



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS (UFG)
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA (EVZ)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA (PPGZ)

DEBORAH PEREIRA CARVALHO

Níveis crescentes de protease em dietas para frangos

GOIÂNIA

2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

DEBORAH PEREIRA CARVALHO

3. Título do trabalho

NIVEIS CRESCENTES DE PROTEASE EM DIETAS PARA FRANGOS

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Jose Henrique Stringhini, Professor do Magistério Superior**, em 19/11/2024, às 11:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Deborah Pereira Carvalho, Usuário Externo**, em 22/05/2025, às 09:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4978440** e o código CRC **DBF84CA1**.

DEBORAH PEREIRA CARVALHO

Níveis crescentes de protease em dietas para frangos

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, como requisito para obtenção do título de Doutora em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção animal

Linha de pesquisa: Nutrição e produção animal

Orientador: Prof. Dr. José Henrique Stringhini

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Nadja Susana

Mogyca Leandro

GOIÂNIA

2025









UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
ATA DE DEFESA DE TESE

Ata nº 70 da sessão de Defesa de Tese de Deborah Pereira Carvalho que confere o título de Doutora em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, na área de concentração em Produção Animal.

Aos vinte e oito dias do mês de novembro de dois mil e vinte e dois (28/11/2022), às 08h00min, por videoconferência, pelo link: <https://meet.google.com/ozk-hsxw-yrf>, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada "Avaliação de dietas com níveis crescentes de protease para frangos de corte". Os trabalhos foram instalados pelo Orientador Jose Henrique Stringhini com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Carla Daniela Suguimoto Leite – Pós-Doc EVZ/UFG, membro titular externo; Marília Ferreira Pires – Pós-Doc EVZ/UFG, membro titular externo; Julyana Machado da Silva Martins – UEMG/MG, membro titular externa e Bruno Moreira dos Santos – UEG/GO, membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca fizeram sugestão de alteração do título do trabalho conforme explicitado abaixo. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese tendo sido a candidata Aprovada pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Orientador e Presidente da Banca Examinadora Jose Henrique Stringhini, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

NÍVEIS CRESCENTES DE PROTEASE EM DIETAS PARA FRANGOS

	Documento assinado eletronicamente por José Henrique Stringhini, Professor do Magistério Superior, em 28/11/2022, às 12:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 .
	Documento assinado eletronicamente por Carla Daniela Suguimoto Leite, Usuário Externo, em 28/11/2022, às 12:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 .
	Documento assinado eletronicamente por JULYANA MACHADO DA SILVA MARTINS, Usuário Externo, em 28/11/2022, às 12:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 .
	Documento assinado eletronicamente por MARÍLIA FERREIRA PIRES, Usuário Externo, em 28/11/2022, às 12:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 .
	Documento assinado eletronicamente por Bruno Moreira dos Santos, Usuário Externo, em 28/11/2022, às 12:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 .
	A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0 , informando o código verificador 3340933 e o código CRC 94ABB311.

Referência: Processo nº 23070.061285/2022-41

SEI nº 3340933

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Carvalho, Deborah Pereira
Níveis crescentes de protease em dietas para frangos [manuscrito]
/ Deborah Pereira Carvalho. - 2025.
LXXXII, 82 f.

Orientador: Prof. José Henrique Stringhini; co-orientador Nadja Susana Mogyca Leandro; co-orientador Marcos Barcellos Café.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Goiânia, 2025.

Bibliografia.

Inclui siglas, abreviaturas, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. aminoácidos. 2. avicultura. 3. desempenho. 4. digestibilidade. 5. enzimas. I. Stringhini, José Henrique, orient. II. Título.

CDU 635

Dedico à minha filha
Laura Anadinho Carvalho.

AGRADECIMENTOS

Ao concluir este trabalho, agradeço sinceramente a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para sua efetivação. Em especial, agradeço primeiramente a Deus por ser meu alicerce e a base das minhas conquistas, sem Ele nada seria possível, a Ele seja toda honra e toda glória.

A minha família por todo apoio durante esta etapa da minha vida, especialmente os meus pais, Elismarques e Leni, que são meus maiores exemplos de vida. Obrigada por cada incentivo e orientação, pelas orações em meu favor e pela preocupação para que eu estivesse sempre andando pelo caminho correto.

Ao meu esposo Lázaro Anadinho um agradecimento muito especial, por toda paciência, apoio, amor e companheirismo, por compreender todos os meus momentos de dificuldade. Seu valioso e incansável apoio foi definitivo em todos os momentos deste trabalho.

Ao Departamento de Zootecnia (DZO), da Universidade Federal de Goiás, onde a 14 anos encontrei um ambiente de consideração, amizade e excelência acadêmica.

Ao meu Orientador, José Henrique Stringhini, agradeço a sua simpatia, disponibilidade, confiança e orientação, obrigada por todas as oportunidades que me foram dadas, toda a paciência, conselhos e também amizade.

Agradeço especialmente a professora e sempre amiga, Nadja Susana Mogyca Leandro, pelas constantes demonstrações de sabedoria e humildade, pelas ajudas profissionais e pessoais, e por sempre me acalmar nos momentos de choros e angústia.

Agradeço também o professor, Marcos Barcelos Café, pela amizade e pelas horas de auxílio, em tudo que solicitei e sempre fui atendida e por ter contribuído na minha formação profissional e pessoal. Agradeço a todos os meus professores, que me acompanharam durante minha pós-graduação, pela oportunidade de desenvolvimento profissional, incentivo, orientações e críticas construtivas.

Aos companheiros de batalha da pós graduação, pelas ajudas nos experimentos e pela amizade construída: Marília, Karla, Helder, Raphael, Itallo, Higor, Láis, Natiele, Carlos Henrique, Lucas Cirilo, Julia, Alison, Lorrane, Agnaldo e aos estagiários, Pibic, Pivic, e a todos que passaram pelo aviário e me ajudaram de alguma forma nos experimentos.

Aos Funcionários do Setor de Avicultura, Fábrica de Ração e Departamento de Zootecnia em especial ao Fellipe, Charles, Kellen, Reginaldo, Éder e Rose, meu muito obrigada.

À empresa DuPont pelo apoio financeiro à pesquisa, em especial ao Cicero Cruz, Mauricio Cunha e Daniella Donato.

A CAPES/FAPEG pelo apoio financeiro da bolsa.

Meus sinceros votos de agradecimentos.

“Porque a sua ira dura só um momento; no seu favor está
a vida; o choro pode durar uma noite, mas a alegria vem
pela manhã.”

Salmos 30:5

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	XII
LISTA DE FIGURAS.....	XIV
LISTA DE GRÁFICOS.....	XV
LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	XVI
RESUMO.....	XIX
ABSTRACT	XX
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	21
1. INTRODUÇÃO.....	21
2. REVISÃO DA LITERATURA	23
2.1. FISIOLOGIA DA DIGESTÃO E ABSORÇÃO DE PROTEÍNAS NAS AVES	23
2.2. UTILIZAÇÃO DAS ENZIMAS EXÓGENAS	24
2.3. PROTEASES EXÓGENAS.....	26
2.4. USO DA ENZIMA PROTEASE NA AVICULTURA.....	29
REFERÊNCIAS.....	30
CAPÍTULO 2 - EFEITOS DOS NÍVEIS DE PROTEASE NO DESEMPENHO E RENDIMENTO DE CARCAÇA DE FRANGOS DE CORTE DE 1 A 42 DIAS DE IDADE	35
RESUMO.....	35
CHAPTER 2 - EFFECTS OF PROTEASE LEVELS ON THE PERFORMANCE AND YIELD OF CARCASS OF BREACHES FROM 1 TO 42 DAYS OF AGE.....	36
ABSTRACT	36
1. INTRODUÇÃO.....	37
2. MATERIAL E MÉTODOS	38
2.1. INSTALAÇÕES, AVES E MANEJO	38
2.2. DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS	39
2.3. VARIÁVEIS AVALIADAS.....	42
2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
3. RESULTADOS.....	44
3.1. DESEMPENHO	44
3.2. RENDIMENTO DE CARCAÇA E CORTES.....	47
4. DISCUSSÃO.....	48
5. CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS.....	51
CAPÍTULO 3-EFEITO DOS NÍVEIS DE PROTEASE NO CONTEÚDO DE AMINOÁCIDOS DIGESTÍVEIS DO MILHO E DO FARELO DE SOJA EM RAÇÕES INICIAIS PARA FRANGOS DE CORTE	54
RESUMO.....	54
CHAPTER 3 –DIGESTIBLE AMINO ACIDS CONTENT OF CORN AND SOYBEAN MEAL WITH PROTEASE FOR BROILERS	55
ABSTRACT	55
1. INTRODUÇÃO.....	56
2. MATERIAL E MÉTODOS	57
2.1. EXPERIMENTO 1	57
2.1.1. INSTALAÇÕES, AVES E MANEJO.....	57
2.1.2. DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS	58
2.1.3. VARIÁVEIS AVALIADAS	61

2.1.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	62
2.2. EXPERIMENTO 2	62
2.2.1. INSTALAÇÕES, AVES E MANEJO.....	62
2.2.2. DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS	63
2.2.3. VARIÁVEIS AVALIADAS	67
2.2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	68
3. RESULTADOS.....	68
3.1. EXPERIMENTO 1	68
3.2. EXPERIMENTO 2	69
4. DISCUSSÃO	74
4.1. EXPERIMENTO 1	74
4.2. EXPERIMENTO 2	75
5. CONCLUSÃO	79
REFERÊNCIAS.....	79
CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	83

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

TABELA 1 -	Tratamentos experimentais compostos de rações suplementadas com a enzima protease	40
TABELA 2 -	Rações experimentais formuladas e composição nutricional calculada da ração para fase inicial (1 a 22 dias), crescimento (23 a 33 dias) e final (34 a 42 dias).....	41
TABELA 3 -	Peso médio inicial (PMI), peso médio final (PMF), ganho de peso médio (GPM), consumo de ração médio (CRM), conversão alimentar (CA) e viabilidade de frangos de corte (VIAB.), alimentados com rações suplementadas com enzima protease, no período de 1 a 7 dias de idade.....	44
TABELA 4 -	Peso médio final (PMF), ganho de peso médio (GPM), consumo de ração médio (CRM), conversão alimentar corrigida pela mortalidade (CAc) e viabilidade de frangos de corte (VIAB.), alimentados com rações suplementadas com enzima protease, no período de 1 a 21 dias de idade.	44
TABELA 5 -	Peso médio final (PMF), ganho de peso médio (GPM), consumo de ração médio (CRM), conversão alimentar corrigida pela mortalidade (CAc) e viabilidade de frangos de corte (VIAB.), alimentados com rações suplementadas com enzima protease, no período de 22 a 42 dias de idade.	45
TABELA 6 -	Peso médio final (PMF), ganho de peso médio (GPM), consumo de ração médio (CRM), conversão alimentar corrigida pela mortalidade (CAc) e viabilidade de frangos de corte (VIAB.), alimentados com rações suplementadas com enzima protease, no período de 1 a 42 dias de idade.	46
TABELA 7 -	Peso vivo (PV), rendimento de carcaça (RC), rendimento de filé de peito (RP), rendimento de coxa + sobrecoxa (RC+S), rendimento de asas (RA), rendimento de dorso (RD) e gordura abdominal (GA) de frangos de corte aos 42 dias de idade, alimentados com rações suplementadas com enzima protease.....	47

CAPÍTULO 3

TABELA 1 -	Tratamentos experimentais compostos de rações suplementadas com a enzima protease de 17 a 22 dias (experimento 1).....	58
TABELA 2 -	Ração basal formulada e composição nutricional calculada da ração para fase inicial (1 a 16 dias) (Exp.1).....	58
TABELA 3 -	Rações experimentais formuladas e composição nutricional calculada da ração para fase inicial (17 a 22 dias) (Exp.1).....	60
TABELA 4 -	Matéria seca, teor de proteína bruta e composição de aminoácidos totais das dietas, expressos em percentagem na matéria natural.....	61
TABELA 5 -	Tratamentos experimentais compostos de rações suplementadas com a enzima protease (Experimento 2).....	62
TABELA 6 -	Ração basal formulada para fase inicial (1 a 16 dias) (Exp. 2).....	62

TABELA 7 -	Rações experimentais formuladas e composição nutricional calculada da ração para fase inicial (17 a 22 dias) (Exp. 2).....	65
TABELA 8 -	Teor de proteína bruta e composição de aminoácidos totais do milho e do farelo de soja, expressos em percentagem na matéria natural.....	66
TABELA 9 -	Coefficientes de digestibilidade ileal aparente de aminoácidos (%) das dietas, para frangos, na fase inicial.....	68
TABELA 10 -	Coefficientes de digestibilidade ileal aparente de aminoácidos (%) do milho, suplementados com protease, em dietas para frangos, na fase inicial.....	69
TABELA 11 -	Coefficientes de digestibilidade ileal estandardizada de aminoácidos (%) do milho, suplementados com protease, em dietas para frangos, na fase inicial.....	71
TABELA 12 -	Coefficientes de digestibilidade ileal aparente de aminoácidos (%) do farelo de soja, suplementados com protease, em dietas para frangos, na fase inicial.....	72
TABELA 13 -	Coefficientes de digestibilidade ileal estandardizada de aminoácidos (%) do farelo de soja, suplementados com protease, em dietas para frangos, na fase inicial.....	73

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- FIGURA 1 - Efeito quadrático para consumo médio de ração de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de protease de 1 a 42 dias..... 46
- FIGURA 2 - Efeito quadrático para conversão alimentar corrigida de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de protease de 1 a 42 dias..... 47

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. Temperatura mínima e máxima e umidade relativa no período de 1 a 42 dias.39

GRÁFICO 2. Fluxo de aminoácidos endógenos no íleo de frangos de corte alimentados com ração isenta de N (g/kg MS ingerida). Cada barra representa a média de 6 repetições com 15 aves por repetição.....71

