estimativas de crescimento de 10,7% na safra seguinte, com consequente aumento na produção de açúcar e etanol, segundo dados da Conab (2013).

A produção de etanol a partir da cana-de-açúcar é realizada principalmente por meio da via metabólica de fermentação alcoólica, sendo as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* responsáveis por essa fermentação, no qual são capazes de converter diversos tipos de açúcares fermentescíveis em etanol e gás carbônico por meio de uma série de reações enzimáticas intracelulares. Estes açúcares estão presentes em diversas culturas como cana-de-açúcar, milho, beterraba, trigo (GOLDEMBERG, 2012; WHEALS et al., 1999). A fermentação alcoólica que acontece nas dornas de fermentação para a produção de álcool ocorre em três etapas distintas: a pré-fermentação, fermentação principal e pós-fermentação (ANTONINI, 2012; WHEALS et al., 1999) e nesse processo de fermentação gera-se uma quantidade significativa de leveduras que segundo Del Rio (2004), para cada litro de álcool produzido é gerado 30g de levedura seca.

Mais de 90% da biomassa de leveduras é reutilizada de uma fermentação para outra, o que leva à formação de altas densidades celulares no interior das dornas, reduzindo o tempo de fermentação e aumentando a produtividade em relação à capacidade instalada nas unidades produtoras de álcool (AMORIM; LEÃO, 2005), e 10% da biomassa de levedura são retiradas para secagem.

A levedura produzida na destilaria de álcool é seca por rolagem ou por spray-dry. As unidades de pequeno porte adotam geralmente o secador de rolo rotativo por representar menor custo, enquanto que as unidades de maior porte se inclinam ao uso de secadores spray-dry (ZANUTTO et al., 1999). No método de secagem em rolos rotativos, o leite de levedura é seco pelo contato direto com a superfície aquecida do rolo rotativo a uma temperatura que pode ser superior a 200°C. O método por spray-dry leva a um produto final com aspecto de pó fino. A temperatura máxima atingida e o tempo de contato durante a secagem por spray-dry é menor em relação à secagem por rolo rotativo, e isso pode resultar em um produto de melhor qualidade nutricional, caracterizada pela uniformidade de umidade, granulometria, cor e principalmente pela preservação de aminoácidos (FURCO, 1996; ZANUTTO et al., 1999). Faria et al. (2000) concluíram que a levedura seca pelo método spray-dry é nutricionalmente melhor do que a seca em rolo rotativo, em um estudo com coelhos em crescimento.

A levedura de cana-de-açúcar, assim como outros coprodutos, apresenta uma grande variabilidade de composição bromatológica. Rostagno et al. (2011) e Embrapa (1991) encontraram valores de proteína bruta e energia bruta de 37,2 e 31,39%, 4157 e 4092 kcal/kg, respectivamente. Hisano et al. (2008) observaram valores de proteína bruta

de 49,17% e Longo et al. (2005) trabalhando com levedura seca encontraram teores proteínicos brutos e energia bruta 32,12 % e 4077 kcal/kg, respectivamente.

Quanto ao uso na alimentação animal, Granjeiro et al. (2001) não observaram efeito significativo na inclusão 7,5% de levedura de cana-de-açúcar nas dietas para frangos de corte para as variáveis ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar, rendimento de carcaça e porcentagem de gordura abdominal. Machado et al. (2010) avaliaram o desempenho e rendimento de carcaça e gordura abdominal de frangos de corte alimentados com dietas contendo levedura de cana-de-açúcar “spray-dry”, autolisada e parede celular de levedura como substitutos aos antibióticos promotores de crescimento, e concluíram que essa substituição não prejudica as características avaliadas.

Longo et al. (2005), comparando diferentes fontes proteicas, entre outros, a levedura seca para frangos de corte na fase pré-inicial, não observaram influência sobre o ganho de peso. O tratamento com levedura seca apresentou maior consumo de ração e a conversão alimentar na primeira semana, porém na fase inicial (8 a 21 dias) não foi observada influência significativa entre os tratamentos aplicados, em inclusão de 13,65%.

3 CARACTERÍSTICAS DO GRÃO DE MILHETO

O milho é caracterizado como uma planta forrageira anual, de clima quente, que pode ser produzida entre os períodos de plantio de outras culturas, apresenta alto valor nutricional podendo ser utilizada na produção de rações. Sendo uma forrageira anual de verão pode ser utilizada tanto como forragem como para produção de grão, representando uma fonte alternativa durante o ano para os produtores de grãos, podendo também ser uma alternativa ao milho na produção animal (LAWRENCE; ADEOLA; ROCLER, 1995).

O grão de milho apresenta comprimento que varia de 15 a 60 cm, é relativamente pequeno representado cerca de 1/3 do tamanho do grão de sorgo e possui cor variando de branco cremoso ao marrom escuro, não apresenta tanino e a produção de espigas ocorre após 60 dias de plantio, tendo como característica importante para seu cultivo, a capacidade de produção em condições de clima seco e em solos de baixa fertilidade (CATELAN, 2010). Como no Brasil o cultivo do milho se dá em sistema de plantio direto e em sucessão ao cultivo da soja, isso faz com que em certas épocas ocorra maior disponibilidade desse ingrediente para comercialização com preços mais baixos pelo menor custo de produção. O grão de milho ainda apresenta 75% de endosperma, 17% de

gérmen, 8% de casca e seu elevado valor nutricional se deve a proporção de gérmen no grão que é o dobro em relação ao do sorgo, por exemplo (GODOY, 2009).

O milheto apresenta 12,71% de proteína, e seu valor energético se aproxima a do milho (ROSTAGNO et al., 2011, GOMES et al., 2008). Segundo Bastos et al. (2005), o grão de milheto apresenta variações de 87 a 90% na matéria seca, 11,4 a 13,8% na proteína bruta e 3986 a 4073 kcal na energia bruta ao comparar a composição nutricional e energética de vários grãos de milheto. Além disso, tem-se verificado maiores quantidades de aminoácidos essenciais como lisina, metionina, treonina e triptofano, em comparação com o milho (ROSTAGNO et al., 2011). Segundo a Embrapa (2008) o valor nutricional do milheto chega a média de 15% de proteína com digestibilidade de até 78% e além do seu valor nutritivo, representa menor custo para produção de rações para animais.

Gomes et al. (2008) determinaram a composição nutricional e energética do milheto e sua utilização em rações para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade e verificaram que o milheto é fonte de energia e proteína, pois este apresentou 2656 kcal/kg de energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio e 12,71% de proteína, os autores recomendaram o nível de até 20% de substituição ao milho.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, H.V.; LEÃO, R.M. **Fermentação alcoólica: Ciência e tecnologia**. 1ª ed. Piracicaba: Fermentec Publicações Editora e Comércio de Livros Ltda, 2005. 433p.

ANTONINI, S. R. C. **Métodos de análises e monitoramento microbiológico em laboratório de destilaria**. 2004. Disponível em: <www.ciencialivre.pro.br> Acesso em: 26 out. 2012.

ARAÚJO, L. F.; DIAS, M. V. C.; BRITO, E. A.; OLIVEIRA JÚNIOR, S. Enriquecimento proteico de alimentos por levedura em fermentação semissólida: alternativa na alimentação animal. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.3, n.4. p.47-53, 2009.

ASSIS, E. M. Componentes da parede celular de leveduras: proteínas e polissacarídeos de interesse das indústrias farmacêuticas e de alimentos. In: Workshop – Produção de biomassa de levedura: utilização em alimentação humana e animal, 1996, Campinas. **Anais...** Campinas: ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1996. p.41-51.

BARBOSA, E. N. R. B. **Valor nutricional do resíduo da indústria sucro-alcooleira para frangos de corte**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2011. 92p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2011.

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

BASTOS, A. O., LANDELL FILHO, L. C., PASSIPIERI, M., BASTOS, J. F. P. Diferentes níveis de grão de milho (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Brown) na alimentação de suínos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1753-1760, 2002.

BEDFORD, M. R., SCHULZE H. Exogenous enzymes for pigs and poultry. **Nutrition Research Reviews**, v.11, n.01, p.91-114, 1998.

BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. Enzymes in Farm Animal Nutrition. CABI Publishing. Ed. Finfeeds International, **Marlborough, Wiltshire**, UK. p.432, 2001.

BEILEN, J. B. V., LI, Z. Enzyme technology: an overview. **Current Opinion in Biotechnology**, v.13, p.338–344, 2002.

CATELAN, F. **Avaliação de grãos de milho (*Pennisetum Glaucum*) na alimentação de coelhos em crescimento**. 2010, 71p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual de Maringá, - UEM – Maringá – PR, 2010.

CHAUD, L. C. S.; VAZ. P. V.; FELIPE, M. G. Considerações sobre a produção microbiana e aplicações de proteases. **Nucleus, Ituverava**, v.4, n.1-2, p.87-97, 2007.

CHAUD, S. G.; SGARBIERI, V. C. Propriedades funcionais (tecnológicas) da parede celular de leveduras da fermentação alcoólica e das frações glicana, manana e glicoproteína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p.369-379, 2006.

CLARKSON, K.; JONES, B.; BOTT, R.; BOWER, B.; CHOTANI, G.; BECKER, T. Enzymes: screening, expression, design and production. In: BEDFORD, M. R.;

PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm nutrition**. Londres: Cab International, 2001. p.315-352.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, segundo levantamento, agosto/2013** - Companhia Nacional de Abastecimento. – Brasília: Conab 2013.