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

%	- Porcentagem
®	- Registrado
AA	- Aminoácidos
Aas	- Aminoácidos totais
Ala	- Alanina
Arg	- Arginina
Asp	- Ácido aspártico
C	- Carbono
CA	- Conversão alimentar
Cac	- Conversão alimentar corrigida pela mortalidade
CDIa	- Coeficiente de digestibilidade ileal aparente
CDIe	- Coeficiente de digestibilidade ileal estandardizado
CEUA	- Comissão de Ética no Uso de Animais
CN	- Controle negativo
CO ₂	- Dióxido de carbono
CRM	- Consumo de ração médio
CRMD	- Consumo de ração médio diário
CV	- Coeficiente de variação
Cys	- Cistina
DB	- Dieta basal
DIC	- Delineamento inteiramente casualizado
DIP	- Dieta isenta de proteína
DR	- Dieta com redução de 70% da fração indigestível de aminoácidos
E.C 3.4	- <i>Enzyme Class of 3.4</i>
EPM	- Erro padrão da média
EVZ	- Escola de Veterinária e Zootecnia
Fen	- Fenilalanina
FS	- Farelo de soja
g	- Grama
GA	- Gordura abdominal
Glu	- Ácido glutâmico

Gly	- Glicina
GO	- Goiás
GPM	- Ganho de peso médio
GPMD	- Ganho de peso médio diário
HCL	- Ácido clorídrico
His	- Histidina
HPLC	- High Performance/Pressure Liquide Chromatography
IN	- Instrução normativa
Iso	- Isoleucina
Kg	- Quilograma
Leu	- Leucina
Lys	- Lisina
m ²	- Metros quadrados
MAPA	- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Met	- Metionina
MIN	- Mineral
MJ/kg	- Milijoule/Quilograma
MS	- Matéria seca
N	- Nitrogênio
NH ₃	- Amônia
P	- Peso
P	- Probabilidade
PB	- Proteína bruta
pH	- Potencial hidrogeniônico
PMF	- Peso médio final
PMI	- Peso médio inicial
Pro	- Prolina
PV	- Peso vivo
RA	- Rendimento de asas
RC	- Rendimento de carcaça
RC+S	- Rendimento de coxa + sobrecoxa
RP	- Rendimento de partes
RP	- Rendimento de peito

Ser	- Serina
SP	- São Paulo
Thr	- Treonina
Trp	- Triptofano
Tyr	- Tirosina
UP	- Unidades de protease/kg
Val	- Valina
VIT	- Vitamina
VS	- Versus

RESUMO

Foram conduzidos três experimentos para avaliar o melhor nível de suplementação da enzima protease para frangos de corte, conforme parâmetros de desempenho, rendimento de carcaça e digestibilidade de aminoácidos (AA). No primeiro experimento, avaliou-se o desempenho e o rendimento de carcaça de frangos suplementados com diferentes níveis da enzima protease em rações com redução da fração não digestível de AA, a base de milho e farelo de soja, de 1 a 42 dias de idade. Para isso, foram utilizadas 10 dietas no formato de um programa alimentar conforme a fase de criação. Foi utilizada ração basal, e ração com redução da fração não digestível de AA suplementadas ou não com três níveis de inclusão da enzima protease: 4.000 UP/kg, 8.000 UP/kg e 12.000 UP/kg. E foi analisado a sua inclusão dividida em dois períodos: 1-21 dias de idade e 22-42 dias de idade, afim de analisar o efeito da inclusão da protease em cada fase, e analisar o seu efeito acumulado na fase total 1-42 dias de idade. Para as variáveis de desempenho, frangos alimentados na fase pré-inicial com 12.000 UP/kg em rações com redução da fração indigestível de AA, observou-se aumento no ganho de peso, semelhante aos frangos alimentados com ração basal. No período de um a 42 dias de idade, foi observado um efeito quadrático na conversão alimentar, com menor conversão para 6.243 UP/kg de protease. Em relação ao rendimento de carcaça e de cortes, não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos. Conclui-se que a suplementação da enzima protease em rações com reduções do nível nutricional, melhorou o desempenho de frangos. Os outros dois experimentos foram conduzidos para avaliar o efeito de diferentes níveis de protease na digestibilidade ileal de aminoácidos, sendo um experimento (1) para avaliação dos coeficientes de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos da ração e o outro experimento (2) para avaliação dos coeficientes de digestibilidade ileal aparente e standardizada dos aminoácidos dos ingredientes, milho e farelo de soja para frangos de corte na fase inicial. No experimento 1 os tratamentos consistiram: ração basal; ração com redução da fração não digestível de aminoácidos (RR); RR + 8.000 UP/kg; e RR + 12.000 UP/kg. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e seis repetições de 10 aves. O tratamento RR + 8.000 UP/kg melhorou significamente o CDIA de AA da ração. No experimento 2 os tratamentos consistiram em ração isenta de proteína (RIP) contendo milho ou farelo de soja, suplementadas ou não com dois níveis da enzima protease 8.000 UP/kg ou 12.000 UP/kg. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com sete tratamentos e seis repetições de 15 aves. O nível de 8.000 UP/kg aumentou o CDIE de AA do farelo de soja e o nível de 12.000 UP/kg aumentou significamente o CDIE de AA do milho. A adição de protease na ração de frangos na fase inicial é eficiente em aumentar os coeficientes de digestibilidade de aminoácidos da ração, do milho e do farelo de soja. Recomenda-se a utilização de 12.000 UP/kg de protease nas dietas de frangos de corte, pois esse nível demonstrou melhorar o ganho de peso, sem comprometer a viabilidade das aves.

Palavras-chave: aminoácidos, avicultura, desempenho, digestibilidade, enzima exógena.

ABSTRACT

Three experiments were conducted to evaluate the optimal level of protease enzyme supplementation for broiler chickens based on performance parameters, carcass yield, and amino acid (AA) digestibility. In the first experiment, performance and carcass yield of broilers supplemented with different levels of protease enzyme in diets with reduced indigestible AA fraction, based on corn and soybean meal, were evaluated from 1 to 42 days of age. Ten diets were used in a feeding program format according to the growth phase. A basal diet and diets with reduced indigestible AA fraction were supplemented or not with three protease inclusion levels: 4,000 UP/kg, 8,000 UP/kg, and 12,000 UP/kg. The inclusion was analyzed in two periods: 1-21 days and 22-42 days of age to evaluate the effect of protease inclusion in each phase and its accumulated effect over the entire 1-42 days period. For performance variables, broilers fed the pre-initial phase with 12,000 UP/kg in diets with reduced indigestible AA fraction showed increased weight gain, similar to those fed the basal diet. In the 1-42 days period, a quadratic effect on feed conversion was observed, with the best conversion at 6,243 UP/kg of protease. Regarding carcass and cut yields, no statistical differences were observed between treatments. It was concluded that protease supplementation in diets with reduced nutritional levels improved broiler performance. The other two experiments aimed to evaluate the effect of different protease levels on ileal amino acid digestibility. The first experiment (1) assessed the apparent ileal digestibility coefficients (AIDC) of amino acids in the diet, and the second experiment (2) assessed the apparent and standardized ileal digestibility coefficients (SIDC) of amino acids in the ingredients, corn and soybean meal, for broilers in the early phase. In experiment 1, treatments consisted of: basal diet; reduced indigestible AA fraction diet (RR); RR + 8,000 UP/kg; and RR + 12,000 UP/kg. A completely randomized design (CRD) with four treatments and six replicates of 10 birds each was used. The RR + 8,000 UP/kg treatment significantly improved the AIDC of AA in the diet. In experiment 2, treatments consisted of a protein-free diet (RIP) containing corn or soybean meal, supplemented or not with two levels of protease enzyme (8,000 UP/kg or 12,000 UP/kg). A completely randomized design (CRD) with seven treatments and six replicates of 15 birds each was used. The 8,000 UP/kg level increased the SIDC of AA in soybean meal, and the 12,000 UP/kg level significantly increased the SIDC of AA in corn. The addition of protease to broiler diets in the early phase is effective in increasing the digestibility coefficients of amino acids in the diet, corn, and soybean meal. It is recommended to use 12,000 UP/kg of protease in broiler diets, as this level improved weight gain without compromising bird viability.

Keywords: amino acids, performance, digestibility, broiler, protease.

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

A proteína é o nutriente de maior custo unitário em rações. E, o farelo de soja é a fonte de proteína mais usada na nutrição animal, contribuindo com cerca de 70% da proteína em dietas avícolas. Porém, mesmo sendo processado pelo calor, o farelo de soja possui pequenas frações de fatores antinutricionais que diminui a digestibilidade da proteína e da gordura e reduzem a absorção de nutrientes [1].

Dessa forma, como as proteínas dietéticas não são completamente metabolizadas pelos frangos, a adição de enzimas capazes de melhorar a digestibilidade da proteína tem sido fonte de estudos com o propósito de melhorar os índices zootécnicos desses animais. As enzimas exógenas podem não apenas promover a utilização de nutrientes dos ingredientes da ração, mas aumentar a flexibilidade nas abordagens de formulações para nutricionistas[2,3]. Ademais, as enzimas exógenas podem apresentar uma oportunidade para minimizar a produção de enzimas endógenas, assim como potencializar a ação enzimática dessas enzimas, bem como reduzir o investimento secretório, podendo melhorar a digestibilidade e a disponibilidade de nutrientes para os frangos, levando a uma melhoria no desempenho[4].

Os animais não digerem e absorvem todas as proteínas e aminoácidos (AA) presentes na ração. O componente não digerido é um substrato para o aumento da fermentação microbiana no intestino posterior[5]. As proteínas não digeridas nas rações das aves são convertidas em compostos prejudiciais a microbiota intestinal, como amônia, nitratos e óxido nítrico, nas excretas[6,7], podendo ocasionar uma disbiose.

Parsons et al[8] demonstraram que frações indigestíveis da proteína bruta (PB) e dos aminoácidos (AA) para aves, indicam que quantidades expressivas de proteína passam pelo trato gastrointestinal (TGI) sem serem completamente digeridas.

Dessa forma, as enzimas proteases são utilizadas como alternativa para melhorar a capacidade de digestão e de absorção de ingredientes proteicos em rações para frangos de corte, melhorando o desempenho e, conseqüentemente, a rentabilidade. Como as proteases atuam promovendo maior digestibilidade da proteína, o melhor aproveitamento proteico resulta diretamente em redução de custo de produção[1,9].

Um dos propósitos da utilização da protease na alimentação de frangos é a redução do custo da ração, devido a redução da concentração de PB e troca de fontes de proteína com alto custo por ingredientes de menor custo de inclusão[10]. Além disso, a menor inclusão de ingredientes proteicos como a soja, permite aumentar a inclusão de ingredientes energéticos,

como o milho, diminuindo a quantidade de óleo a ser adicionado e conseqüentemente diminuindo o custo da ração[11].

Os efeitos da protease estão diretamente relacionados com a sua ação sobre o substrato, nesse contexto é importante ressaltar o conceito de matriz nutricional da enzima, ou seja, a quantidade de nutrientes que a adição da dose preconizada de uma determinada enzima exógena pode disponibilizar ao animal[12].

Assim, objetivou-se determinar a melhor dose da enzima exógena protease para frangos de um a 42 dias de idade, alimentados com rações baseadas em milho e farelo de soja sobre os parâmetros de desempenho, rendimento de carcaça e digestibilidade de aminoácidos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Fisiologia da digestão e absorção de proteínas nas aves

Nas aves, a digestão das proteínas se iniciam no proventrículo, pois na boca, no esôfago e no inglúvio não há ação enzimática, e nem mesmo mecânica sobre o alimento ingerido. O proventrículo secreta ácido clorídrico e pepsinogênio, o pepsinogênio é clivado pela ação do ácido clorídrico na endopeptidase pepsina, sua forma ativa. O pH ácido entre 2,8 a 4,0 é o ideal para a atuação da pepsina. Desse modo, as proteínas em meio ácido são desnaturadas e sofrem a ação da pepsina. Através da motilidade proventrículo-moela o alimento vai sendo triturado e digerido e assim a proteína parcialmente digerida passa para o duodeno[13].

O processo de trituração do alimento e a desnaturação das proteínas precisa ser consideravelmente eficiente para a adequada digestão proteica, uma vez que as aves apresentam um trato digestório relativamente curto, em comparação aos mamíferos[14].

As proteínas parcialmente digeridas são direcionadas para o duodeno através da motilidade proventrículo-moela. A eficácia da digestão proteica depende da característica física da proteína ingerida e do tempo de permanência no proventrículo-moela, pois a hidrólise péptica cessa quando o pH do quimo é aumentado no duodeno[15].

Concluída a digestão gástrica, o conteúdo, agora denominado quimo, é direcionado para o intestino delgado em pequenas quantidades. A entrada do quimo no duodeno, primeira porção do intestino delgado, estimula a produção de hormônios. Estes hormônios, por sua vez, estimulam a liberação da bile e do suco pancreático (rico em proteases, carboidrases, lípases e bicarbonato de sódio), pelo fígado e pelo pâncreas, respectivamente[14].

Em virtude da ação das enzimas pancreáticas responsáveis pela digestão no lúmen intestinal e pelas enzimas presentes na mucosa intestinal, a digestão proteica no intestino delgado é muito mais rápida e intensa. As proteases que agem no intestino delgado podem ser divididas em três grupos: endopeptidases (tripsina, quimiotripsina e elastase) e exopeptidases (carboxipeptidases A e B) secretadas pelo pâncreas, e peptidases secretadas pelos enterócitos da mucosa intestinal (aminopolipeptidases, dipeptidases e carboxipeptidases C e D)[16].

A tripsina e a quimiotripsina, assim como a pepsina, são endopeptidases e quebram as ligações em locais específicos e não terminais, enquanto as carboxipeptidases são exopeptidases que hidrolisam as ligações na terminação carboxila dos peptídeos[13].

A maior parte dos componentes do quimo são hidrolisados pelas endopeptidases e exopeptidases no lúmen intestinal. Porém, há evidências que pequenas porções peptídicas são

resistentes à hidrólise luminal. A digestão dos peptídeos provenientes da ação das enzimas gástricas e pancreáticas são completadas principalmente nas porções iniciais do intestino delgado, pelas múltiplas peptidases produzidas pelas células intestinais. As peptidases mais importantes são as aminopolipeptidases e as dipeptidases, que desdobram os peptídeos remanescentes em tripeptídeos e dipeptídeos e alguns aminoácidos livres[17].

As proteínas não precisam ser completamente quebradas em aminoácidos livres para serem absorvidas, uma vez que 70 a 85% da absorção proteica que sucede no jejuno das aves ocorre na forma de pequenos peptídeos, ou seja, a absorção de dipeptídeos e tripeptídeos é independente da ação de peptidases e de transportadores específicos. Por outro lado, o íleo é o local em que se encontra grande parte das proteínas carreadoras, caracterizando essa porção do intestino como o local de maior absorção de aminoácidos livres. Todos os mecanismos de absorção de aminoácidos livres são baseados em sistemas de transporte ativo dependente do sódio[18,19].

Uma pequena parte da proteína dietética não é digerida e absorvida, e quando essa porção atinge o intestino grosso sofre hidrólise e ressíntese pelos microrganismos presentes nesse local. Por essa razão, por haver pequena influência da microbiota, o íleo terminal é o local mais indicado para determinação de digestibilidade de aminoácidos de uma dieta ou ingrediente[20].

De forma geral, a absorção dos aminoácidos pelas aves é influenciada pela idade, sexo, temperatura, ambiente, e por fatores nutricionais como o tempo de contato do trato gastrointestinal com o alimento já que a velocidade de passagem do alimento pelo trato digestivo influencia sua digestibilidade e conseqüente absorção. Portanto, quanto mais tempo o alimento estiver sob ação enzimática do trato digestivo, mais eficiente será a sua digestão e absorção[20-22].

2.2. Utilização das enzimas exógenas

As enzimas são compostos proteicos, catalisadores biológicos produzidos por todos os seres vivos, que atuam em substratos específicos, conforme condições de temperatura, pH, umidade e presença de coenzimas e inibidores, com o objetivo de acelerar uma reação[16,23,24].

Biologicamente, as enzimas são proteínas globulares de estrutura terciária ou quaternária[25,26]. As enzimas são altamente específicas, cada tipo de enzima atua sobre um composto ou substrato, de modo que os centros ativos coincidam perfeitamente, que a enzima

seja capaz de proporcionar as reações de redução da cadeia dos polímeros. Esse processo é comparado à relação entre chave e fechadura[19].

Em 1913, Leonor Michaelis e Maud Lyn[27], descreveram as primeiras teorias da ação enzimática, esses autores postularam que a enzima combina com seu substrato para formar o complexo enzima-substrato e posteriormente decompõe-se numa segunda reação, mais lenta, resultando em enzima livre.

Dessa forma, as enzimas possuem um sítio ativo, que contém aminoácidos, cujas cadeias laterais criam uma superfície complementar ao substrato. O sítio ativo, ao se ligar ao substrato, forma o complexo enzima-substrato. Após a reação, a enzima separa-se dos produtos, ficando disponível para novas reações, ou podendo ser inativada[16].

Enzimas exógenas são classificadas como aditivos zootécnicos digestivos, segundo a Instrução Normativa (IN) número 13 de 2004 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)[28]. São definidas como um aditivo contendo material enzimático processado e padronizado, com a finalidade de ser comercializado para uso em alimentos ou matérias-primas para consumo animal[23]. As enzimas exógenas são produzidas industrialmente em laboratórios por meio de culturas aeróbias, sendo derivadas principalmente da fermentação bacteriana, ou ainda fúngica ou de leveduras, destacando-se bactérias do gênero *Bacillus* e fungos do gênero *Aspergillus*[29,30].

A maioria das enzimas são nomeadas por meio da adição do sufixo “ase” ao radical do substrato que ela atua (protease – substrato proteína) ou a um termo descritivo da reação que catalisa (álcool dehidrogenase), ou são nomenclaturas consagradas pelo uso (tripsina)[31-33].

Em um contexto biotecnológico, as enzimas exógenas têm sido importantes na melhoria do aproveitamento dos nutrientes presentes nos ingredientes que constituem as rações, visando complementar as enzimas endógenas que são produzidas pelo próprio animal, melhorando o aproveitamento dos nutrientes e a eficiência nutricional da ração, ocasionando consequentemente, em redução no custo de produção[34-37].

Diferentes tipos de produtos enzimáticos (fitases, xilanases, amilases, celulases, proteases, glucanases, entre outros) estão disponíveis no mercado. Pode-se encontrar duas formas de apresentação das enzimas: isoladamente, produtos que contêm apenas uma enzima isolada (fitases, xilanases, amilases, celulases, proteases, glucanases, entre outros) ou complexos enzimáticos (associação de duas ou mais enzimas), também chamados *blends*, que são originados a partir da fermentação de um microrganismo original, ou misturas de enzimas obtidas a partir da fermentação de vários microrganismos[38].

Segundo Tejedor et al.[39], misturas de enzimas são mais efetivas no aproveitamento dos nutrientes das rações, uma vez que produtos com uma enzima apenas, são insuficientes para produzir o máximo benefício, pelo fato das enzimas serem específicas em suas reações. Entretanto, de acordo com Meneghetti[40], a utilização de misturas enzimáticas dificulta a interpretação mais precisa da ação de cada enzima a nível experimental, pois as variáveis são frequentes e os resultados são inconsistentes pela existência de mais de uma atividade enzimática em um único tratamento.

Existem duas abordagens econômicas ao considerar a incorporação de enzimas exógenas nas formulações das rações. Uma é chamada de “*over the top*” (por cima), que consiste em suplementar as enzimas, sem alterar os níveis nutricionais[24]. Porém, a adição da enzima aumentará o custo da ração, pois, como o animal receberá uma ração, que vai suprir suas exigências nutricionais e energéticas, a adição da enzima produzirá excesso de nutrientes, que poderão ser convertidos em gordura ou não serão utilizados pelo animal, sendo excretados. Logo, a adição da enzima produzirá a liberação de nutrientes dos quais o animal não necessita ou mesmo não conseguirá converter em ganhos[40,41].

A outra forma de inclusão das enzimas é chamada de “*on the top*”, que é realizada em conjunto com a redução dos nutrientes da ração (utilizando a valorização recomendada da matriz nutricional da enzima). Espera-se que, com a adição das enzimas, o valor nutricional da ração padrão seja restaurado, visando obter o mesmo desempenho de uma ração com os níveis nutricionais recomendados, resultando na diminuição do custo das formulações[41,42].

2.3. Proteases exógenas

Em razão da importante função que a proteína exerce no desenvolvimento animal e do elevado custo deste nutriente na formulação de rações, o uso de proteases na nutrição avícola tem recebido considerável atenção nos últimos anos. A inclusão de proteases exógenas nas rações, pode melhorar o valor nutricional por meio da hidrólise de certos tipos de proteínas que resistem ao processo digestivo das enzimas digestivas[43].

De acordo com o Comitê Internacional de Nomenclatura “União de Bioquímica e Biologia Molecular”, proteases são hidrolases classificadas no subgrupo 4 (peptido hidrolase), do grupo 3 (hidrolases), portanto, são *Enzyme Class of 3.4* (E.C 3.4). Essas enzimas, não obedecem facilmente às regras de nomenclatura, e possuem classificação diversificada em virtude da diversidade de ação e da estrutura[42].

Como mencionado, as proteases pertencem à classe das hidrolases e são enzimas que possuem função catalítica para hidrolisar as ligações peptídicas das proteínas[44]. As proteases podem ser classificadas de acordo com sua capacidade para hidrolisar as proteínas específicas (queratinase, elastase, colagenase, etc.) ou de acordo com o pH em que são ativadas: proteases ácidas, com atividade em pH variando de 2,0 a 5,0; as neutras, com atividade ótima em pH entre 6,0 e 9,0; e as alcalinas, com atividade entre pH 9,0 e 11,0[43]. Entretanto, Pant et al.[45] consideram as proteases com pH ótimo de 7,4 como alcalinas.

O processo de produção das proteases exógenas por vegetais e por animais é complexo e de custo elevado. Dessa forma, a produção de proteases por meio de microrganismos se apresenta como excelente alternativa, tendo em vista a sua ampla diversidade bioquímica, a susceptibilidade para a manipulação genética e o rápido crescimento[48]. Atualmente, proteases microbianas representam aproximadamente 40% do total das vendas de enzimas em todo o mundo. O uso de enzimas proteases, vai além da utilização na alimentação animal, pois tem aplicação também em indústrias têxteis, de detergentes, e de processamento de alimentos, contribuindo com cerca de US\$ 5 bilhões no mercado de enzimas industriais[49].

Com base no ponto de clivagem da cadeia polipeptídica, as proteases ou peptidases são enzimas endógenas, com ação proteolítica. As proteases endógenas que agem no intestino delgado podem ser divididas em três grupos endopeptidases e exopeptidases secretadas pelo pâncreas, e aminopeptidases secretadas pela mucosa intestinal[26].

A grande variedade de proteases endógenas produzidas no trato digestório das aves geralmente é suficiente para a adequada utilização de proteínas[50,51]. No entanto, os resultados de digestibilidade mostraram que quantidades consideráveis de aminoácidos e de proteína passam pelo trato digestório sem serem aproveitados e completamente digeridos[52].

A suplementação de proteases exógenas nas rações avícolas, visa quebrar as proteínas pouco disponíveis, presentes nos mais diversos ingredientes vegetais, que possuem enorme afinidade de se ligar ao amido, não conseguindo ser digeridas, por formar complexos insolúveis na forma de quelatos[53]. Portanto, atuam degradando proteínas complexas e reduzindo os efeitos dos fatores antinutricionais dos alimentos, tais como lectinas, proteínas antigênicas e inibidores de tripsina, presentes principalmente em grãos de leguminosas, como a soja[54]. Com isso, essas enzimas fazem com que os nutrientes se tornem mais disponíveis para o animal, melhorando a absorção dos aminoácidos e aumentando a digestibilidade geral do alimento[55,56].

Além de promoverem a maior degradação dos fatores antinutricionais presentes em alimentos, as proteases exógenas, melhoram a digestibilidade da proteína e diminui a síntese de enzimas endógenas, resultando em maior disponibilidade de aminoácidos para deposição de proteína. Assim, como os ingredientes proteicos têm importante contribuição no custo de produção, o seu melhor aproveitamento resulta na redução direta no custo de produção[58-60].

Os trabalhos pioneiros de Kasbaoui e Guillaume[61], Vogt e Harnisch[62], Lewis e Hiller[63], entre as décadas de 1970 e 1980, já mostravam os efeitos benéficos de duas proteases fúngicas isoladas ou em combinação no ganho de peso e na conversão alimentar de frangos de corte alimentados com restrição de proteína bruta, onde a suplementação com protease resultou em desempenho semelhante as aves com dieta padrão.

Recentemente Aderibigbe et al.[64], ao estudarem o desempenho e a digestibilidade de AA em frangos de corte alimentados com rações contendo inibidor de tripsina de soja purificado (1.033 ou 10.033 TIU/g) e suplementadas com protease exógena (0 ou 15.000 PROT/kg), verificaram que a suplementação das rações com a protease exógena resultou em aumento no ganho de peso e na conversão alimentar em todas as fases experimentais independente da concentração dietética de inibidor de tripsina.

Cowieson et al.[65] demonstraram que a adição de protease monocomponente (15.000 PROT/kg) a dietas com redução na proteína bruta e aminoácidos digestíveis (controle negativo) resultou em um aumento significativo no ganho de peso de frangos de corte em comparação aqueles que receberam a dieta padrão, ou sejam sem redução dos níveis nutricionais de proteína e aminoácidos (controle positivo). Essas melhorias nas respostas de desempenho podem ser atribuídas às melhorias observadas na digestibilidade dos AA, pelos autores. Angel et al.[66], usando protease monocomponente em concentrações de 15.000, 30.000 e 60.000 PROT/kg, encontraram aumento na digestibilidade específica de AA, permitindo que os animais superassem o efeito negativo no ganho de peso corporal e na conversão alimentar resultante de uma redução de 10%, por análise, na proteína bruta, lisina, total de aminoácidos sulfurados e treonina da dieta e uma redução de 15% em metionina.

Duque-Ramírez et al.[67], ao avaliaram a suplementação de protease, produzida por *Aspergillus Niger*, em dietas para frangos de corte, observaram melhora no ganho de peso, conversão alimentar, parâmetros histomorfométricos, qualidade da carne e rendimento de carcaça nas aves dos tratamentos que receberam ração suplementada com protease e redução nos níveis nutricionais (PB, AA e EM) quando comparadas as aves que receberam ração basal, sem redução nos níveis nutricionais.

Por outro lado, Freitas et al.[68], relataram maior ganho de peso vivo em frangos de corte alimentadas com dieta sem protease e sem redução nos níveis nutricionais (controle positivo) quando comparadas aos frangos que receberam ração com redução de 4,4% de EM e PB suplementadas com protease monocomponente (75.000 PROT/g) em diferentes níveis de inclusão.

2.4. Uso da enzima protease na avicultura

O uso de proteases em rações para aves tem mostrado enorme eficiência, tanto em termos técnicos, quanto econômicos, principalmente na última década, em decorrência do melhor aproveitamento de ingredientes utilizados como fontes proteicas, que são considerados de alto custo. Dessa forma, as enzimas proteases tem se destacado entre as demais, sendo amplamente utilizadas comercialmente e pesquisadas[69,70].

Os estudos iniciais sobre a sua utilização[61-63], consideram como importantes os efeitos positivos no desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte, seguido pela melhoria na digestibilidade de nitrogênio. A partir destes resultados, mais pesquisas vêm sendo realizadas, tanto para avaliar a digestibilidade ileal de aminoácidos e nutrientes alternativos, e a interação da protease com os ingredientes diéticos e outras enzimas[59,71].