CONTE, A. J.; TEIXEIRA, A. S.; FIALHO, E. T., SCHOULTEN, N. A.; BERTECHINI, A. G. 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 de Zootecnia**, v.32, n.5, p.1147-1156, 2003.

COSTA, F. G. P.; CLEMENTINO, R. H.; JÁCOME, I. M. T. D.; NASCIMENTO, G. A. J.; PEREIRA, W. E. Utilização de um complexo multienzimático em dietas de frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, v.5, n.2, p.63-71, 2004.

COWIESON, A. J.; O. ADEOLA. Carbohydrases, protease, and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. **Poultry Science**, n.84,:p.860–1867, 2005.

DEL RIO, D. T. **Biossorção do cádmio por levedura (*Saccharomyces cerevisiae*)**. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 2004. 66p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, Piracicaba – São Paulo, 2004.

DOURADO, L. R. B. D. **Enzimas exógenas em dietas para frangos de corte**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2008. 94p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2008.

EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves. **Tabelas de composição química e valores energéticos de alimentos para suínos e aves**. 3.ed. Concórdia, 1991. 97p.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **A cultura do milho**. Embrapa Milho e Sorgo, 2008. Acessado em 31/03/2014. Disponível em <http://www.snt.embrapa.br/publico/usuarios/produtos/331-Anexo1.pdf>

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **O milho e suas múltiplas funções**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. Acessado em 31/03/2014. Disponível em <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/945060/1/Milheto1.pdf>

FARIA, H. G.; SCAPINELLO, C.; FURLAN, A. C.; FURLAN, A. C.; MOREIRA, I.; MARTINS, E. N. Valor nutritivo das leveduras de recuperação (*Saccharomyces* sp.), seca por rolo rotativo ou por “spray-dry”, para coelhos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 1750-1753, 2000.

FISCHER, G., MAIER, J. C., RUTZ, F., BERMUDEZ, V. L. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, com ou sem adição de enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.402-410, 2002.

FLEURI, L. F.; SATO, H. H. Estudo da influência de diferentes parâmetros na produção de enzimas líticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.2, p.299-310, 2008.

FLEURI, L. F.; SATO, H. H. Produção, purificação, clonagem e aplicação de enzimas líticas. **Química Nova**, v.28, n.5, p.871-879, 2005.

FORTES, B. D. A. **Avaliação de programa nutricional com a utilização de enzimas em rações para frangos de corte**. 2010. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo, Editora Atheneu, 2008.

FURCO, A. M. Produção de Biomassa de Levedura em destilarias de álcool. In: “Workshop” Produção de biomassa de levedura: utilização em alimentação humana e animal, 1996, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA – Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1996. p.52-58.

GODOY, H. B. R. **Granulometria de grãos em rações para frangos Label Rouge**. 2009, 83p. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Universidade Federal de Goiás, - UFG – Goiania – GO, 2009.

GOLDEMBERG J. **The Brazilian biofuels industry. Biotechnology for Biofuels**, v.1, p.1-7, 2008. Disponível em: <<http://www.biotechnologyforbiofuels.com/content/1/1/6>> Acesso em: 25 out. 2012.

GOMES, M.O.S. **Efeito da adição de parede celular de levedura sobre a digestibilidade, microbiota, ácidos graxos de cadeia curta e aminas fecais e parâmetros hematológicos e imunológicos de cães**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2009. 79p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2009.

GOMES, P. C., RODRIGUES, M. P., ALBINO, L. F. T., ROSTAGNO, H. S., GOMES, M. F. M., MELLO, H. H. C., BRUMANO, G. Determinação da composição química e energética do milho e sua utilização em rações para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.9, p.1617-1621, 2008.

GRACIA, M. I.; ARANÍBAR, M. J.; LÁZARO R.; MEDEL, P.; MATEOS, G. G. α -amylase supplementation of broiler diets based on corn. **Poultry Science**, v.82, n.3, p.436–442, 2003.

GRANGEIRO, M. G. A.; FUENTES, M. F. F.; FREITAS, E. R.; ESPÍNDOLA, G. B.; SOUZA, F. M. Inclusão da levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas para frango de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.766-773, 2001.

HISANO, H.; SAMPAIO, F. G.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E. Composição nutricional e digestibilidade aparente da levedura íntegra, da levedura autolisada e da parede celular pela tilápia-do-nilo. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.1, p.43-49, 2008.

ISAKSEN, M. F.; COIESON, A. J.; KRAGH, K. M. Starch- and protein-degrading enzymes: biochemistry, enzymology and characteristics relevant to animal feed use. In:

BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm nutrition**. Londres: Cab International, 2010. p. 85-95.

KIRK, O.; BORCHERT, T. V.; FUGLSANG, C. C. Industrial enzyme applications. **Current Opinion in Biotechnology**, v.13, p.345–351, 2002.

LAWRENCE, B.V.; ADEOLA, O.; ROGLER, J.C. Nutrient digestibility and growth performance of pigs fed pearl millet as a replacement for corn. **Journal of Animal Science**, v.73, n.7, p.2026-2032, 1995.

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

LIMA, S. B. P. **Levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) na alimentação de frangos de corte**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2009. 73p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2010.

LONGO, F. L.; MENTEN, J. F. M.; PEDROSO, A. A.; FIGUEIREDO, A. N.; RACANICCI, A. M. C.; GAIOTTO, J. B.; SORBARA, J. O. B. Diferenças fontes de proteína na dieta pré-inicial de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.1, p.112-122, 2005.

MACHADO, D. A. V., SARTORI, J. R., PEZZATO, A. C., FASCINA, V.B., MADEIRA, L. A., CARRIJO, A. S., CRUZ, V. C. Levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) spray-dry, autolisada e parede celular na alimentação de frangos de corte. **Veterinária e Zootecnia**, v.17, n.4, p.541-551, 2010.

MARQUARDT, R. R. Enzyme enhancement of the nutritional value of cereals: role of viscous, water-soluble, non starch polysaccharides in chick performance. In: Marquardt R.R.& Han Z. (ed.): **Enzymes in Poultry and Swine Nutrition**, International Development Research Centre, Ottawa, ON, Canada. 5–17, 1997.

MARTINS, M. S. **Leveduras de cerveja e cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*), autolisada e íntegra, na dieta de cães**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2009. 93p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2009.

MCCLEARY, B. V. Analysis of feed enzymes. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm nutrition**. Londres: Cab International, 2001. p. 85-107.

MEDRI, V.; MEDRI, W.; CAETANO FILHO, M. Desempenho de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus* L.) Alimentadas com diferentes níveis de proteínas de levedura de destilaria em tanques-rede. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v. 27, p. 221-227, 2005.

MOREIRA, I.; SCAPINELLO, C.; SAKAMOTO, M. U. Fisiologia da digestão e absorção de proteínas em aves. In: SAKOMURA, N. K. et al. Curso de fisiologia da digestão e metabolismo dos nutrientes em aves. Jaboticabal. 2004. CD-ROM.

NERY, V. L. H., LIMA, J. A.F., ALVARENGA, R. C. M., FIALHO, E. T. Adição de enzimas exógenas para leitões dos 10 aos 30 kg de peso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.794-802, 2000.

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

ORLEAN, P. Architecture and Biosynthesis of the *Saccharomyces cerevisiae*. **Cell Wall Genetics**, vol. 192, 775–818, 2012.

PARRA, A. R. P. **Levedura spray dry (álcool e cervejaria) na alimentação de suínos**. 2009. 67p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Maringá. Maringá. 2009.

PELCZAR JR, M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. v.1, 2.ed. São Paulo: Pearson Makron Books, 1997. 524p.

PESSOA, G. B. S. **Avaliação de complexo enzimático em dietas de frangos de corte**. 2010. 75p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 2010.

RAO, M. B.; TANKSALE, A. M.; GHATGE, M. S.; DESHPANDE, V. V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.62, p.597-635, 1998.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 856p.

RIGUEIRA, L. C. M. **Plasma e ou extrato de levedura em dietas de leitões nos períodos pré e pós-desmame**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2009. 69p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2009.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3ª ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011, 252 p.

SABATIER, A. M.; FISH, N. M. Method of analysis for feed enzymes: methodological problems? **Journal of Applied Poultry Research**, Savoy, v.5, n.4, p.408-413, 1996.

SILVA, V. K.; AMOROSO, L.; FUKAYAMA, E. H.; DOURADO, L. R. B.; MORAES V. M. B. Digestibilidade do extrato de leveduras em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.10, p.1969-1973, 2009.

SIMON, O. Non starch polysaccharide (nsp) hydrolysing enzymes as feed additives: mode of action in the gastrointestinal tract. **Lohmann information**, n. 23, p.7, 2000.

TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; VIEITES, F. M. Efeito da adição da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.802-808, 2001.

THORPE, J.; BEAL, J. D. Vegetable protein meals and the effects of enzymes. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm nutrition**. Londres: Cab International, p. 125-143, 2001.

VIEIRA, S. L. Utilização de proteases em rações de aves domésticas. In: Conferencia FACTA de Ciência e Tecnologia Avícola, 2010, Santos. **Anais...** Santos: FACTA – Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola, 2010, p.99-108.