O uso da protease em rações para frangos de corte pode melhorar, a qualidade da cama, por meio da diminuição do nitrogênio nas excretas. Oxemboll et al.[72], e Leinonen et al.[73], demonstraram que quando a protease foi usada nas dietas, o teor de proteína bruta da ração foi reduzido, reduzindo a quantidade de nitrogênio no esterco. Isso reduziu a emissão de amônia, afetando os potenciais de acidificação e eutrofização, e lixiviação de nitrato, que afetam o Potencial de Eutrofização.

Existem alguns fatores influenciadores no uso de enzimas nas rações, tais como: concentrações do substrato e da enzima, temperatura, variações do pH, umidade, tipo de ingrediente e presença de coenzimas[74]. A idade também se mostra como um fator que afeta a disponibilidade dos nutrientes pela ação de proteases, tendo em vista que, em aves jovens, o trato digestório ainda é imaturo e apresenta insuficiência na produção de enzimas endógenas. Logo, a adição de proteases exógenas na ração, pode ser capaz de suplementar a atividade de proteases endógenas, promovendo o melhor aproveitamento de proteínas[69].

Existem ainda fatores secundários que são capazes de afetar o consumo de ração e a quantidade de nutrientes ingeridos, os quais podem favorecer ou não a ação das enzimas,

como: estado sanitário das aves, balanço eletrolítico, manejo, temperatura ambiental, forma física e processamento térmico das rações[12].

Com base nessas premissas, sabe-se que o uso de proteases exógenas em rações avícolas tem se mostrado eficiente tanto em termos técnicos, quanto econômicos e pode ser um aliado útil na produção. Assim, a partir dos resultados de pesquisas, tornar-se-á possível elucidar os mecanismos de ação, dose ótima, os substratos preferidos das proteases, além de explorar as interações entre diferentes produtos enzimáticos.

REFERÊNCIAS

1. Dessimoni GV. Planos nutricionais com suplementação de protease em dietas de frangos de corte [dissertação]. Diamantina: Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; 2011. 48 p.
2. Isaksen MF, Cowieson AJ, Kragh KM. Starch and protein degrading enzymes: biochemistry, enzymology and characteristics relevant to animal feed use. In: Bedford MR, Partridge GG, editors. *Enzymes in farm animal nutrition*. 2nd ed. Cambridge (MA): CAB International; 2010.
3. Ramos LDSN, Lopes JB, Figueiredo AV, Alves AA. Utilizacao de enzimas exogenas em dietas de frango de corte. *Rev Cient Anim*. 2007; 9(1): 84-94. [acesso 25 fev 2021]. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/277119759_Utilizacao_de_Enzimas_Exogenas_em_Dietas_de_Frangos_de_Corte
4. Moughan PJ, Ravindran V, Sorbara JOB. Proteína dietética e aminoácidos - considerações da fração indigestível. *Poult Sci*. 2014; 93: 2400-2410. doi: 10.3382/ps.2013-03861.
5. Halas D, Hansen CF, Hampson DJ, Mullan BP, Kim JC, Wilson RH, Pluske JR. Dietary supplementation with benzoic acid improves apparent ileal digestibility of total nitrogen and increases villous height and caecal microbial diversity in weaner pigs. *Anim Feed Sci Technol*. 2010; 160 (3–4): 137–147. doi:10.1016/j.anifeedsci.2010.07.001.
6. Weir J, Li H, Warren LK, Macon E, Wickens C. Characterizing ammonia emissions from horses fed different crude protein concentrations. *J Anim Sci*. 2017; 95(8): 3598– 3608. doi: 10.2527/jas.2017.1648.
7. Parsons CM, Castanon F, Han Y. Protein and amino acid quality of meat and bone meal. *Poult Sci*. 1997; 76: 361– 368. doi: 10.1093/ps/76.2.36.
8. Polgar L. Mechanism of protease action. Florida: CRC Press, Inc.; 1989. p. 68-70.
9. Cowieson AJ, Aureli R, Guggenbuhl P, Fru-Nji F. Possible involvement of myo-inositol in the physiological response of broilers to high doses of microbial phytase. *Anim Prod Sci*. 2015; 55: 710–719. doi: 10.1071/AN14044.
10. Torres KAA, Pizauro JJM, Soares CP, Silva TGA, Nogueira WCL, Campos DMB, Furlan RL, Macari M. Effects of corn replacement by sorghum in broiler diets on performance and intestinal mucosa integrity. *Poult. Sci*. 2013; 92: 1564-1571. doi: 10.3382/ps.2012-02422.
11. Dourado LRB, Barbosa NAR, Sakomura NK. Enzimas na nutrição de monogástricos. In: Sakomura NK, Silva JHV, Costa FGP, Fernandes JBK, Hauschild L, editors. *Nutrição de não-ruminantes*. Jaboticabal: Funep; 2014. p. 466-484.
12. Rutz F. Proteínas: digestão e absorção. In: *Fisiologia aviária aplicada à frangos de corte*. Jaboticabal: Funep; 2002. p. 135-140.
13. Argenzio RA. Funções secretórias do trato gastrointestinal. In: Swenson MJ, Reece WO, editors. *Dukes: fisiologia dos animais domésticos*. 11ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993. p. 319-329.

14. Macari M, Furlan RL, Gonzales E. Fisiologia aviária aplicada a frango de corte. Jaboticabal: Funep; 2002. P. 230-250.
15. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. Bioquímica ilustrada. Porto Alegre: Artmed; 2006.
16. Peluzio MCG, Batista ES. Proteínas. Nutrição básica e metabolismo. Viçosa: Editora UFV; 2008. p. 120-154.
17. Leeson S, Summers JD. Nutrition of the chicken. 4th ed. Guelph: University Books; 2001. 413 p.
18. Lehninger DN, Cox MM. Princípios de bioquímica de Lehninger. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2011.
19. Zanella I, Sakomura NK, Silversides FG, Figueirido A, Pack M. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybean. *Poult Sci.* 1999; 78(4): 561-568, doi: 10.1093/ps/78.4.561.
20. Uni Z, Ganot S, Skalan D. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. *Poult Sci.* 1998; 77(1): 75-82. doi: 10.1093/ps/77.1.75.
21. Longo FA. Avaliação de fontes de carboidrato e proteína e sua utilização na dieta pré-inicial de frango de corte [tese]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; 2003. 98 p.
22. Dessimoni GV. Planos nutricionais com suplementação de protease em dietas de frangos de corte [dissertação]. Diamantina: Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; 2011. 48 p.
23. Stryer L. Bioquímica. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1995. 1000 p.
24. Fireman FAT, Fireman AKAT. Enzimas na alimentação de suínos. *Cienc Rural.* 1998; 28(1): 173-178. doi: 10.1590/S0103-84781998000100030.
25. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. Bioquímica ilustrada. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2006. p. 533.
26. Michaelis L, Menten ML. Die Kinetik der Invertinwirkung. *Biochemische Zeitschrift.* 1913; 49: 333-369. [acesso 12 nov 2021] Disponível em: https://www.chem.uwec.edu/Chem352_Resources/pages/readings/media/Michaelis_&_Menton_1913.pdf
27. Brasil. Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004. D.O.U., Brasília; 1 dez 2004. Disponível em: [<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/IN13atualizada.pdf>]. Acesso em: 12 nov 2021.
28. Lima UA, Aquarone E, Borzani W, Schimidell W. Coleção Biotecnologia Industrial. Processos fermentativos e enzimáticos. São Paulo: Edgard Blücher; 2001. p. 593.
29. Hannas MI, Pupa JMR. Enzimas: uma alternativa viável para enfrentar a crise na suinocultura. 2006. Disponível em www.engormix.com/enzimas_uma_alternativa_viavel.html. acesso 19 nov 2021.
30. Horton HR, Moran LA, Rawn JD. Properties of enzymes. In: Principles of Biochemistry. 2nd ed. River: Prentice-Hall Inc.; 1996. p. 119-146.
31. Penz Júnior AM. Enzimas em rações para aves e suínos. In: Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 35; 1998; Botucatu-SP. Anais... Botucatu; 1998. p. 165-178.
32. Santos Júnior AA, Ferket PR. Fatores que afetam a saúde intestinal e a colonização por patógenos. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2007; Santos. Anais... Campinas: FACTA; 2007. p. 143-160.
33. Soto-Salanova MF. Uso de enzimas em dietas de milho e soja para frangos de corte. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1996; Curitiba. Anais... Curitiba: FACTA; 1996. p. 71-76.
34. Cousins B. Enzymes in bird nutrition. In: I Symposium International ACAV - EMBRAPA sobre Nutrição de Aves, 1999; Concórdia, SC. Anais... Concórdia: EMBRAPA/CNPSA; 1999. p. 118-132.

35. Guenter W. Practical experience with the use of enzymes. [acesso 19 out 2021]. Disponível em: <http://www.idrc.ca/books/focus/821/chp6.html>.
36. Leite PRSC. Digestibilidade dos nutrientes da ração e desempenho de frangos de corte alimentados com rações formuladas com milho ou sorgo e suplementadas com enzimas [dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia; 2009. 81 p.
37. Meneghetti C. Associação de enzimas em rações para frangos de corte [tese]. Lavras: Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras; 2013. 93 p.
38. Tejedor AA, Albino LFT, Rostagno HS, Lima CAR, Vieites FM. Efeito da adição de enzimas em dietas de frangos de corte à base de milho e farelo de soja sobre a digestibilidade ileal de nutrientes. *Rev Bras Zootec*. 2001; 30(3): 809-816. doi: 10.1590/S1516-35982001000300028.
39. Lecznieski JL. Considerações práticas do uso de enzimas. In: Seminário Internacional de Aves e Suínos, 5; 2006; Florianópolis. Anais... Florianópolis: AVESUI; 2006. p. 34-46.
40. Barbosa NAA, Sakomura NK, Fernandes JBK, Dourado LRB. Enzimas exógenas no desempenho e na digestibilidade ileal de nutrientes em frangos de corte. *Pesq Agro Bras*. 2008; 43(6): 755-762. doi: 10.1590/S0100-204X2008000600012.
41. Torres DM, Teixeira AS, Rodrigues PB, Bertechin AG, Freitas RTF, Santos EC. Eficiência das enzimas amilase, protease e xilanase sobre o desempenho de frangos de corte. *Cienc Agrotec*. 2003; 27(6): 1404-1408. doi: 10.1590/S1413-70542003000600027.
42. Brum PAR, Lima GJMM, Ávila VS, Coldebella A, Zanotto DL, Klein CH. Utilização da enzima alfa amilase em dietas à base de milho e farelo de soja para frangos de corte. Concórdia, SC: Embrapa Suínos e Aves; 2008.
43. Barrett AJ, Rawlings ND, O'brien EA. The merops database as a peptidase information system. *J Struct Biol*. 2001; 134: 95-102. doi: 10.1006/jsbi.2000.4332.
44. Pant G, Prakash A, Pavani JVP, Bera S, Deviram GVNS, Kumar A, Panchpuri M, Prasuna RG. Production, optimization and partial purification of protease from *Bacillus subtilis*. *J Taibah Univ Sci*. 2015; 9:50-55. doi: 10.1016/j.jtusci.2014.04.010.
45. Silva CR, Delatorre AB, Martins MLL. Effect of the culture conditions on the production of an extracellular protease by thermophilic *Bacillus* sp. and some properties of the enzymatic activity. *Braz J Microbiol*. 2007; 38:253-258. doi: 10.1590/S1517-83822007000200012.
46. Gottschalk G. Catabolic activities of aerobic heterotrophs. In: *Bacterial metabolism*. 1st ed. Berlin: Springer; 1985. p. 144.
47. Rao MB, Tanksale AM, Ghatge MS, Deshpande VV. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998; 62(3): 597-635. doi: 10.1128/mmbr.62.3.597-635.1998.
48. Juntunen KS, Makinen S, Isoniemi S, Valtakari L, Pelzer A, Janis J, Paloheimo M. A new subtilase-like protease deriving from *Fusarium equiseti* with high potential for industrial applications. *Appl Biochem Biotechnol*. 2015; 177(2): 407-430. doi: 10.1007/s12010-015-1752-6.
49. Freitas DDM. Desempenho de frangos de corte e digestibilidade ileal de dietas suplementadas com protease [dissertação]. Porto Alegre: Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2010. 75 f.
50. NIR, I. Comparative growth and development of the digestive organs and some enzymes in the broiler chicks and egg type chicks after hatching. *Brit Poult Sci*. 1993; 34(3): 523-532. doi: 10.1080/00071669308417607.
51. Lemme A, Ravindran V, Bryden WL. Ileal digestibility of amino acids in feed ingredients for broilers. *J World's Poult Sci*. 2004; 60: 423-437. doi: 10.1079/WPS200426.