WHEALS, A. E.; BASSO, L.C.; ALVES, D. M. G.; AMORIM H. V. Fuel ethanol after 25 years. **Trends in Biotechnology**, v.17, n.12, p.482-487, 1999.

YAMADA, E. A.; ALVIM, I. D.; SANTUCCI, M. C. C.; SGARBIERI, V. C. Composição centesimal e valor proteico de levedura residual da fermentação etanólica e de seus derivados. **Revista de Nutrição**, v.16, n.4, p.423-432, 2003.

ZANUTTO, C. A.; MOREIRA, I.; FURLAN, A. C.; SCAPINELLO, C.; MURAKAMI, A. E. Utilização da levedura de recuperação (*Saccharomyces sp.*), seca por rolo rotativo ou por spray spray-dry, na alimentação de leitões na fase inicial. **Acta Scientiarum**, v.21, n.3, p.705-710, 1999.

**CAPÍTULO 2 – “PROTEASES EXÓGENAS SOBRE A METABOLIZABILIDADE
DOS NUTRIENTES DA LEVEDURA DE CANA-DE-AÇÚCAR
PARA FRANGOS DE CORTE”**

Elaborada de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas
(<http://www.abnt.org.br/>)

Proteases exógenas sobre a metabolizabilidade dos nutrientes da levedura de cana-de-açúcar para frangos de corte

Resumo: objetivou-se determinar a energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn), bem como os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB) e energia bruta (CDEB) da levedura inativa de cana-de-açúcar isolada e suplementada com proteases exógenas para frangos de corte. Um total de 900 frangos de corte machos, Cobb 500, foram distribuídos em 36 gaiolas de metabolismo para coleta de excretas, com 3 tratamentos que foram definidos a partir de seis dietas, com seis repetições. Os tratamentos foram: T1) composição de leveduras sem proteases; T2) composição de leveduras + protease 1; T3) composição de leveduras + protease 2. Para definir os tratamentos T1, T2 e T3 foram utilizadas as dietas D1 e D4, D2 e D5, e D3 e D6, respectivamente. Na fase de 1 a 10 dias verificou a suplementação com as proteases P1 e P2 reduziram significativamente os valores de EMA, CDMS e CDPB. Não houve diferença entre os tratamentos para as variáveis EMAn e CDEB. Nas fases de 11 a 20, 21 a 30, 31 a 40 dias, não houve efeito significativo entre os tratamentos avaliado. A suplementação com proteases P1 e P2 em dietas com levedura inativa de cana de açúcar não melhora os valores de energia nem os coeficientes de metabolizabilidade dos nutrientes para frangos de corte.

Palavras-chave: composição química, enzimas, fonte proteica, parede celular, *Saccharomyces cerevisiae*

Exogenous proteases on the metabolizability of sugarcane yeast nutrients for broilers

Abstract: The objective of this study was to determine apparent metabolizable energy (EMA), apparent metabolizable energy corrected by nitrogen balance (AMEn), as well as the dry matter (CDMS), crude protein (CDP) and crude energy (CDEB) Of inactive sugarcane yeast isolated and supplemented with exogenous proteases for broiler chickens. A total of 900 male broilers, Cobb 500, were distributed in 36 metabolic cages for excreta collection, with 3 treatments that were defined from six diets with six replicates. The treatments were: T1) yeast composition without proteases; T2) yeast composition + protease 1; T3), yeast + protease 2 composition. To define the treatments T1, T2 and T3 were used the diets D1 and D4, D2 and D5, and D3 and D6, respectively. In the 1 to 10 days phase the supplementation with proteases P1 and P2 significantly reduced the values of EMA, CDMS and CDPB. There was no difference between the treatments for the EMAn and CDEB variables. In the phases of 11 to 20, 21 to 30, 31 to 40 days, there was no significant effect among the evaluated treatments. Supplementation with proteases P1 and P2 in diets with inactivated sugarcane yeast does not improve energy values nor nutrient metabolizability coefficients for broilers.

Keywords: chemical composition, enzymes, protein source, cell wall,

1 INTRODUÇÃO

O uso de proteases em dietas para aves visa a otimização da utilização das proteínas da alimentação, pois estas liberam os aminoácidos para serem absorvidos. Alguns alimentos possuem fatores antinutritivos que impedem o aproveitamento da proteína da dieta fazendo com que parte dessa proteína seja excretada no ambiente. Dessa maneira, essa baixa utilização das proteínas dos alimentos pode representar uma oportunidade de utilização de enzimas exógenas em dietas para frangos de corte, afim de melhorar a digestibilidade das proteínas dos alimentos, além de suplementar a produção enzimática endógena.

As proteases são enzimas que catalisam a hidrólise total das proteínas (RAO, 1998). As proteases endógenas são produzidas pelo pâncreas e tem ação proteolítica (MOREIRA, et al. 2004), e as proteases exógenas podem ser produzida por microrganismos ou plantas.

O alimento proteico mais utilizado em dietas para frangos de corte é o farelo de soja. No entanto os elevados custos de produção deste ingrediente tem estimulado os nutricionistas a fazerem opções por fontes proteicas alternativas para compor as dietas. E dentre essas fontes tem-se a levedura de cana de açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*), que apresenta composição química com potencial para utilização como ingrediente proteico em dietas de aves para substituir a proteína do farelo de soja. Pesquisas tem demonstrado que a levedura de cana pode ser incluída em dieta para aves (FREITAS et al., 2013; RUTZ et al., 2006).

A proteína da levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) está presente principalmente na parede celular, podendo estar ligadas a mananas ou polímeros da parede, que podem ser rompidos mediante ação de enzimas proteases (MARTINS, 2009; FLEURI; SATO, 2005).

A suplementação com proteases exógenas tem sido alvo de muitos estudos, uma vez que estas maximizam a digestibilidade proteica, disponibilizando assim os aminoácidos que podem contribuir também com a energia metabolizável dos alimentos, principalmente aqueles com alto conteúdo de proteína. A utilização de enzimas em dietas para frangos de corte tem sido cada vez mais constante, sendo impulsionada pelos aumentos nos custos dos ingredientes e pelas expectativas de redução dos impactos

ambientais gerados pela produção animal, no entanto poucos estudos são conduzidos para avaliar a utilização de enzimas monocomponentes, pois é mais comum o uso de complexos multienzimáticos.

Diante do exposto, objetivou-se determinar a energia metabolizável aparente, energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio, bem como os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e energia bruta da levedura inativa de cana-de-açúcar isolada e suplementada com proteases exógenas para frangos de corte.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em galpão de frangos de corte do Colégio Técnico de Bom Jesus - PI e as análises químicas, no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UNESP – Jaboticabal e UFPI.

Utilizou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado, com 3 tratamentos (leveduras sem proteases, leveduras + protease 1 e leveduras + protease 2), que foram definidos a partir de seis dietas (tabela 1) com seis repetições de oito aves no primeiro ensaio, seis aves, no segundo e terceiro ensaio e cinco aves no quarto ensaio por unidade experimental.

Foram utilizadas seis dietas para cada fase, sendo uma dieta referência (D1), que foi formulada a base de milho, farelo de soja e suplementadas com minerais, vitaminas e aminoácidos sintéticos, de maneira a atender as exigências nutricionais de frangos de corte machos de desempenho regular segundo as recomendações de Rostagno et al. (2011) de acordo com as fases de criação (tabela 3), e outra dieta teste (D4) obtida pela substituição de 30% da dieta referência por levedura inativa de cana-de-açúcar. À dieta referência e à dieta teste foram adicionadas as enzimas proteases P1 e P2, na proporção de 125g e 200g/tonelada, respectivamente, constituindo assim as demais dietas experimentais.

Tabela 1. Dietas experimentais

Dietas	
D1	100% dieta referência
D2	100% dieta referência + enzima P1 (125 g/ton)
D3	100% dieta referência + enzima P2 (200 g/ton)
D4	70% dieta referência + 30% de levedura
D5	70% dieta referência + 30% de levedura + enzima P1 (125 g/ton)
D6	70% dieta referência + 30% de levedura + enzima P2 (200 g/ton)

Foram realizadas análises para determinar os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), energia bruta (EB), matéria mineral (MM) da levedura de cana-de-açúcar conforme as técnicas descritas por Silva e Queiroz (2002) (Tabela 2).

Tabela 2. Composição química e energética da levedura inativa de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*)¹

Característica	Composição
Matéria seca %	96,80
Proteína bruta %	34,41
Extrato etéreo %	0,01
Matéria mineral %	7,80
Energia bruta kcal/kg	4189

¹ Realizada no LANA – UFPI.

Tabela 3 - Composição e valores calculados das rações experimentais para frangos de corte

Ingredientes	Idade			
	1 a 10	11 a 20	21 a 30	31 a 40
Milho grão	55,140	60,987	63,409	67,374
Farelo de soja	37,900	32,794	30,299	26,991
Óleo de soja	2,030	1,781	2,327	2,235
Fosfato bicálcico	1,910	1,488	1,245	1,028
Calcário calcítico	0,910	1,057	0,937	0,831
Dl-metionina	0,420	0,280	0,241	0,210
L-lisina	0,280	0,231	0,185	0,187
Sal comum	0,510	0,482	0,457	0,444
Supl. Min. Vit. ¹	0,400	0,400	0,400	0,200
Inerte	0,500	0,500	0,500	0,500
Total	100,000	100,000	100,000	100,000
Composição nutricional e energética				
Ácido linoleico (%)	2,455	2,393	2,703	2,701
Cálcio (%)	0,920	0,860	0,750	0,650
Energ. Met. Aves (mcal/kg)	2,925	2,980	3,050	3,100
Fósforo disponível (%)	0,470	0,384	0,335	0,290
Lisina dig. Aves (%)	1,304	1,141	1,045	0,969
Met.+cist. Dig. Aves (%)	0,939	0,822	0,763	0,707
Potássio (%)	0,856	0,777	0,738	0,689
Proteína bruta (%)	22,00	20,000	19,000	17,800
Sódio (%)	0,220	0,210	0,200	0,195

A fornece/kg de dieta (pré-inicial): ácido fólico – 200,00 mg; biotina-10,00mg; clorohidroxiquinolina-7500,00mg; zn – 17,50g ; vit. A – 1680000,00 ui; vit. B1 – 436,50 mg; vit. B12 2400,00 mcg; vit. B2 – 1200,00 mg; vit. B6 - 624 mg; vit. D3 – 400000,00 ui; vit. E, 3500,00ui; vit. K 3 – 360,00 mg; niacina – 8399,00 mg; nicarbazina -25,00g; ácido pantotênico – 3120,00 mg; colina – 78,10g; se-75,00mg; fe 11,25g; mn – 18,74g; cu -1997,00 mg; i – 187,00mg. (inicial): ácido fólico – 199,00 mg;biotina-10,00mg; clorohidroxiquinolina-7500,00mg; zn – 17,50g ; vit. A – 1680000,00 ui; vit. B1 – 436,50 mg; vit. B12 2400,00 mcg; vit. B2 – 1200,00 mg; vit. B6 – 624,00 mg; vit. D3 – 400000,00 ui; vit. E, 3500,00ui; vit. K 3 – 360,00 mg; niacina – 8400,00 mg; monensina-25,00g; ácido pantotênico – 3119,00 mg; colina – 80,71g; se-75,00mg; ferro 11,25g; mn – 18,74g; cobre -1996,00 mg; id – 187,47mg. (crescimento): ácido fólico – 162,50 mg; clorohidroxiquinolina-7500,00mg; zn – 17,50g ; vit. A – 1400062,50 ui; vit. B1 – 388,00 mg; vit. B12 2000,00 mcg; vit. B2 – 1000,00 mg; vit. B6 520,00mg; vit. D3 – 360012,00ui; vit. E, 2500,00ui; vit. K 3 – 300,00 mg; niacina – 7000,00 mg; salinomicina -16,50g; ácido pantotênico – 2600,00 mg; colina – 71,59g; se-75,00mg; fe 11,25g; mn – 18,74g; cu -1996,00 mg; i – 187,47mg. (final): ácido fólico – 162,50 mg; óxido de zinco – 17,500mg ; se – 75mg; vit. A – 1.400.00 ui; vit. B1 – 388 mg; vit. B12 2.000 mc; vit. B2 – 1.000 mg; vit. B6 - 520 mg; vit. D3 - 1.600 ui; vit. E, 2.500 mg; vit. K 3 – 300 mg; zn - 70 ppm; niacina – 7.000 mg; ácido pantotênico – 2.600 mg; colina – 71.593,49 mg;fe 11,250mg; mn – 18,750 mg; cu -2.000 mg; i –

Novescentos frangos de corte machos, da linhagem Cobb 500 foram adquiridos de um incubatório comercial com um dia de idade. Foram realizados quatro ensaios de digestibilidade, no qual no início de cada fase todas as aves foram pesadas individualmente e avaliadas nas fases de 1 a 10, 11 a 20, 21 a 30 e 31 a 40 dias de idade com pesos médios iniciais de 42,50g, 235,45g, 593,61g e 1224,00g respectivamente, e distribuídas uniformemente em gaiolas de estudos metabólicos, disposta em baterias de três andares, no qual foram mantidas até o final da fase. As gaiolas eram providas de bandejas metálicas coletoras revestidas com plásticos para facilitar as coletas e evitar o contato direto das excretas com a bandeja.

As aves que não estavam em fase experimental foram mantidas em galpão convencional de alvenaria, com bebedouro pendular, comedouro tubular e piso coberto com casca de arroz, ingerindo uma dieta formulada para atender às exigências nutricionais de cada fase, segundo as recomendações de Rostagno et al. (2011) e foram manejadas conforme manual da linhagem com fornecimento de água e ração à vontade.

O consumo de ração foi controlado e a água foi fornecida à vontade durante dez dias, sendo cinco dias de adaptação às instalações e às dietas e cinco de coleta total das excretas. As coletas foram realizadas duas vezes ao dia, uma na parte da manhã e outra na parte da tarde.

Após as coletas, as excretas foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas por unidade experimental e mantidos em freezer. No final do período de coleta, as sobras de ração foram pesadas para quantificar o consumo de ração e as amostras das rações foram identificadas e armazenadas. Ao final das coletas, as excretas foram descongeladas, homogeneizadas, amostradas (200g), submetidas à pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 72 horas e moídas em moinho “tipo faca” com peneiras de 0,5 mm, para posteriores análises laboratoriais de matéria seca, nitrogênio e energia bruta. As dietas experimentais também foram submetidas a análises laboratoriais de matéria seca, nitrogênio e energia bruta.

Obtidos os resultados das análises laboratoriais, avaliou-se a energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) e os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e

energia bruta (EB), utilizando-se as equações propostas por Matterson *et al.* (1965). A partir dos valores de EMAn determinados para as dietas experimentais, foi possível calcular o valor de EMAn do milho sobre a influência das enzimas proteases 1 e 2:

$$\text{EMAn (levedura/ enzima)} = \text{EMA (dieta 1)} + \frac{(\text{EMA (dieta 4)} - \text{EMA (dieta 1)})}{\% \text{ de substituição da levedura}}$$

$$\text{EMAn (levedura c/protease 1 P1)} = \text{EMA (dieta 2)} + \frac{(\text{EMA (dieta 5)} - \text{EMA (dieta 2)})}{\% \text{ de substituição da levedura}}$$

$$\text{EMAn (levedura c/protease 2 P2)} = \text{EMA (dieta 3)} + \frac{(\text{EMA (dieta 6)} - \text{EMA (dieta 3)})}{\% \text{ de substituição da levedura}}$$

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM do SAS. Os valores obtidos foram comparados pelo teste Student Newman Keuls (SNK) considerando-se o nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios das temperaturas máximas e mínimas e da umidade relativa do ar registrados no galpão no período de 1 a 10 dias foram 37,4°C, 23,3°C e 52%, respectivamente. No período de 11 a 20 dias, as temperaturas máxima e mínima observadas foram 36,4°C e 21,7° C, respectivamente, com 55,6% de umidade. No período de 21 a 30 dias, as temperaturas máxima e mínima observadas foram 38,3°C e 22,7° C, respectivamente, com 60,4% de umidade. No período de 31 a 40 dias, as temperaturas máxima e mínima observadas foram 39,5°C e 23,1° C, respectivamente, com 57,2% de umidade.

Na fase de 1 a 10 dias de idade (experimento 1) verificou-se que os valores de EMA, CDMS e CDPB foram significativamente ($p < 0,05$) menores em dietas com levedura suplementadas com as enzimas proteases P1 e P2. Os valores de EMAn e CDEB foram semelhantes ($p > 0,05$) (tabela 4).

Não foi detectada nenhuma diferença na EMA, EMAn, CDMS, CDPB e CDEB entre os tratamentos avaliados nas fases de 11 a 20, 21 a 30 e 31 a 40 dias de idades (experimentos 2, 3 e 4 respectivamente) ($p > 0,05$) (tabela 4).

Tabela 4. Energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio (EMAn), coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB) e da energia bruta (CDEB), na matéria natural, de levedura inativa de cana-de-açúcar para frangos de corte

TRATAMENTOS	EMA (kcal/kg de MS)	EMAn	CDMS	CDPB %	CDEB
Experimento 1 - 1 a 10 dias de idade					
Levedura	2579a	2251	51,32a	53,54a	58,25
Levedura + P1	2167b	1978	42,43b	39,51b	49,53
Levedura + P2	2027b	1975	41,87b	38,83b	59,31
C.V.	7,583	8,004	8,563	12,691	11,905
Prob.	0,0013	ns	0,0051	0,0043	ns
Experimento 2 - 11 a 20 dias de idade					
Levedura	2385	2150	50,12	51,74	53,33
Levedura + P1	2257	2036	51,00	48,19	51,62
Levedura + P2	2181	2070	53,46	52,55	53,07
C.V.	7,766	7,670	7,452	13,098	7,513
Prob.	ns	ns	ns	ns	ns
Experimento 3 - 21 a 30 dias de idade					
Levedura	2389	2295	55,48	45,29	56,89
Levedura + P1	2559	2551	59,30	42,15	61,19
Levedura + P2	2602	2641	59,41	50,50	60,86
C.V.	7,993	11,024	12,048	21,436	11,070
Prob.	ns	ns	ns	ns	ns
Experimento 4 - 31 a 40 dias de idade					
Levedura	2311	2305	47,78	54,02	49,94
Levedura + P1	2376	2337	50,85	52,17	51,65
Levedura + P2	2356	2334	48,10	51,40	51,39
C.V.	8,167	7,902	9,852	13,373	11,795
Prob.	ns	ns	ns	ns	ns

Médias com letras diferentes na coluna diferem pelo teste de SNK (P<0,05)

CV: coeficiente de variação; ns: não significativo.