52. Barletta A. Introduction: Current market and expected developments. Bedford MR, Partridge GG, editors. *Enzymes in farm animal nutrition*. 2nd ed. London: Cab International; 2010. p. 1-11
53. Cowieson AJ, Bedford MR, Ravindran V. Interactions between xylanase and glucanase in maize-soy-based diets for broilers. *Brit Poult Sci*. 2010; 51(2): 246-257. doi: 10.1080/00071661003789347.
54. Sakomura NK, Rostagno HS. *Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos*. 2ª ed. Jaboticabal: FUNEP; 2016. 262 p.
55. Isaksen MF, Coieson AJ, Kragh KM. Starch-and protein degrading enzymes: biochemistry, enzymology and characteristics relevant to animal feed use. In: Bedford MR, Partridge GG, editors. *Enzymes in farm animal nutrition*. 2nd ed. London: Cab International; 2010.
56. Ávila V, Gopinger E, Bottcher A, Rigo PP, Krabbe EL. Efeito do uso de protease na dieta de frangos de corte sobre o rendimento de carcaça. In: XVI Seminário Técnico Científico de Aves e Suínos - AveSui; 2017.
57. Campos CFA, Roguides KF, Vaz RGMV, Giannes GC, Silva GF, Parente IP, Amorim AF, Barbosa AFCB, Silva VS, Silva JRD, Silva EM, Campos ML, Machado SB. Enzimas fúngicas em dietas com alimentos alternativos para frangos de crescimento lento. *Desafios*. 2017; 4: 35-53. [acesso 21 nov 2021]. Disponível em: <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/desafios/article/view/3219/9647>
58. Angel CR, Saylor W, Vieira SL, Ward N. Effects of a monocomponent protease on performance and protein utilization in 7-to 22 day-old broiler chickens. *Poult Sci*. 2011; 90(10): 2281-2286. doi: 10.3382/ps.2011-01482.
59. Kamel NF, Ragaa NM, El-Banna RA, Mohamed FF. Effects of a monocomponent protease on performance parameters and protein digestibility in broiler chickens. *Agric Agricult Sci Proc* 2015; 6: 216-225. doi: 10.1016/j.aaspro.2015.08.062.
60. Kasbaoui M, Guillaume J. Essai d'un nouveau type d'additifs alimentaires les enzymes protéolytiques chez le poulet de chair. *Ind Agroaliment*. 1976; 93: 1525.
61. Vogt H, Harnisch S. Proteasen im Geflüggelfutter. *Arch Geflüggelkunde* 1978; 42: 18394.
62. Lewis D, Hiller G. Biological properties in relation to chick growth of acid proteases from *Aspergillus* sp. and *Rhizopus* sp. *J World Poult Sci*. 1980; 36: 23750. doi:10.1079/WPS19800013.
63. Aderibigbe A, Cowieson AJ, Sorbana JO, Pappenberger G, Adeola O. Growth performance and amino acid digestibility responses of broiler chickens fed diets containing purified soybean trypsin inhibitor and supplemented with a mono- component protease. *Poult Sci*. 2020; 99(10): 5007-5017. doi: 10.1016/j.psj.2020.06.051.
64. Cowieson AJ, Smith A, Sorbara JOB, Pappenberger G, Olukosi OA. et al. Efficacy of a monocomponent exogenous protease in the presence of a high concentration of exogenous phytase on growth performance of broiler chickens. *J Appl Poult Res*. 2019; 28(3): 638- 646. doi: 10.3382/japr/pfz014.
65. Angel CR, Saylor W, Vieira SL, Ward N. et al. Effects of a monocomponent protease on performance and protein utilization in 7- to 22-day-old broiler chickens. *Poult Sci*. 2011; 90: 2281-2286. doi: 10.3382/ps.2011-01482
66. Duque-Ramírez CF, Javierre JA, Peñuela-Sierra LM, Diaz-Vargas M. Effect of exogenous protease on performance, nutrient digestibility, intestinal histomorphometric, meat quality characteristics, carcass yield in broilers fed low protein diets. *Trop Anim Health Prod*. 2023; 55(3):190. doi: 10.1007/s11250-023-03562-y.
67. Freitas DM, Vieira SL, Angel CR, Favero A, Maiorka A. Performance and nutrient utilization of broilers fed diets Supplemented with a novel mono component protease. *J Appl Poult Res*. 2011; 20: 347-352. doi: 10.3382/japr.2010-00295.

68. Cancelli T. Protease em dietas para frangos de corte [dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2017. 20 f.
69. Fru-Nji F, Klunter AM, Fischer M, Pontoppidan K. A feed serine protease improves broiler Performance and energy digestibility. *J Poult Sci.* 2011;48(10):239– 246. doi: 10.2141/jpsa.011035.
70. Cowieson AJ, Roos FF. Bioefficacy of a mono-component protease in the diets of pigs and poultry: a meta-analysis of effect on ileal amino acid digestibility. *J Appl Anim Nutr.* 2014; 2: 13–21. doi:10.1017/jan.2014.5.
71. Oxenboll KM, Pontoppidan K, Fru-Nji F. Use of a protease in poultry feed offers promising environmental benefits. *Int J Poult Sci.* 2011; 10: 842–848. doi: 10.3923/ijps.2011.842.848.
72. Leinonen I, Williams FAG. Effects of dietary protease on nitrogen emissions from broiler production: a holistic comparison using Life Cycle Assessment. *J Sci Food Agricult* 2015; 95(15): 3041-3046. doi: 10.1002/jsfa.7202, 2015.
73. Dobre PR. Avaliação de fontes proteicas associadas à enzima protease para frangos de corte na fase inicial [dissertação]. Ilha Solteira: Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira; 2019. 29 f.

CAPÍTULO 2 - EFEITOS DOS NÍVEIS DE PROTEASE NO DESEMPENHO E RENDIMENTO DE CARÇA DE FRANGOS DE CORTE DE 1 A 42 DIAS DE IDADE

RESUMO

Este estudo foi conduzido para avaliar o efeito da suplementação de diferentes níveis da enzima protease, no desempenho e no rendimento de carcaça e cortes, em frangos de 1 a 42 dias de idade, alimentados com rações contendo redução da fração não digestível de aminoácidos, a base de milho e farelo de soja. Foram alojados 1.500 pintos machos Cobb-500®, em boxes em um galpão industrial de pressão negativa. Foram utilizadas 10 dietas no formato de um programa alimentar conforme a fase de criação. Foram testados três níveis de inclusão da enzima protease: 4.000 unidades de protease UP/kg, 8.000 unidades de protease UP/kg e 12.000 unidade de protease UP/kg. E foi analisado a sua inclusão dividida em duas fases (1-21 d) e (22-42d), afim de analisar o efeito da inclusão da protease em cada fase, e analisar o seu efeito acumulado na fase total. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 10 repetições e 15 aves por repetição. Foram avaliadas as variáveis de desempenho dos frangos aos sete, 21 e 42 dias de idade, e aos 42 dias o rendimento de carcaça e de cortes. A análise estatística foi realizada conforme a fase de criação, utilizando-se a análise de variância (ANOVA), e realizada a regressão polinomial de um a 42 dias de idade. Os frangos do tratamento com 12.000 UP/kg em rações com redução da fração indigestível de aminoácidos, na fase pré-inicial apresentaram um maior ganho de peso médio, semelhante aos frangos alimentados com ração basal, com níveis adequados. No período total, foi observado um efeito quadrático no consumo de ração e na conversão alimentar, com menor consumo de ração e conversão alimentar para os níveis de 5.296, de 6.243,1 UP/kg, respectivamente. Para rendimento de carcaça e de cortes, não houve diferenças estatísticas. Conclui-se que a suplementação da enzima protease em rações com reduções do nível nutricional, melhorou o desempenho de frangos.

Palavras-chave: Digestibilidade, Enzimas, Metabolismo, Crescimento.

CHAPTER 2 - EFFECTS OF PROTEASE LEVELS ON THE PERFORMANCE AND YIELD OF CARCASS OF BREACHES FROM 1 TO 42 DAYS OF AGE

ABSTRACT

This study was carried out to evaluate the effect of supplementation of different levels of the protease enzyme, on performance and on carcass and cuts yield, in broilers from 1 to 42 days of age, fed diets containing a reduction in the non-digestible fraction of amino acids, the based on corn and soybean meal. 1500 male Cobb chicks were housed in mobile boxes of a negative pressure industrial shed, 10 diets were used in the format of a feeding program according to the breeding phase. Three levels of protease enzyme inclusion were tested: 4,000 protease units UP/kg, 8,000 protease units UP/kg and 12,000 protease units UP/kg. And its inclusion was analyzed divided into two phases (1-21 d) and (22-42d), in order to analyze the effect of the protease inclusion in each phase, and to analyze its accumulated effect in the total phase. A completely randomized design (DIC) was used, with 10 replications and 15 birds per box. Performance measurements were performed with the weighing of chickens and feed on the day of housing and at 7, 21 and 42 days of age, determining average weight, weight gain, feed intake and feed conversion. At 42 days, 100 birds were slaughtered (10 birds per treatment) for carcass and cuts yield. Statistical analysis was performed according to the rearing stage, using analysis of variance (ANOVA), and polynomial regression was performed from 1 to 42 days of age. The birds treated with 12,000 UP/kg in diets with reduced indigestible fraction of AA, in the pre-initial phase, showed a better average weight gain, and the protease supplementation provided similar performance results to birds fed diets with adequate levels. In the total period, a quadratic effect on feed conversion was observed, with enzyme $p_{min} = 6243$ PU/kg. Regarding carcass yield and cuts, there were no statistical differences between treatments. Protease enzyme supplementation in diets with reduced nutritional levels is efficient in improving broiler performance.

Keywords: Digestibility, Enzymes, Metabolism, Growth.

1. INTRODUÇÃO

Com o objetivo de melhorar o aproveitamento dos nutrientes ingeridos, e conseqüentemente o desempenho das aves, estudos apontam a importância da utilização de enzimas proteases exógenas nas rações[1-3].

A inclusão de aminoácidos (AA) industriais, com base no conceito de proteína ideal, e enzimas exógenas (como proteases) são ferramentas comuns utilizadas para reduzir o conteúdo de proteína bruta (PB) das rações, diminuindo, conseqüentemente, a inclusão de farelo de soja. Rações contendo menos farelo de soja e com níveis reduzidos de PB requerem uma maior variedade de AA industriais, necessária para não comprometer o desempenho. Portanto, os AA industriais são usados para suprir as exigências de AA, e as proteases exógenas são usadas para melhorar a utilização de proteína da ração[4].

De acordo com Wang et al.[5], as proteases são recomendadas para a suplementação dietética de frangos de corte, pois melhoram o desempenho e rendimento de carcaça, sendo seus efeitos mais pronunciados quando as rações são formuladas com baixos níveis de aminoácidos essenciais ou de proteína total, de forma a minimizar as excreções de nitrogênio. Isso pode se explicado porque a inclusão de enzimas exógenas reduz a síntese das endógenas e em conseqüência disso o organismo teria a disposição maior quantidade de aminoácidos para a síntese proteica.

Dessa forma, a inclusão de proteases exógenas permite que se realize a formulação de rações com teores proteicos reduzidos, devida a liberação de nitrogênio proporcionada pela ação enzimática[6]. Law et al.[7], ao avaliarem os efeitos da suplementação de protease em rações com baixo teor proteico e de energia no desempenho e crescimento de frangos de corte sob estresse térmico, demonstraram que a suplementação de protease, particularmente em rações reduzidas de energia metabolizável (EM) ou PB não afetou o desempenho de crescimento de frangos de corte, tornando-se uma estratégia nutricional potencial para a indústria avícola poder minimizar os efeitos adversos da diminuição da densidade de nutrientes e potencialmente reduzir os custos.

Visto que a idade da ave, pode afetar a disponibilidade dos nutrientes pela ação das enzimas, e a importância da avaliação de diferentes níveis de suplementação da enzima, com intuito de promover melhor predibilidade do efeito da enzima no organismo, de acordo com o tipo de alimento utilizado, objetivou-se com esse trabalho definir o melhor nível de suplementação da enzima protease para frangos de corte de um a 42 dias de idade, alimentados

com redução da fração indigestível de AA, em rações a base de milho e farelo de soja, conforme o desempenho e o rendimento de carcaça.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais/CEUA da Universidade Federal de Goiás (UFG), conforme o protocolo registro de nº 012/19.

2.1. Instalações, Aves e Manejo

O experimento foi conduzido no Aviário Escola da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia, Goiás, no período de 02 de outubro a 13 de novembro de 2019. Foram alojados 1.500 pintos de corte machos, com peso médio de 48,28 g, com um dia de idade, da linhagem Cobb-500®, provenientes do incubatório comercial da empresa avícola Abatedouro São Salvador Alimentos S/A (Super Frango) de Itaberaí, Goiás.

As aves foram alojadas em 100 boxes experimentais (1,0m x 1,5m) de tubos de PVC e telados, montados na área central do galpão de alvenaria com 125m C x 12m L (1.500 m²), do tipo pressão negativa com sete exaustores, sistema de nebulização e entrada de ar com placa evaporativa. As muretas laterais de alvenaria de 0,40m e tela de arame de 2,80m de altura, pé direito de 4,20 m e orientação leste-oeste.

Cada boxe foi equipado com comedouros tubulares infantis na primeira semana de idade que foram substituídos por comedouros tubulares após a primeira semana de idade, e bebedouros *nipple*. Durante todo o período experimental, as aves receberam ração e água *ad libitum*, e foram criadas, seguindo as recomendações de iluminação, temperatura, umidade e manejo de acordo com o Guia de Manejo da Cobb[8]. A Temperatura máxima e mínima e a umidade relativa foram aferidas diariamente (Gráfico 1).

As aves foram alojadas em cama reutilizada (segunda utilização) de casca de arroz. Vacinadas no incubatório contra a doença de Marek, e aos 14 dias de idade foram vacinadas contra a doença de Gumboro, via água de bebida.