Geralmente os resultados de produção para frangos de corte que receberam proteases exógenas na fase inicial são significativamente aumentados (STRADA et al., 2005). Entretanto observa-se que os melhores resultados são encontrados em dietas a base de milho e farelo de soja (FREITAS et al., 2011), pois nesta primeira fase de vidas das aves, há maior exigência em proteína e conseqüentemente há mais substratos pela maior inclusão de farelo de soja à dieta. Neste estudo o substrato adicionado foi a levedura de cana que, além de possuir alta resistência ao ataque enzimático, tanto endógeno como exógeno, à parede celular com conseqüente redução na digestibilidade, frangos de corte nas primeiras semanas de vida possuem baixa capacidade de produção de enzimas

pancreáticas, devido ao desenvolvimento imaturo do trato gastrointestinal (LONGO et al., 2005).

Segundo Yamada et al. (2003), a parede celular das leveduras é composta principalmente por proteínas, fibras, cinzas e ácidos nucléicos, sendo a fibra dietética representada por carboidratos como, mananas e glucanas. Quanto mais rígidas forem as ligações que mantêm a estrutura da parede, mais difícil será a ação das enzimas digestivas e mais baixa a sua digestibilidade. Perdomo, Vargas e Campos (2004) determinando a digestibilidade verdadeira e energia metabolizável verdadeira da levedura, e seus derivados, extrato e parede celular, verificaram que a parede celular apresenta menor digestibilidade e energia, pois mananas e glucanas, mantiveram sua integridade pela ausência de determinadas enzimas no trato gastrointestinal de animais não ruminantes. Outro fator a considerar é a origem da levedura, pois Yamada et al. (2003) indicaram maior espessamento da parede celular das leveduras das destilarias de álcool resultando em menor digestibilidade da estrutura da célula e aproveitamento da proteína.

Segundo Longo et al. (2005) é necessário o rompimento da parede celular para melhorar a digestibilidade e o aproveitamento das proteínas da levedura nesta fase de vida (1 a 10 dias). Associado a isto, a baixa capacidade de produção enzimática endógena nos primeiros dias de vida das aves, interfere significativamente na utilização dos alimentos, resultando em menor energia metabolizável e digestibilidade dos nutrientes. Em frangos de corte a produção de proteases pelo pâncreas é ativada pelas proteínas que entram no trato digestivo, que ocorre mesmo antes da eclosão, sendo evidenciado aumento gradual na atividade de proteases, atingindo o máximo ao 3º e 4º dia de idade, e a secreção de suco pancreático torna-se adequada por volta do 10º dia (COSTA et al., 2004; NOY; SKLAN, 1997; MAHAGNA et al., 1995).

O máximo crescimento alométrico do pâncreas coincide com o maior incremento na produção das enzimas digestivas. Assim mudanças na atividade de proteases (tripsina, quimiotripsina) são verificadas em função da idade das aves e do alimento/substrato, podendo o aproveitamento da energia dos alimentos, ser afetado pela dependência da produção enzimática endógena (SAKOMURA et al., 2004; LIMA et al., 2002; NOY; SKLAN, 1997).

Neste estudo, as enzimas utilizadas não foram eficazes em degradar a parede celular das leveduras para liberar as proteínas inseridas, possivelmente, pelo fato destas não serem substratos específicos para atividade desses tipos de proteases. As enzimas endógenas poderiam agir na degradação dessas moléculas, porém, além da baixa produção

enzimática nesta fase, a inclusão de enzimas exógenas nas dietas de frangos de corte pode reduzir a síntese destas pelo pâncreas (Zanella et al., 1999; Lima et al., 2007). Dessa forma a redução na produção de protease endógena pode limitar o aproveitamento da proteína.

Embora a suplementação enzimática tenha como finalidade a complementação de enzimas endógenas que são produzidas em quantidade insuficientes, o melhor aproveitamento de uma dieta provocada pela suplementação enzimática pode depender da preparação enzimática específica, visto que enzimas específicas são estritamente limitadas a sua capacidade catalítica (LIMA et al., 2002). Em estudos conduzidos por Freitas et al. (2011), foram encontrados efeitos positivos com a suplementação de proteases no aproveitamento da proteína/aminoácidos em dietas a base de milho e farelo de soja.

Para a levedura de cana ser degradada pelas aves, é necessário que estas tenham um aparato enzimático com atividades específicas, pois a parede celular é composta predominantemente de β -glucanas, seguidas por mananaproteínas e em menor quantidade por quitinas, sendo a fração fibrosa da levedura (β -glucanas e quitinas) responsável pelo efeito diluidor da EMA e EMAN das dietas, podendo estas serem afetadas negativamente (ORLEAN, 2012; LOPES et al., 2011; FLEURI; SATO, 2005). Dessa maneira, estudos conduzidos por Fleuri e Sato (2010) demonstraram que o conjunto de enzimas como proteases, mananases, β -glucanases e quitinases são capazes de degradar a parede celular das leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*).

Não foram observados efeitos significativos da inclusão de proteases em dietas com leveduras de cana sobre as variáveis estudadas nas fases de 11 a 20, 21 a 30 e 31 a 40 (experimentos 2, 3 e 4, respectivamente). Estes resultados podem estar associados ao desenvolvimento completo do trato gastrointestinal, que acontece a partir do 10º dia. Embora a presença de enzimas exógenas no intestino delgado induzir a redução na produção de enzimas endógenas, a partir da segunda semana de vida, as aves aumentam a sua capacidade de produção de enzimas pancreáticas (MAHAGNA et al., 1995), resultando em um equilíbrio na degradação dos nutrientes, mesmo com a inclusão de proteases exógenas.

4 CONCLUSÃO

A suplementação com as proteases P1 e P2 em dietas com levedura inativa de cana de açúcar para frangos de corte não melhora os valores de energia nem os coeficientes de metabolizabilidade dos nutrientes.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COSTA, F. G. P.; CLEMENTINO, R. H.; JÁCOME, I. M. T. D.; NASCIMENTO, G. A. J.; PEREIRA, W. E. Utilização de um complexo multienzimático em dietas de frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, v.5, n.2, p.63-71, 2004.

FLEURI, L. F.; SATO, H. H. Produção de protoplastos e lise da parede celular de leveduras utilizando β -1,3 glucanase. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.2, p.471-476, 2010.

FLEURI, L. F.; SATO, H. H. Produção, purificação, clonagem e aplicação de enzimas líticas. **Química Nova**, v.28, n.5, p.871-879, 2005.

FREITAS, E. R.; LIMA, R. C.; SILVA, R. B.; SUCUPIRA, F. S.; BEZERRA, R. M. Substituição do farelo de soja por levedura de cana-de-açúcar em rações para frangos de corte. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 1, p. 174-183, 2013.

FREITAS, D. M.; VIEIRA, S.J.; FAVERO, A.; MAIORKA, A. Performance and nutriente utilization of broilers fed diets supplement with a novel mono-component protease. **Poultry Science Association**, 20:322-334, 2011.

LIMA, A. C. F.; MACARI, M.; PIZAURO JÚNIOR, J. M.; MALHEIROS, E. B. Atividade enzimática pancreática de frangos de corte alimentados com dietas contendo enzima ou probiótico. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4, n.3, p.187-193, 2002.

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

LONGO, F. L.; MENTEN, J. F. M.; PEDROSO, A. A.; FIGUEIREDO, A. N.; RACANICCI, A. M. C.; GAIOTTO, J. B.; SORBARA, J. O. B. Carboidratos na dieta pré-inicial de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.1, p.123-133, 2005.

LONGO, F. L.; MENTEN, J. F. M.; PEDROSO, A. A.; FIGUEIREDO, A. N.; RACANICCI, A. M. C.; GAIOTTO, J. B.; SORBARA, J. O. B. Diferenças fontes de proteína na dieta pré-inicial de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.1, p.112-122, 2005.

LOPES, C. C.; RABELLO, C. B. V.; SILVA JÚNIOR, V. A.; HOLANDA, M. C. R.; ARRUDA, E. M. F.; SILVA, J. C. R. Desempenho, digestibilidade, composição corporal e morfologia intestinal de pintos de corte recebendo dietas contendo levedura de cana-de-açúcar. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.33, n.1, p.33-40, 2011.

MAHAGNA, M.; NIR, I.; LARBIER, M.; NITSAN, Z. Effect of age and exogenous amylase and protease on development of the digestive tract, pancreatic enzyme activities and digestibility of nutrients in young meat-type chicks. **Reproduction Nutrition Development**, v.35, p.201-212, 1995.

MARTINS, M. S. **Leveduras de cerveja e cana-de açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*), autolisada e íntegra, na dieta de cães**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e

Veterinárias. 2009. 93p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2009.

MATTERSON, L. D.; POTTER, L. M.; STUTZ, N.W. *et al.* The metabolizable energy of feed ingredients for chickens. *Reserch Report*. v.7 , n.1, p. 3-11,1965.

MOREIRA, I.; SCAPINELLO, C.; SAKAMOTO, M. U. Fisiologia da digestão e absorção de proteínas em aves. In: SAKOMURA, N. K. et al. Curso de fisiologia da digestão e metabolismo dos nutrientes em aves. Jaboticabal. 2004. CD-ROM.

NOY, Y.; SKLAN, D. Posthatch development in poultry. **Applied Poultry Research**, 6:344-354, 1997.

ORLEAN, P. Architecture and Biosynthesis of the Saccharomyces cerevisiae. **Cell Wall Genetics**, v.192, p.775–818, 2012.

PERDOMO, M. C.; VARGAS R. E.; CAMPOS J. G. Valor nutritivo de la levadura de cervecería (Saccharomyces cerevisiae) y de sus derivados, extracto y pared celular, en la alimentación aviar. **Archivos latinoamericanos de producción animal**, v.12, n.3, p.89-65, 2004.

RAO, M. B.; TANKSALE, A. M.; GHATGE, M. S.; DESHPANDE, V. V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.62, p.597-635, 1998.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3ª ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011, 252 p.

RUTZ, F.; ANCIUTI, M. A.; RECH, J. L.; GONÇALVES, F. M.; DELGADO, A. D.; ROSA, E. R.; ZAUKE, N.; RIBEIRO, C. L. G.; SILVA, R. R.; DALLMANN, P. R. Desempenho e características de carcaças de frangos de corte recebendo extrato de leveduras na dieta. **Ciência Animal Brasileira**, v.7, n.4, p.349-355, 2006.

SAKOMURA, N. K.; BIANCHI, D. M.; PIZAURO JR. J. M.; CAFÉ, M. B.; FREITAS, E. R. Efeito da idade dos frangos de corte sobre a atividade enzimática e digestibilidade dos nutrientes do farelo de soja e da soja integral. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.924-935, 2004.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos** 3. ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.

STRADA, E. S. O.; ABREU, R. D.; OLIVEIRA, G. J. C. *et al.* Uso de Enzimas na Alimentação de Frangos de Corte. **Rev. Bras. Zootec.**, v.34, n.6, p.2369-2375, 2005.

YAMADA, E. A.; ALVIM, I. D.; SANTUCCI, M. C. C.; SGARBIERI, V. C. Composição centesimal e valor proteico de levedura residual da fermentação etanólica e de seus derivados. **Revista de Nutrição**, v.16, n.4, p.423-432, 2003.

ZANELLA I.; SAKOMURA N.K.; SILVERSIDES F.G.; FIQUEIRDO A.; PACK, M.
Effect of supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. **Poultry Science**.
78:561-568, 1999.

**CAPÍTULO 3 – “COMPLEXOS ENZIMÁTICOS SOBRE A DIGESTIBILIDADE
DO GRÃO DE MILHETO PARA FRANGOS DE CORTE”.**

Elaborada de acordo com as normas da
Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Complexos enzimáticos sobre a energia metabolizável e digestibilidade dos nutrientes do milho para frangos de corte

Enzyme complexes on metabolizable energy and nutrient digestibility of millet for broiler chickens

Resumo: objetivou-se avaliar o efeito de complexos enzimáticos sobre a energia metabolizável e coeficiente de digestibilidade de nutrientes do milho para frangos de corte. 576 frangos de corte machos, Cobb 500, foram distribuídos em 36 gaiolas de metabolismo, com três tratamentos: T1 - composição de milho sem complexo enzimático; T2 - composição de milho com complexo enzimático (CES) e T3 - composição de milho com complexo enzimático (CEV). Os tratamentos foram definidos a partir das seis dietas experimentais (3 dietas referência e 3 dietas teste) e a adição de enzimas consistiu da utilização de dois complexos enzimáticos: combinações de fitase, protease, xilanase, b-glucanase, celulase, amilase e pectinase (CEV) e protease, celulase e amilase (CES). Na fase de 11 a 20 dias, a suplementação com o CEV reduziu os valores de EMA, EMAn e CDPB, porém, a suplementação com o CES melhorou o CDPB do milho, e não houve efeito significativo para CDMS e CDEB. Na fase de 21 a 30 dias, houve menor aproveitamento da energia e dos nutrientes do milho com as suplementações CES e CEV. Na fase de 31 a 40 dias as suplementações reduziram significativamente os valores de EMA, EMAn, e o complexo CEV foi efetivo em aumentar o valor de CDPB do milho. A inclusão dos complexos multienzimáticos CES e CEV não proporcionaram ganhos na energia metabolizável e melhoria nos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes do milho para frangos de corte.

Palavras-chave: alimento alternativo, dietas, enzimas, protease, xilanase

Abstract: The objective of this study was to evaluate the effect of enzymatic complexes on metabolizable energy and nutrient digestibility coefficient of millet for broilers. 576 male broilers, Cobb 500, were distributed in 36 metabolism cages with three treatments: T1 - millet composition without enzymatic complex; T2 - composition of enzymatic complex (CES) and T3 - composition of millet with enzymatic complex (CEV). Proteins, phytase, xylanase, b-glucanase, cellulase, amylase and pectinase (CEV) E protease, cellulase, and amylase (ESC) were the treatments defined from six experimental and

enzyme diets. In the 11 to 20 days phase, a supplementation with the CEV reduced the EMA, EMAn and CDPB values, however, a CES supplementation improved the non-millet CDPB, and there was no significant effect for CDMS and CDEB. In the 21 to 30 days phase, the energy and nutrients of millet were less utilized with CES and CEV supplements. In the 31 to 40 days phase as supplements reduced significant values of EMA, EMAn, and the CEV complex was effective in increasing the value of CDPB of millet. The inclusion of CES and CEV multienzyme complexes is not provided by the gains in the metabolizable energy and the results of the corn nutrient digestibility coefficients for broilers.

Key words: alternative food, diets, enzymes, protease, xylanase

Introdução

Na produção avícola busca-se a redução dos custos de produção com a utilização de ingredientes que possam compor as dietas e que atendam as demandas nutricionais dos animais, no entanto, muitos ingredientes possuem fatores que impedem a utilização dos nutrientes, sendo necessária a aplicação de estratégias nutricionais para tornar possível a expressão do ótimo desempenho produtivo.

O milho é o ingrediente mais utilizado nas formulações de rações para frangos de corte, mas outras fontes alternativas são empregadas em sua substituição. As principais razões para essa substituição são o fato deste ingrediente sofrer oscilações de preço ao longo do ano, resultando na elevação dos custos de produção, e pela possibilidade de utilização de ingredientes regionais como o milheto.

Em relação ao milho, o milheto apresenta maior teor de proteína, maior concentração de aminoácidos como a lisina, metionina e a treonina, com valor de energia bruta semelhante (Gomes et al. 2008; Basto et al., 2005; Rostagno et al., 2011).

A energia metabolizável do milheto para frangos de corte é inferior à do milho, mas algumas estratégias podem ser empregadas para melhorar os valores de energia e disponibilidade dos nutrientes para esses animais, no qual tem-se a inclusão de enzimas exógenas que atuam na degradação da fibra dos alimentos, como exemplo, as xilanases, β -glucanases, pectinases, celulase ou para complementar as enzimas produzidas em quantidades insuficientes pelo próprio animal como as amilases, proteases e lipases.

Apesar do milho não apresentar fatores antinutricionais importantes (Garcia et al, 2011), a sua digestibilidade pode ser melhorada com a inclusão de enzimas exógenas que não são produzidas por animais não-ruminantes.

O uso de enzimas em dietas para frangos de corte é recente e essa tecnologia tem evoluído bastante com o surgimento de novos produtos e melhor entendimento da relação entre a atividade enzimática e o substrato. As enzimas apresentam especificidade para cada nutriente e atuam na degradação da parede celular dos vegetais, permitindo o acesso dos substratos contidos no conteúdo celular para melhor aproveitamento dos nutrientes (Oliveira et al., 2007), além de destruir os fatores antinutricionais presentes em alguns alimentos e potencializar a ação de enzimas endógenas, resultando em melhor desempenho produtivo. Entretanto a maioria das recomendações se baseiam na matriz da enzima em dietas com milho e soja, sendo imprescindível o conhecimento da ação das mesmas sobre outros ingredientes.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar o efeito de complexos enzimáticos sobre a energia metabolizável e coeficiente de digestibilidade de nutrientes do milho para frangos de corte em diferentes fases de criação.

Material e Métodos

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação da Universidade Federal do Piauí, Campus Bom Jesus - PI, sob protocolo nº. 087/2012, em 11 de outubro de 2012.

O experimento foi conduzido em galpão convencional de frangos de corte do Colégio Técnico de Bom Jesus - PI e as análises químicas, no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UNESP - Jaboticabal e UFPI - Teresina.

Foram realizados três ensaios de digestibilidade com frangos de corte nas fases de 11 a 20, 21 a 30 e 31 a 40 dias de idade com pesos médios iniciais de 221,3g, 793,0g e 1463,6g respectivamente, utilizando-se o método tradicional de coleta total de excretas descrito por Sakomura e Rostagno (2007).