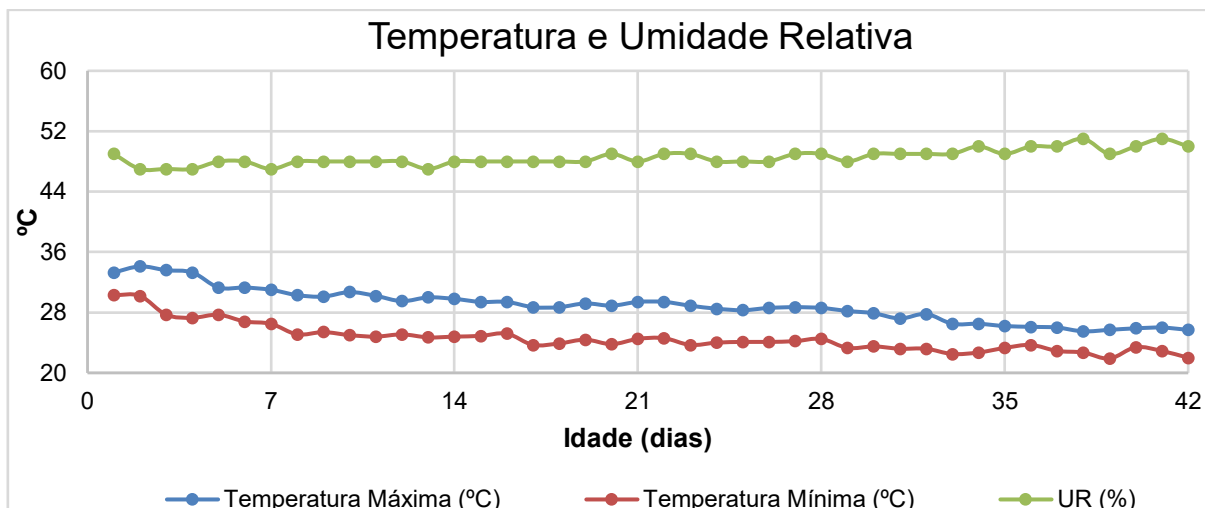


Gráfico 2. Temperatura mínima e máxima e umidade relativa no período de 1 a 42 dias

2.2. Delineamento e Tratamentos Experimentais

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado (DIC) com 10 tratamentos e 10 repetições de 15 aves, totalizando 100 parcelas experimentais e 1.500 aves. Os tratamentos utilizados estão apresentados na Tabela 1. Foram utilizadas 10 rações no formato de um programa alimentar conforme a fase de criação. Foram testados três níveis de inclusão da enzima protease: 4.000 unidades de protease UP/kg, 8.000 unidades de protease UP/kg e 12.000 unidade de protease UP/kg, e foi analisado a sua inclusão dividida em duas fases (1-21 dias de idade) e (22-42 dias de idade), afim de analisar o efeito da inclusão da protease em cada fase, e analisar o seu efeito acumulado na fase total; também foi realizado um tratamento com redução do nível de 4.000 na fase inicial UP/kg para 8.000 UP/kg na fase de crescimento/final.

Para a fase inicial (1- 21 dias de idade), foram considerados os seguintes tratamentos: T1- ração basal (média das rações 1 a 5); T2 - (ração 6); T3 - (ração 7); T4 - (rações 8 e 9) e T5 (ração 10).

Para a fase de crescimento e final (22-42 d), foram analisados os seguintes tratamentos que receberam a ração basal na fase de 1 a 21 dias, considerando: T1- (ração 1); T2 - (ração 2); T3 - (ração 3); T4 - (ração 4) e T5 - (ração 5). Para o período total (1 a 42 dias), foram consideradas todas as 10 rações (dieta 1 a 10).

Tabela 1 - Tratamentos experimentais compostos de rações suplementadas ou não com a enzima protease, com ou sem redução de proteína bruta (PB)

Dietas	1 a 21 dias	22 a 42 dias
1	Ração basal	Ração basal
2	Ração basal	Ração reduzida
3	Ração basal	Ração Baixa PB + 4.000 PROT/kg
4	Ração basal	Ração Baixa PB + 8.000 PROT/kg
5	Ração basal	Ração Baixa PB + 12.000 PROT/kg
6	Ração reduzida	Ração reduzida
7	Ração reduzida + 4.000 PROT/kg	Ração reduzida + 4.000 PROT/kg
8	Ração reduzida + 8.000 PROT/kg	Ração reduzida + 4.000 PROT/kg
9	Ração reduzida + 8.000 PROT/kg	Ração reduzida + 8.000 PROT/kg
10	Ração reduzida + 12.000 PROT/kg	Ração reduzida + 12.000 PROT/kg

As aves receberam as rações divididas em três fases de criação: inicial (1-21 dias de idade), crescimento (22-33 dias de idade) e final (34-42 dias de idade). As rações basais (RB) foram formuladas à base de milho e farelo de soja de acordo com as recomendações de Rostagno et al.[9], o milho e o farelo de soja foram previamente analisados e suas composições nutricionais utilizadas para os cálculos das rações. Para o cálculo das rações com redução da PB, foi calculado a fração não digerida, pela diferença do AA total e o AA digestível da dieta basal, em seguida, atribuído 70% de melhoria da matriz dessa fração não digestível. As rações experimentais estão apresentadas na Tabela 2.

Para o preparo das rações reduzidas (RR), os níveis dietéticos dos aminoácidos, foram reduzidos por meio de menor inclusão de farelo de soja, o que permitiu a maior inclusão do milho (ingrediente energético), diminuindo a quantidade de óleo adicionada na ração.

A redução proposta correspondeu aos níveis de PB e AA disponibilizados pela matriz nutricional da protease. A protease utilizada neste estudo foi a Aextra[®] PRO 301 TPT (Danisco Animal Nutrition, Reino Unido), produzida por fermentação seca por *Bacillus subtilis*, sulfato de sódio, álcool polivinílico (PVA), silicato de magnésio hidratado e amido, com atividade mínima garantida de subtilisina (protease) (EC3.4.21.62) 80.000 U g⁻¹.

Tabela 2 - Ingredientes e composição nutricional calculada das rações basais (RB) e reduzidas (RR) para as fases inicial (1 a 22 dias), crescimento (23 a 33 dias) e final (34 a 42 dias)

Ingredientes (%)	Fases					
	Inicial		Crescimento		Final	
	BR	RR ⁵	RB ⁴	RR ⁵	RB ⁴	RR ⁵
Milho	55,82	59,73	57,31	61,57	62,07	65,76
Farelo de soja (45%)	37,80	34,56	35,35	31,80	31,52	28,46
Óleo de soja	2,87	2,23	4,38	3,66	4,09	3,47
Fósforo bicálcico	0,73	0,76	0,43	0,45	0,21	0,24
Calcário	1,04	1,04	1,00	1,00	0,91	0,91
Sal	0,49	0,49	0,46	0,46	0,44	0,44
DL-Metionina	0,44	0,42	0,39	0,38	0,37	0,36
L-Lisina HCL	0,44	0,14	0,08	0,10	0,11	0,12
L-Treonina	0,13	0,11	0,10	0,08	0,10	0,08
L-Valina	0,13	0,07	0,06	0,05	0,07	0,05
L-Triptofano	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03
Premix vitamínico ¹ /mineral ²	0,40	0,40	0,40	0,40	0,05	0,05
Porção variável ³	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição nutricional						
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3.030	3.030	3.150	3.150	3.200	3.200
Proteína bruta (%)	20,92	21,07	19,80	19,80	18,42	18,51
Cálcio (%)	0,86	0,86	0,76	0,76	0,66	0,66
Fósforo disponível (%)	0,41	0,41	0,35	0,35	0,31	0,31
Potássio (%)	0,85	0,81	0,81	0,76	0,76	0,71
Sódio (%)	0,21	0,21	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloro (%)	0,34	0,34	0,32	0,33	0,32	0,32
Ácido linoléico (%)	2,95	2,65	3,77	3,43	3,67	3,38
Met digestível (%)	0,69	0,68	0,64	0,63	0,60	0,59
Met total (%)	0,72	0,68	0,66	0,63	0,62	0,59
Met+cist digestível (%)	0,89	0,89	0,83	0,83	0,77	0,77
Met+cist total (%)	0,95	0,91	0,88	0,84	0,83	0,79
Treonina digestível (%)	0,81	0,81	0,74	0,74	0,69	0,69
Treonina total (%)	0,90	0,83	0,83	0,76	0,77	0,71
Lisina digestível (%)	1,34	1,26	1,13	1,13	1,06	1,06
Lisina total (%)	1,34	1,26	1,23	1,15	1,15	1,08
Triptofano digestível (%)	0,21	0,21	0,20	0,20	0,19	0,19
Triptofano total (%)	0,23	0,22	0,22	0,21	0,21	0,19
Arginina digestível (%)	1,40	1,36	1,32	1,28	1,21	1,18
Arginina total (%)	1,48	1,38	1,40	1,29	1,29	1,20
Valina digestível (%)	0,95	0,95	0,88	0,88	0,83	0,83
Valina total (%)	1,06	0,98	0,98	0,91	0,92	0,85

¹Premix vitamínico (composição por kg do produto): pré-inicial e inicial (vitamina A 20.000.000,00 UI; vitamina D3 5.000.000,00 UI; vitamina E 50.000,00 UI; vitamina K3 4.000,00 mg; vitamina B1 5.000,00 mg; vitamina B2 13.000,00 mg; vitamina B6 7.000,00 mg; vitamina B12 36,00 mg; niacina 84.000,00 mg; pantotenato 30.000,00 mg; ácido fólico 2.400,00 mg; biotina 160,00 mg; selênio 600,00 mg); crescimento e final (vitamina A 16.000.000,00 UI; vitamina D3 3.800.000,00 UI; vitamina E 40.000,00 UI; vitamina K3 3.600,00 mg; vitamina B1 3.600,00 mg; vitamina B2 11.000,00 mg; vitamina B6 5.200,00 mg; vitamina B12 30,00 mg; niacina 70.000,00 mg; pantotenato 26.000,00 mg; ácido fólico 1.800,00 mg; biotina 100,00 mg; selênio 600,00 mg).

²premix mineral (composição por kg do produto): cobre 16,25 g; ferro 100,00 g; iodo 2.000,00 g; manganês 150,00 g; zinco 125,00 g. ³Porção variável: composta de amido ou enzima protease: Ração basal. ⁵RR: ração com redução da fração indigestível dos aminoácidos.

2.3. Variáveis Avaliadas

Foram avaliadas as variáveis de desempenho acumulado (consumo de ração, peso médio, viabilidade e conversão alimentar) aos sete, 21 e 42 dias de idade. Para isso foi conduzida a pesagem dos frangos e das rações, semanalmente, e registrado o número e peso dos frangos mortos diariamente.

O consumo médio de ração foi obtido pela diferença de peso da ração oferecida e a sobra resultante de cada período, dividido pelo número médio de frangos no período. O peso vivo médio foi determinado por meio da pesagem dos frangos vivos de cada boxe ao longo do experimento. Para conversão alimentar foi considerado o peso dos frangos mortos, acrescentando ao peso vivo e ainda reduzindo deste total o peso dos pintos de um dia ao serem alojados[10]. A viabilidade foi calculada como porcentagem dos frangos sobreviventes em relação ao número inicial de alojados.

Aos 42 dias de idade, um frango de cada repetição (totalizando 10 frangos por tratamento) representando o peso médio da repetição, dentro de um intervalo de variação de $\pm 5\%$, foi pesado e identificado com lacre, permanecendo em um período de jejum de alimento por aproximadamente seis horas, recebendo apenas dieta hídrica, para avaliação do rendimento de carcaça e cortes.

Após o período de jejum, os frangos foram pesados e realizou-se o abate (atordoamento, sangria, escalda, depenagem e evisceração), sendo os mesmos retirados da linha, pesados novamente para realização do cálculo do rendimento de carcaça (RC) (sem pés, cabeça e pescoço), sendo: $RC (\%) = \text{peso carcaça (g)} * 100 / \text{peso vivo (g)}$; e cortes/rendimento de partes (RP) (peito, coxas + sobrecoxas e asas) em função do peso da carcaça: $RP (\%) = \text{peso da parte (g)} * 100 / \text{peso carcaça (g)}$.

A gordura abdominal foi retirada na evisceração e pesada individualmente em balança analítica e calculados o peso relativo (peso do órgão/peso do frango x 100) dado em g/100g de peso vivo.

2.4. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada conforme a fase de criação. Para a fase inicial, foram considerados os seguintes tratamentos: tratamento 1- ração basal (média das rações 1 a 5); tratamento 2 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos (dieta 6); tratamento 3 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos com 4.000 UP/kg (dieta 7); tratamento 4 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos

aminoácidos com 8.000 UP/kg (dietas 8 e 9); e tratamento 5 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos com 12.000 UP/kg (dieta 10).

Foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação das médias usando-se o programa estatístico R[11] version 3.2.3.

Para a fase de crescimento, foram analisados os seguintes tratamentos que receberam a ração basal na fase de 1 a 21 dias, considerando: tratamento 1- ração basal (dieta 1); tratamento 2 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos (dieta 2); tratamento 3 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos + 4.000 UP/kg de 22 a 42 dias (ração 3); tratamento 4 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos + 8.000 UP/kg de 22 a 42 dias (dieta 4); e tratamento 5 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos + 12.000 UP/kg de 22 a 42 dias (dieta 5);

Foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação das médias usando-se o programa estatístico R[11] version 3.2.3.

Para o período total (1 a 42 dias), foram consideradas todas as 10 rações no formato de um programa alimentar e foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação das médias. A análise de regressão polinomial foi realizada em duas etapas, usando-se o programa estatístico R[11] version 3.2.3.

Na primeira etapa, considerou-se o efeito dados de desempenho para as fases de crescimento e final (22 a 42 dias): tratamento 1 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos (ração2); tratamento 2 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos + 4.000 UP/kg (ração 3); tratamento 3 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos + 8.000 UP/kg (ração 4); e tratamento 4 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos + 12.000 UP/kg (ração 5).

Na segunda etapa, considerou-se o efeito de regressão para os dados de desempenho para a fase total (1 a 42 dias): tratamento 1 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos (ração 6); tratamento 2 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos + 4.000 UP/kg (ração 7); tratamento 3 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos + 8.000 UP/kg (ração 9); e tratamento 4 - ração com redução de 70% da fração indigestível dos aminoácidos + 12.000 UP/kg (ração 10).

3. RESULTADOS

3.1. Desempenho

Os resultados de desempenho na fase pré-inicial (1-7 dias de idade) mostraram diferenças ($P < 0,05$) para peso médio final (PMF) e ganho de peso médio (GPM), a ração basal apresentou o maior PMF somente quando comparado ao tratamento com 4.000 UP/kg. O tratamento com 12.000 UP/kg de protease e a ração basal apresentaram o maior GPM quando comparados com o tratamento com 4.000 UP/kg (Tabela 3).