Para definição dos três tratamentos foram utilizadas seis dietas experimentais (Tab.1) com seis repetições e, seis aves por unidade experimental (no primeiro ensaio - 11 a 20 dias) e cinco aves por unidade experimental (no segundo - 21 a 30 dias e terceiro ensaio - 31 a 40 dias), totalizando 576 frangos de corte machos, da linhagem Coob 500, adquiridos com um dia de idade.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 3 tratamentos: milho sem complexo enzimático, milho + complexo enzimático S (CES),

milheto + complexo enzimático V (CEV). As dietas foram constituídas de uma dieta referência (D1) formulada a base de milho, farelo de soja e suplementações com minerais, vitaminas e aminoácidos sintéticos, segundo as recomendações de Rostagno et al. (2011) (Tab. 2), e outra dieta teste (D4) obtida pela substituição de 40% da dieta referência por milho inteiro.

À dieta referência e à dieta teste foram adicionados os complexos enzimáticos CES e CEV, na proporção de 150g/ton, nos quais continham as enzimas fitase, protease, xilanase, b-glucanase, celulase, amilase e pectinase, e as enzimas protease, celulase e amilase, respectivamente, formando as demais dietas experimentais D2, D3, D5 e D6 (Tab. 1).

Tabela 1. Dietas Experimentais¹

D1	100% dieta referência
D2	100% dieta referência + CES
D3	100% dieta referência + CEV
D4	60% dieta referência + 40% de milho
D5	60% dieta referência + 40% de milho + CES
D6	60% dieta referência + 40% de milho + CEV

¹As dietas experimentais não constituem tratamentos; foram necessárias para a constituição dos tratamentos e para os cálculos de digestibilidade.

Tabela 2. Composição das dietas referências

Ingredientes %	11 a 20 dias	21 a 30 dias	31 a 40 dias
Milho grão	62,942	65,372	68,505
Farelo de soja	32,158	29,676	26,244
Óleo de soja	0,933	1,466	1,666
Fosfato bicálcico	1,491	1,239	1,470
Calcário calcítico	1,027	0,916	0,789
Dl-metionina	0,313	0,266	0,241
L-lisina	0,247	0,199	0,235
Sal comum	0,239	0,222	0,201
Supl. Min. Vit. ¹	0,400	0,400	0,400
Inerte	0,500	0,500	0,500

Composição nutricional e energética

Energ. Met. Aves (kcal/kg)	2980	3050	3100
Proteína bruta (%)	20,00	19,00	17,74
Lisina dig. Aves (%)	1,141	1,045	0,992
Met.+cist. Dig. Aves (%)	0,822	0,763	0,714
Ácido linoleico (%)	1,921	2,239	2,383
Fósforo disponível (%)	0,384	0,335	0,374

Cálcio (%)	0,860	0,750	0,751
Sódio (%)	0,210	0,200	0,191
Potássio (%)	0,526	0,507	0,481

¹Composição/kg (11 a 20 dias): ácido fólico-199,00mg; biotina-10,00mg; clorohidroxiquinolina-7500,00mg; zn - 17,50g ; vit. A - 1680000,00 ui; vit. B1 - 436,50 mg; vit. B12 2400,00 mcg; vit. B2 - 1200,00 mg; vit. B6 - 624,00 mg; vit. D3 - 400000,00 ui; vit. E, 3500,00ui; vit. K 3 - 360,00 mg; niacina - 8400,00 mg; monensina-25,00g; ácido pantotênico - 3119,00 mg; colina - 80,71g; se-75,00mg; ferro 11,25g; mn - 18,74g; cobre -1996,00 mg; i - 187,47mg. (21 a 30 dias): ácido fólico- 162,50 mg; clorohidroxiquinolina-7500,00mg; zn - 17,50g ; vit. A - 1400062,50 ui; vit. B1 - 388,00 mg; vit. B12 2000,00 mcg; vit. B2 - 1000,00 mg; vit. B6 520,00mg; vit. D3 - 360012,00ui; vit. E, 2500,00ui; vit. K 3 - 300,00 mg; niacina - 7000,00 mg; salinomicina -16,50g; ácido pantotênico - 2600,00 mg; colina - 71,59g; se-75,00mg; fe 11,25g; mn - 18,74g; cu -1996,00 mg; i - 187,47mg. (31 a 40 dias): ácido fólico - 162,50 mg; óxido de zinco - 17,500mg ; se - 75mg; vit. A - 1.400.00 ui; vit. B1 - 388 mg; vit. B12 2.000 mc; vit. B2 - 1.000 mg; vit. B6 - 520 mg; vit. D3 - 1.600 ui; vit. E, 2.500 mg; vit. K 3 - 300 mg; zn - 70 ppm; niacina - 7.000 mg; ácido pantotênico - 2.600 mg; colina - 71.593,49 mg;fe 11,250mg; n - 18,750 mg; cu -2.000 mg; i - 187,50mg, aditivo antioxidante 25 000 mg; halquinol7.500 mg; salinomicina 16.500mg.

Os pintos foram alojados em um galpão convencional do 1º ao 10º dia de idade e posteriormente transferidos para gaiolas de estudos de metabolismo, onde foram iniciados os ensaios, respeitando-se a idade e o peso dos animais para cada fase. As aves não utilizadas no período experimental, foram mantidas em galpão convencional, com bebedouro pendular, comedouro tubular e piso coberto com casca de arroz, arraçoados com dieta formulada para atender as exigências nutricionais de cada fase, segundo as recomendações de Rostagno *et al.* (2011) e foram manejadas conforme manual da linhagem.

No início de cada fase experimental as aves foram pesadas individualmente e distribuídas em gaiolas de estudos de metabolismo, disposta em baterias de três andares onde foram mantidas até o final de cada fase. O consumo de ração e a água foram fornecidas à vontade. Foi utilizado o método de coleta total de excretas durante nove dias, que foram cinco de adaptação experimental e quatro de coleta total, realizadas em intervalos de 12 horas. Foram determinados o consumo de ração e o total de excretas produzidas. Após as coletas, as excretas foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e mantidos em *freezer*. Ao final do experimento foram homogeneizadas, amostradas (300g), secadas em estufa de circulação forçada a 55°C por 72 horas e moídas em moinho tipo Willey para análises posteriores. As análises laboratoriais das dietas e excretas foram realizadas seguindo as metodologias propostas por Silva e Queiroz (2002).

Obtidos os resultados das análises laboratoriais, avaliou-se a energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) e os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e energia bruta (EB), utilizando-se as equações propostas por Matterson *et al.* (1965). A

partir dos valores de EMAn determinados para as dietas experimentais, foi possível calcular o valor de EMAn do milho sobre a influência das enzimas CES e CEV:

$$\text{EMAn (milho s/ enzima)} = \text{EMA (dieta 1)} + \frac{(\text{EMA (dieta 4)} - \text{EMA (dieta 1)})}{\% \text{ de substituição do milho}}$$

$$\text{EMAn (milho c/ enzima CES)} = \text{EMA (dieta 2)} + \frac{(\text{EMA (dieta 5)} - \text{EMA (dieta 2)})}{\% \text{ de substituição do milho}}$$

$$\text{EMAn (milho c/ enzima CEV)} = \text{EMA (dieta 3)} + \frac{(\text{EMA (dieta 6)} - \text{EMA (dieta 3)})}{\% \text{ de substituição do milho}}$$

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM do SAS. Os valores obtidos foram comparados pelo teste Student Newman Keuls (SNK) considerando-se o nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

No ensaio 1 (11 a 20 dias) verificou-se redução nos valores de EMA, EMAn do milho com complexo enzimático CEV e aumento e redução do CDMS com a adição do CES e CEV, respectivamente ($p < 0,05$). Para CDMS e CDEB, não foi verificado efeito significativo ($p > 0,05$) (Tab. 3).

No ensaio 2 (21 a 30 dias), houve efeito significativo com as adições enzimáticas ($p < 0,05$) de maneira que os valores de EMA, EMAn, CDMS, CDPB e CDEB, foram reduzidos (Tab. 3).

Foram observados redução na EMA, EMAn, do milho no ensaio 3 (31 a 40 dias) com a adição dos complexos enzimáticos CES e CEV, no CDMS com o complexo CEV, e aumento no CDPB com o CEV ($p < 0,05$), enquanto que o CDEB foi semelhante ($p > 0,05$) (Tab. 3).

Tabela 3. Energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio (EMAn), coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB) e da energia bruta (CDEB), na matéria natural, do milho para frangos de corte

Tratamentos	EMA (kcal/kg de MS)	EMAn	CDMS	CDPB (%)	CDEB
Ensaio 1 - 11 a 20 dias					
Milho	3456a	3321a	75,87	50,07b	73,58
Milho + CES	3445a	3248a	75,83	63,34a	74,69
Milho + CEV	2962b	2856b	74,64	43,56c	73,21

Coeficiente de Variação	4,631	4,342	4,119	3,571	3,370
Probabilidade	0,0006	0,0002	ns	<0,001	ns
Ensaio 2 - 21 a 30 dias					
Milheto	3613a	3417a	78,69a	65,79a	75,49a
Milheto + CES	3417b	3203b	73,86b	54,68b	72,90ab
Milheto + CEV	3253c	3127b	73,63b	43,54c	70,87b
Coeficiente de Variação	2,732	2,852	2,864	2,757	2,745
Probabilidade	0,0002	0,0006	0,0027	<0,001	0,0107
Ensaio 3 - 31 a 40 dias					
Milheto	3468a	3383a	73,06a	42,23b	69,31
Milheto + CES	3265ab	3171b	71,64a	40,07b	68,58
Milheto + CEV	3103b	2892c	66,25b	51,85a	68,46
Coeficiente de Variação	4,743	4,317	4,233	11,837	4,853
Probabilidade	0,0055	0,0002	0,0088	0,0199	ns

Médias com letras diferentes na coluna diferem pelo teste de SNK ($P < 0,05$); ns: não significativo.

Os resultados da EMA e EMAn do milho apresentaram semelhança com a suplementação enzimática com o CES e redução com a suplementação com o CEV e, aumento no CDPB com o complexo CES em relação ao milho sem enzimas. De acordo com Leite *et al.* (2012) as enzimas utilizadas no complexo podem influenciar a eficácia do produto, além de outros fatores como a idade dos frangos, os ingredientes que compõem as rações, a forma e o momento da aplicação das enzimas, a exposição a altas temperaturas, a aplicação em quantidades precisas e a distribuição uniforme nas dietas. Considerando que os complexos continham mais de uma atividade enzimática, presume-se que os efeitos tenham sido influenciados pelo tipo de enzima, observando melhores resultados para o CES que possuía mais enzimas na sua composição, como as enzimas fitases, proteases, xilanases, β -glucanases, celulasas, amilases e pectinases em relação ao CEV que continha apenas as enzimas proteases, celulasas e amilases.

Esses resultados estão de acordo com Leite *et al.* (2011) que observaram desvantagens da adição de enzimas sobre os coeficientes de digestibilidade de nutrientes do milho com o complexo enzimático contendo as enzimas fitases, proteases, β -glucanases, celulasas, amilases e pectinases em dietas elaboradas com milho no período de 10 a 14 dias. O tipo de ingredientes pode ter influenciado a atividade das enzimas deste complexo enzimático pois estas não foram eficientes em melhorar a digestão para absorção e aproveitamento dos nutrientes pelas aves. Estudos mostram a eficiência de utilização das enzimas em dietas elaboradas com outros ingredientes como sorgo, milho e farelo de soja (Rao *et al.* (2004), Leite *et al.* (2011) e Barbosa *et al.* (2008), Rodrigues *et al.* 2003).

O efeito negativo da adição enzimática (CES e CEV) no segundo ensaio foi observado em todas as variáveis analisadas. Baurhoo *et al.* (2011) verificaram melhor resposta à adição enzimática em dietas a base de milho e farelo de soja do que em dietas a base de milho para frangos de corte, pois geralmente o milho é fornecido na forma moída, o que aumenta a área de atuação das enzimas digestiva. Conforme Ribeiro *et al.* (2002) e Pereira (2008) a forma física da ração pode interferir na degradação do amido, sendo necessária o rompimento das camadas protetoras do endosperma para melhor atuação das enzimas digestivas, tanto endógenas como exógenas, pois a estrutura das partículas de uma dieta pode influenciar a digestibilidade dos nutrientes.

Fischer *et al.* (2002) avaliaram a inclusão de um complexo multienzimático a base de protease, amilase e celulase, semelhante a composição do CEV utilizada neste estudo, e verificaram que na última semana (35 dias) aqueles tratamentos com inclusão de enzimas foram inferiores aos tratamentos com ração sem enzimas sobre o desempenho de frangos de corte.

Nos resultados obtidos no ensaio 3 (31 a 40 dias) verificou-se que as suplementações enzimáticas não resultaram em melhorias das características avaliadas, exceto para a CDPB que aumentou com a suplementação com CEV. A secreção enzimática aumenta com a idade, com isso espera-se melhor resposta na utilização da energia e dos nutrientes da dieta, mas segundo Noy e Sklan (1995) e Rao *et al.* (2004) é necessária uma adequação da secreção de enzimas no intestino para degradação dos nutrientes mesmo em dietas com milho e farelo de soja, pois vários autores não encontraram respostas positivas no crescimento de frangos de corte com a adição enzimática a base desses ingredientes.

A melhor resposta para o CDPB com a utilização do CEV pode estar associada ao tipo de ingrediente. Dietas elaboradas com milho e farelo de soja podem ser melhoradas com suplementação enzimática específica, principalmente as que degradem a fração indigestível contidas no grão de milho, no entanto são necessários novos estudos para o desenvolvimento de enzimas que utilizem este ingrediente como substrato. Strada *et al.* (2005) encontraram resultados satisfatórios na eficiência de utilização da energia metabolizável e dos aminoácidos com a adição de um complexo multienzimático semelhante ao utilizado neste estudo em rações à base de farelo de soja e milho para frangos de corte de 22 a 42 dias.

Conclusão

A inclusão dos complexos enzimáticos CES com as enzimas fitase, protease, xilanase, b-glucanase, celulase, amilase e pectinase e CEV com as enzimas protease,

celulase e amilase, não proporcionaram incrementos na energia metabolizável e nos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes do milho inteiro para frangos de corte.

Referências

BASTOS, A. O.; MOREIRA, I.; FURLAN, A. C. *et al.* Composição química, digestibilidade dos nutrientes e da energia de diferentes milhetos (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Brown) em suínos. *Rev. Bras. Zootec.*, v.34, n.2, p.520-528, 2005.

BAURHOO, N.; BAURHOO, B.; ZHAO, X. Effects of exogenous enzymes in corn-based and Canadian pearl millet-based diets with reduced soybean meal on growth performance, intestinal nutrient digestibility. *Journal Animal Science*, n.89, p.4100-4108, 2011.

FISCHER, G.; MAIER, J. C.; RUTZ, F.; BERMUDEZ, V. L. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, com ou sem adição de enzimas. *Rev. Bras. Zootec.*, v.31, n.1, p.402-410, 2002.

GOMES, P. C.; RODRIGUES, M. P.; ALBINO, L. F. T. *et al.* Determinação da composição química e energética do milho e sua utilização em rações para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. *Rev. Bras. Zootec.*, v.37, n.9, p.1617-1621, 2008.

LEITE, P. R. S. C.; LEANDRO, N. S. M.; STRINGHINI, J. H. *et al.* Desempenho de frangos de corte e digestibilidade de rações com sorgo ou milho e complexo enzimático. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.46, n.3, p.280-286, 2011.

LEITE, P. R. S. C.; LEANDRO, N. S. M.; STRINGHINI, J. H. *et al.* Microbiota intestinal e desempenho de frangos alimentados com rações elaboradas com sorgo ou milho e complexo enzimático. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.64, n.6, p.1673-1681, 2012.

MATTERSON, L. D.; POTTER, L. M.; STUTZ, N.W. *et al.* The metabolizable energy of feed ingredients for chickens. *Reserch Report*. v.7 , n.1, p. 3-11,1965.

NOY, Y.; SKLAN, D. Posthatch development in poultry. *Journal of Applied Poultry*, 6:344-354, 1997.

OLIVEIRA, M.C.; CANCHERINI, L.C.; GRAVENA, R.A. *et al.* Utilização de nutrientes de dietas contendo mananoligossacarídeo e/ou complexo enzimático para frangos de corte. *Rev. Bras. Zootec.*, v.36, p.825-831, 2007.

PEREIRA, P. W. Z. *Avaliação de complexo enzimático e betaína natural nas rações de frangos de corte.* 2008. 64f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

RAO, S. V. R.; RAJU, M. V. L. N.; REDDY, M. R.; PANDA, A. K. Replacement of Yellow Maize with Pearl Millet (*Pennisetum typhoides*), Foxtail Millet (*Setaria italica*) or Finger Millet (*Eleusine coracana*) in Broiler Chicken Diets Containing Supplemental Enzymes. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, v.17, n.6, p.836-842, 2004.

RIBEIRO A. M. L; MAGRO N.; PENZ JR A. M. Granulometria do milho em rações de crescimento de frangos de corte e seu efeito no desempenho e metabolismo. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v.4, n.1, 2002.

RODRIGUES, P. B.; ROSTAGNO H. S.; ALBINO, L. F. T. *et al.* Desempenho de frangos de corte, digestibilidade de nutrientes e valores energéticos de rações formuladas com vários milhos, suplementadas com enzimas. *Rev. Bras. Zootec.*, v.32, n. 1, p. 171-182, 2003.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. *et al.* *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais.* 3ª ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011, 252 p.

SAKOMURA, N. K; ROSTAGNO, H. S. *Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos* - Jaboticabal : Funep, 2007. 283 p.

SILVA, D. J; QUEIROZ, A. C. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos.* 3. ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.

STRADA, E. S. O.; ABREU, R. D.; OLIVEIRA, G. J. C. *et al.* Uso de Enzimas na Alimentação de Frangos de Corte. *Rev. Bras. Zootec.*, v.34, n.6, p.2369-2375, 2005.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A levedura de cana-de-açúcar e o milho constituem-se fontes alternativas para produção de rações para frangos de corte como fontes de proteínas e de energia, respectivamente.

A utilização de enzimas monocomponente ou complexos multienzimáticos está condicionado ao conhecimento da atuação das enzimas envolvidas. As enzimas utilizadas neste estudo podem ser um produto desenvolvido para rações a base de milho e farelo de soja como substratos, no entanto nenhuma informação adicional foi disponibilizada pelos fabricantes. Além disso, é importante o conhecimento da composição dos ingredientes utilizados na ração e a especificidade da enzima com relação ao substrato, quando se faz suplementação enzimática.

Apesar de ter muitas informações publicadas em estudos com enzimas em dieta das aves, ainda é difícil estimar a escala de resposta esperada numa dieta específica.