Tabela 3 - Peso médio inicial (PMI), peso médio final (PMF), ganho de peso médio (GPM), consumo de ração médio (CRM), conversão alimentar (CA) e viabilidade de frangos de corte (VIAB.), alimentados com rações suplementadas com enzima protease, no período de 1 a 7 dias de idade

Tratamentos	PMF (g)	GPM (g)	CRM (g)	CA (g/g)	VIAB. (%)
RB ¹	175,8 ^a	127,6 ^a	169,4	1,33	100
RR ²	173,3 ^{ab}	124,7 ^{ab}	171,7	1,38	100
RR+4.000 UP/kg ³	170,9 ^b	122,6 ^b	170,2	1,40	100
RR+8.000 UP/kg ⁴	171,2 ^{ab}	123,1 ^{ab}	165,5	1,35	100
RR+12.000 UP/kg ⁵	173,9 ^{ab}	127,6 ^a	173,1	1,38	100
p-valor	0,021	0,014	0,813	0,683	-
CV (%) ⁶	3,33	4,52	10,53	11,99	-

¹RB: rações T1, T2, T3, T4 e T5; ²RR: ração T6; ³RR+4.000 UP/kg: ração T7; ⁴RR+8.000 UP/kg: rações T8 e T9; ⁵RR+12.000 UP/kg: ração T10; ⁶CV: coeficiente de variação. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

Na avaliação do desempenho de um a 21 dias de idade (Tabela 4), os frangos que receberam a ração basal apresentaram maior PMF quando comparados aos frangos que receberam o tratamento RR+8.000 UP/kg. Os frangos que receberam a ração basal apresentaram maior GPM quando comparados aos frangos que receberam o tratamento RR+4.000 UP/kg ou 8.000 UP/kg. Com relação CRM, os frangos que receberam o tratamento RR+8.000 UP/kg apresentaram menor consumo quando comparados aos frangos que receberam a RB, no entanto não houve diferença para a CAc ($p > 0,05$).

Tabela 4 - Peso médio final (PMF), ganho de peso médio (GPM), consumo de ração médio (CRM), conversão alimentar corrigida pela mortalidade (CAc) e viabilidade de frangos de corte (VIAB.), alimentados com rações suplementadas com enzima protease, no período de 1 a 21 dias de idade

Tratamentos	PMF (g)	GPM (g)	CRM (g)	CAc (kg/kg)	VIAB. (%)
RB ¹	985,00 ^a	937,00 ^a	1303 ^b	1,39	99,7

RR ²	958,00ab	910,00ab	1286ab	1,41	100,0
RR+4.000 UP/kg ³	953,00ab	905,00b	1309ab	1,43	100,0
RR+8.000 UP/kg ⁴	944,00b	895,00b	1263 ^a	1,41	99,7
RR+12.000 UP/kg ⁵	966,00ab	918,00ab	1287ab	1,40	100,0
p-valor	<0,001	<0,001	0,053	0,477	0,857
CV (%) ⁶	3,06	3,21	3,88	4,01	1,16

¹RB: rações T1, T2, T3, T4 e T5; ²RR: ração T6; ³RR+4.000 UP/kg: ração T7; ⁴RR+8.000 UP/kg: rações T8 e T9; ⁵RR+12.000 UP/kg: ração T10; ⁶CV: coeficiente de variação. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (P<0,05).

Os resultados na fase de 22 a 42 dias de idade mostraram que o uso de diferentes níveis de protease na ração não influenciou (p>0,05) o desempenho de frangos quando comparados as rações sem suplementação da enzima protease (Tabela 5).

Tabela 5 - Peso médio final (PMF), ganho de peso médio (GPM), consumo de ração médio (CRM), conversão alimentar corrigida pela mortalidade (CAc) e viabilidade de frangos de corte (VIAB.), alimentados com rações suplementadas com enzima protease, no período de 22 a 42 dias de idade

Tratamentos	PMF (g)	GPM (g)	CRM (g)	CAc	VIAB. (%)
RB ¹	3,29	2,29	3,64	1,58	97,3
RR ²	3,22	2,23	3,61	1,61	97,3
RR+4.000 UP/kg ³	3,20	2,22	3,65	1,61	97,3
RR+8.000 UP/kg ⁴	3,28	2,29	3,68	1,60	98,0
RR+12.000 UP/kg ⁵	3,18	2,21	3,65	1,62	98,0
p-valor	0,066	0,108	0,920	0,295	0,9887
CV (%) ⁶	2,86	4,01	4,65	2,86	4,25

¹RB: rações T1, T2, T3, T4 e T5; ²RR: ração T6; ³RR+4.000 UP/kg: ração T7; ⁴RR+8.000 UP/kg: rações T8 e T9; ⁵RR+12.000 UP/kg: ração T10; ⁶CV: coeficiente de variação. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (P<0,05).

No período total de 1-42 dias de idade (Tabela 6), os resultados mostraram que o uso da enzima protease na ração não influenciou o desempenho de frangos quando comparados a ração basal e a ração com redução da fração indigestível dos aminoácidos (p>0,05).

Tabela 6 - Peso médio final (PMF), ganho de peso médio (GPM), consumo de ração médio (CRM), conversão alimentar corrigida pela mortalidade (CAc) e viabilidade de frangos de corte (VIAB.), alimentados com rações suplementadas com enzima protease, no período de 1 a 42 dias de idade

Tratamentos	PMF (kg)	GPM (kg)	CRM (kg)	CAc	VIAB. (%)
T1 ¹	3,29	3,24	4,91	1,53	96,7
T2 ²	3,22	3,17	4,94	1,55	97,3
T3 ³	3,20	3,15	4,95	1,56	97,3

T4 ⁴	3,28	3,23	4,95	1,52	98,0
T5 ⁵	3,20	3,15	4,95	1,55	97,3
T6 ⁶	3,20	3,16	4,97	1,56	96,0
T7 ⁷	3,21	3,16	4,87	1,54	98,7
T9 ⁸	3,18	3,14	4,86	1,53	96,7
T10 ⁹	3,26	3,21	5,06	1,56	97,3
p-valor	0,204	0,211	0,403	0,18	0,938
CV (%) ¹⁰	2,98	3,03	3,49	2,34	4,3
Regressão 1 ¹¹					
Valor de P					
Linear	0,8255	0,8307	0,8900	0,4172	0,9142
Quadrática	0,3060	0,3096	0,9221	0,2379	0,8097
CV	2,61	2,65	3,67	2,38	4,22
Regressão 2 ¹²					
Valor de P					
Linear	0,3231	0,3230	0,2518	0,7996	0,7021
Quadrática	0,2711	0,2755	0,0052	0,0754	0,3943
CV (%) ¹⁰	2,99	3,04	3,11	2,32	3,78

¹T1: RB; ²T2: 1 a 21 dias - RB, 22 a 42 dias - RR, ³T3: 1 a 21 dias - RB, 22 a 42 dias RR+4.000 UP/kg, ⁴T4: 1 a 21 dias RB, 22 a 42 dias RR+8.000 UP/kg; ⁵T5: 1 a 21 dias RB, 22 a 42 dias RR+12.000 UP/kg; ⁶T6: RR; ⁷T7: RR+4.000 UP/kg; ⁸T9: RR+8.000 UP/kg; ⁹T10: RR+12.000 UP/kg; ¹⁰CV: coeficiente de variação; ¹¹Regressão 1: entre os tratamentos T2 ao T5; ¹²Regressão 2: entre os tratamentos T6, T7, T9 e T10; Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey 5% (P<0,05). ns: regressão não significativa (p>0,1). $Y^1 = 4,577 \cdot 10^{-9} x^2 - 4,848 \cdot 10^{-5} x + 4,975$; $R^2 = 0,9759$; $P_{min} = 5.296$. $Y^2 = 6,556 \cdot 10^{-10} x^2 - 8,186 \cdot 10^{-6} x + 1,560$; $R^2 = 0,9653$; $P_{min} = 6.243,1$.

Na análise de regressão 1 (entre os tratamentos T2 e T5) não foi observado efeitos significativos dos tratamentos (p>0,01). No entanto, na análise de regressão 2, entre os frangos que receberam as rações com redução da fração indigestível dos aminoácidos com ou sem a inclusão de protease desde a fase inicial de criação, observou-se efeito quadrático (p<0,01) para consumo de ração médio (Figura 4) e conversão alimentar corrigida pela mortalidade (Figura 5), com P_{min} da enzima = 5.296 para o CRM, e P_{min} da enzima = 6.243,1 para a CAc.

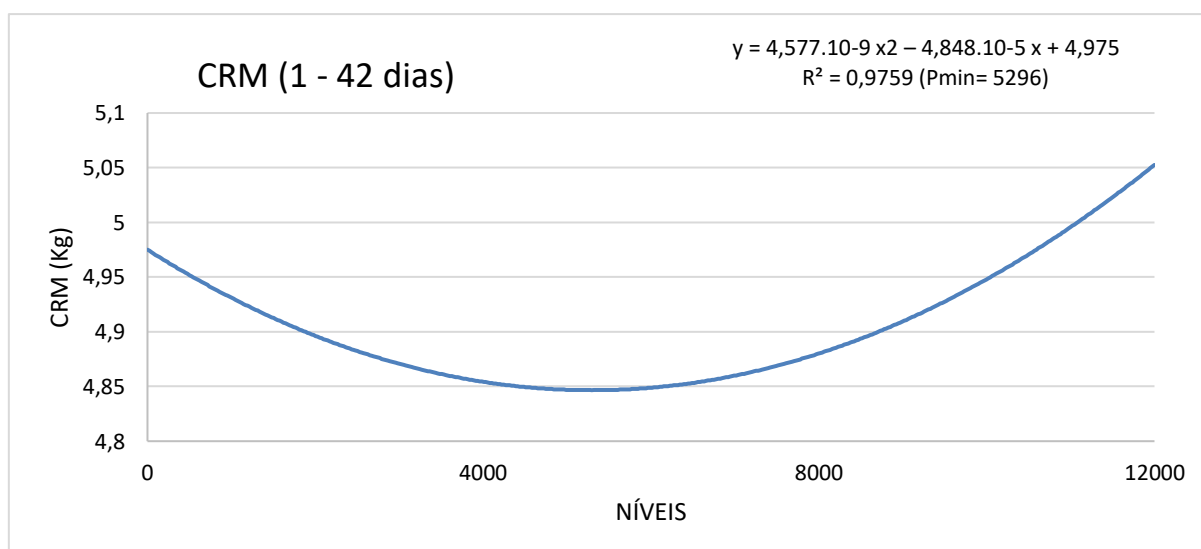


FIGURA 4 – Efeito quadrático para consumo médio de ração de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de protease de 1 a 42 dias

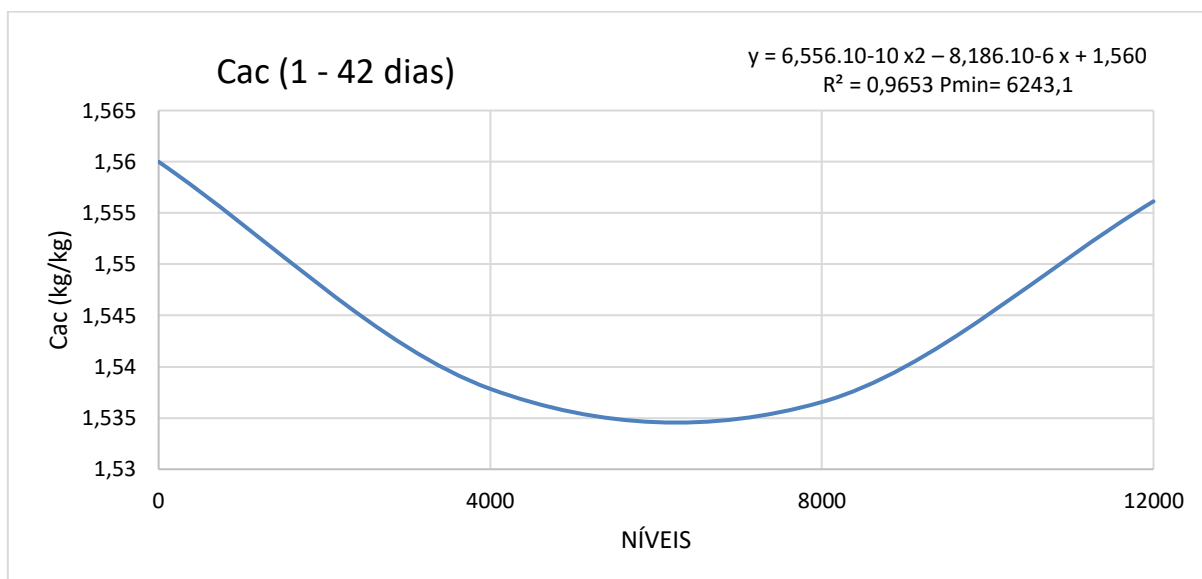


FIGURA 5 – Efeito quadrático para conversão alimentar corrigida de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de protease de 1 a 42 dias

3.2. Rendimento de Carcaça e Cortes

Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos para peso vivo (PV), rendimento de carcaça (RC), rendimento de filé de peito (RP), rendimento de coxa + sobrecoxa (RC+S), rendimento de asas (RA), e gordura abdominal (GA) aos 42 dias de idade (Tabela 7).

Tabela 7 - Peso vivo (PV), rendimento de carcaça (RC), rendimento de filé de peito (RP), rendimento de coxa + sobrecoxa (RC+S), rendimento de asas (RA), rendimento de dorso (RD) e gordura abdominal (GA) de frangos de corte aos 42 dias de idade, alimentados com rações suplementadas com enzima protease

Tratamento	PV (kg)	RC (%)	RP (%)	RC+S (%)	RA (%)	GA (%)
T1 ¹	3,30	71,58	23,71	23,31	8,56	0,91
T2 ²	3,25	71,81	24,06	23,23	8,42	1,06
T3 ³	3,19	72,76	23,89	23,01	8,70	1,04
T4 ⁴	3,28	71,54	23,80	23,01	8,43	0,97
T5 ⁵	3,19	70,87	23,13	22,82	8,52	1,03
T6 ⁶	3,18	72,04	24,58	23,14	8,34	0,99
T7 ⁷	3,22	72,12	24,46	23,27	8,52	1,04
T8 ⁸	3,26	71,97	24,19	22,96	8,31	1,02
T9 ⁹	3,17	71,12	23,47	22,94	8,45	0,97
T10 ¹⁰	3,29	71,31	24,27	23,08	8,21	1,07

p-valor	0,06	0,84	0,58	1,00	0,44	0,97
Cv (%) ¹¹	3,43	3,15	6,47	5,53	5,04	28,04

¹T1: RB; ²T2: 1 a 21 dias - RB, 22 a 42 dias - RR, ³T3: 1 a 21 dias - RB, 22 a 42 dias RR+4.000 UP/kg, ⁴T4: 1 a 21 dias RB, 22 a 42 dias RR+8.000 UP/kg; ⁵T5: 1 a 21 dias RB, 22 a 42 dias RR+12.000 UP/kg; ⁶T6: RR; ⁷T7: RR+4.000 UP/kg; ⁸T8: RR+8.000 UP/kg; ⁹T9: RR+8.000 UP/kg; ¹⁰T10: RR+12.000 UP/kg; ¹¹CV: coeficiente de variação. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey 5% (P<0,05).

4. DISCUSSÃO

Os tratamentos com diferentes níveis de suplementação de protease mostraram que, embora o peso médio inicial e a viabilidade não apresentassem diferenças significativas entre os grupos, o grupo com 4.000 UP/kg teve o menor peso final e ganho de peso médio, indicando um desempenho inferior. Não houve diferenças no consumo de ração e na conversão alimentar, mas o grupo com 4.000 UP/kg teve a melhor conversão alimentar (1,40 g/g). Os resultados sugerem que o nível de 4.000 UP/kg não foi eficaz para melhorar o desempenho, enquanto os outros níveis de protease, como o de 12.000 UP/kg, mostraram melhores resultados no ganho de peso, sem afetar a viabilidade das aves.

Além disso, a idade pode afetar a disponibilidade dos nutrientes, pela ação da protease, sendo que na fase pré-inicial a adição da enzima pode promover um melhor aproveitamento dos nutrientes, uma vez que o trato digestório ainda é imaturo e com produção de enzimas endógenas insuficientes[12].

Resultados semelhantes para desempenho foram observados por Aderibigbe et al.[13] que ao avaliarem o desempenho de frangos alimentados com rações contendo inibidor de tripsina de soja purificado e suplementadas com uma protease monocomponente, demonstraram que a suplementação das rações com protease exógena resultou em aumento no ganho de peso corporal de um a sete dias de idade.

Park et al.[14], também apresentaram resultados semelhantes, a suplementação de protease em rações para frangos aumentou significativamente o peso corporal de um a 18 dias de idade.

Resultados diferentes foram encontrados por Cowieson et al.[15], que avaliaram o desempenho de frangos alimentados com rações a base de milho, farelo de soja e farelo de canola, suplementadas com protease, e não encontraram diferenças de um a sete dias de idade no ganho de peso. Kalmendal e Tauson[16], testaram dietas a base de milho e farelo de soja suplementadas com protease e xilanase para frangos de corte, e também não encontraram diferenças estatísticas de um a sete dias de idade no ganho de peso.

Na fase inicial (1-21 dias de idade), frangos que receberam ração com redução da proteína + 8.000 UP/kg apresentaram um menor consumo de ração em relação aos frangos que receberam a ração basal, o que resultou em menor ganho de peso e peso médio. O menor consumo de ração pode ser atribuído ao aumento na digestão da proteína e a maior disponibilidade de aminoácidos pela inclusão de protease[17].

Carvalho et al.[18], demonstraram resultados diferentes, frangos que receberam protease apresentaram menor consumo de ração e também melhor conversão alimentar em relação aos que não receberam a enzima. A enzima protease propiciou o incremento energético e proteico esperado, fazendo com que os frangos consumissem menos ração.

Existem ainda os fatores secundários, os quais podem afetar o consumo de ração e a quantidade de nutrientes ingeridos, o que pode favorecer ou não a ação da enzima, sendo eles: estado sanitário das aves, balanço eletrolítico, temperatura ambiental, manejo, forma física e processamento térmico das rações[19], o que pode ter interferido nos resultados obtidos na fase inicial de 1-21 dias.

O desempenho dos frangos de corte depende drasticamente da ingestão e absorção de proteínas e AA. Rações com altos níveis de AA podem melhorar a eficiência alimentar, aumentando o ganho de peso e o rendimento de carcaça, por meio de uma síntese otimizada de proteína no músculo[20,21]. Por outro lado, um fornecimento inadequado de AA limitará o crescimento das aves[22,23]. Nesse sentido a utilização de enzima protease, ajuda na quebra e melhor aproveitamento, havendo melhores resultados no ganho de peso.

Jabbar et al.[24], demonstraram que para frangos alimentados com ração com nível de PB padrão, a adição da protease melhorou a conversão alimentar e o peso; e para frangos alimentados com níveis reduzidos de PB, a suplementação da protease não pode compensar os efeitos prejudiciais pela redução da PB da ração no desempenho na fase inicial.

Os frangos que receberam a suplementação da enzima protease na ração na fase de crescimento, não apresentaram melhorias nas variáveis de desempenho avaliadas. A suplementação com diferentes níveis de protease em rações com baixo teor de PB não foi capaz de aumentar a digestibilidade e o incremento do valor nutricional da ração, não restaurando os valores padrão da PB, afetando, portanto, o desempenho dos frangos na fase de crescimento.

Em concordância com esse resultado, Law et al.[25], não observaram efeitos significativos da suplementação de protease em rações de baixa proteína/energia no desempenho de frangos de corte na fase de crescimento. Resultados diferentes foram encontrados por Oliveira[26], que observou efeito benéfico do uso da protease exógena

monocomponente em rações com reduções nutricionais, sobre os parâmetros de desempenho de frangos.

No período total de 1-42 dias de idade, os resultados mostraram que o uso da enzima protease na ração não influenciou o desempenho de frangos quando comparados a ração basal e a ração com redução da fração indigestível dos aminoácidos. Do mesmo modo, Queiroz[27], estudando os efeitos de níveis crescentes de protease sobre o desempenho no período de 1 a 42 dias de idade, não encontrou efeitos significativos no período acumulado.

Porém foi observado efeito quadrático para consumo de ração e conversão alimentar para os frangos que receberam a enzima protease no período total (1-42 dias de idade), com menor consumo de ração e conversão alimentar para os níveis de 5.296, de 6.243,1 UP/kg, respectivamente. Outros estudos também relataram ausência de efeito positivo de protease exógena sobre o ganho de peso de frangos de corte, embora a CA tenha sido melhorada[20-30].

A inclusão ou ausência de protease exógena não exerceram efeitos sobre o rendimento da carcaça ou cortes nem sobre percentual de gordura abdominal. Estes resultados estão de acordo com Dessimoni et al.[21], que ao utilizarem rações com redução do teor de aminoácidos digestíveis, suplementadas com protease, não relataram diferença entre o tratamento com protease e o tratamento controle.

Queiroz et al.[27], também não observaram alterações significativas no rendimento de carcaça e de cortes, em nenhum dos níveis de inclusão da enzima protease. Os resultados encontrados por Rada et al.[30], diferiram dos encontrados nessa pesquisa, sendo que a suplementação da protease afetou positivamente as partes da carne de frangos de corte.

Como a protease pode aumentar a digestibilidade ileal de AA[31], eram esperados resultados positivos para as variáveis de carcaça avaliadas, assim como para as variáveis de desempenho.

Tipicamente, o conteúdo dietético de PB e AA influencia o rendimento e composição da carcaça de frangos de corte. Como visto em trabalhos anteriores, o fornecimento de maiores quantidades de PB e AA aumenta o rendimento de carne magra e reduz a deposição de gordura[32,33].

Dados discrepantes dos efeitos da utilização de protease em rações para frangos sobre as variáveis de desempenho são encontrados na literatura, e podem ocorrer devido a variações encontradas nos estudos, como por exemplo pelo estado de saúde animal, pela composição das rações, condições ambientais, efeitos dos níveis utilizados, matrizes nutricionais atribuídas as enzimas, o uso de proteases distintas, utilização de forma isolada ou

associada com outras enzimas, composição e quantidade de substratos nas formulações e tipo de delineamento experimental adotado.

Esses fatores podem explicar parcialmente as variações encontradas em resultados de pesquisas com proteases, onde uma parte desses trabalhos demonstram efeitos benéficos com o uso de protease (Wang[34], Angel et al.[35] e Dessimoni[36]), e outra parte relata a ineficiência da enzima em promover melhorias nos índices zootécnicos (Oliveira[26], Fisher[37], Freitas et al.[29], Messias[38] e cancelli[12]).

Ressalva-se que a vantagem obtida com relação ao uso da enzima protease é a redução do custo com a utilização de uma ração com níveis de proteína bruta reduzidos, sem comprometer o desempenho final dos frangos de corte.

5. CONCLUSÃO

A suplementação de 12.000 UP/kg de protease na fase pré-inicial melhorou o ganho de peso médio, enquanto 6.243 UP/kg foi o nível ideal para melhorar a conversão alimentar no período total.

REFERÊNCIAS

1. Ndazigaruye G, Kim DH, Kang CW, Kang KR, Joo YJ, Lee SR, et al. Effects of Low-Protein Diets and Exogenous Protease on Growth Performance, Carcass Traits, Intestinal Morphology, Cecal Volatile Fatty Acids and Serum Parameters in Broilers. *Anim Open Access J MDPI*. 2022;9(5).
2. Cowieson A, Lu H, Ajuwon K, Knap I, Adeola O. Interactive effects of dietary protein source and exogenous protease on growth performance, immune competence and jejunal health of broiler chickens. *Anim Prod Sci*. 2017;57(2):252–61.
3. Saleh AA, Dawood MM, Badawi NA, Ebeid TA, Amber KA, Azzam MM. Efeito da serina-protease suplementar de *Bacillus licheniformis* no desempenho do crescimento e alteração fisiológica de frangos de corte. *J Appl Anim Res*. 2020;48(1):86-92.
4. Selle PH, Ravindran V, Caldwell RA, Bryden WL. 2000. Phytate and phytase: consequences for protein utilization. *Nutr. Res. Rev.* 13, 255-278.
5. Wang J.J., Garlich J.D. & Shih J.C.H. 2006. Beneficial effects of versazyme, a keratinase feed additive, on body weight, feed conversion, and breast yield of broilers chickens. *J. Appl. Poult. Res.* 15:544-550.
6. Yu B, Wu S, Liu C, Gauthier R, Chiou P. Effects of enzyme inclusion in a maize- soybean diet on broiler performance. *Animal Feed Science and Technology*. 2007; 134(3-4): 283-294.
7. Law FL, Idrus Z, Soleimani Farjam A, Boo LJ, Awad EA. Efeitos da suplementação de protease de dietas de baixa proteína e/ou energia no desempenho de crescimento e parâmetros sanguíneos em frangos de corte sob estresse térmico. *Ital J Anim Sci*. 2019;18(1):679-689.
8. Cobb. Cobb Broiler Nutrition Guide. Disponível em: <http://www.agri.ankara.edu.tr/animal_science/10068_Cobb_broyler_besleme_kilavuzu.pdf>. Acessado em: 22 de janeiro de 2022.

9. Rostagno HS, Albino LFT, Hannas MI, Donzele JL, Sakomura NK, Perazzo FG, Saraiva A, Abreu MLT, Rodrigues PB, Oliveira RF, Barreto SLT, Brito CO. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4a ed. Viçosa: Departamento de Zootecnia, UFV; 2017. 488p.
10. Sakomura NK, Rostagno HS. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. Jaboticabal: Funep, 2007, 283p.
11. R Core Team. 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
12. Cancelli T. Protease em dietas para frangos de corte. [dissertação]. Universidade Federal do Paraná; 2017. 50 p.
13. Aderibigbe A, Cowieson AJ, Sorbara JO, Pappenberger G, Adeola O. Growth performance and amino acid digestibility responses of broiler chickens fed diets containing purified soybean trypsin inhibitor and supplemented with a monocomponent protease. *Poult Sci.* outubro de 2020;99(10):5007–17.
14. Park J, Lee S, Kim I. The effect of protease on growth performance, nutrient digestibility, and expression of growth-related genes and amino acid transporters in broilers. *J Anim Sci Technol.* 2020;62(5):614–27.
15. Cowieson A, Lu H, Ajuwon K, Knap I, Adeola O. Interactive effects of dietary protein source and exogenous protease on growth performance, immune competence and jejunal health of broiler chickens. *Anim Prod Sci.* 2017;57(2):252–61.
16. Kalmendal R, Tauson R. Effects of a xylanase and protease, individually or in combination, and an ionophore coccidiostat on performance, nutrient utilization, and intestinal Morphology in broiler chickens fed a wheat-soybean meal-based diet. *Poultry Science.* 2012;91:1387–1393.
17. Simbaya J, Slominsk WG, Morgan A, Campbell LD. The effects of protease and carbohydrase supplementation on the nutritive value of canola meal for poultry: *in vitro* and *in vivo* studies. *Animal Feed Science Technology* 61:219–234. 1996.
18. Carvalho DP, Leandro NSM, Andrade MA, de Oliveira H, Pires MF, Teixeira KA, Strinhini JH. Protease inclusion in plant- and animal-based broiler diets: Performance, digestibility and biometry of digestive organs. *SOUTH Afr J Anim Sci.* 2020;50(2):291–301.
19. Dourado LRB, Barbosa NAR, Sakomura NK. Enzimas na nutrição de monogástricos. In: Sakomura NK, Silva JHV, Costa FGP, Fernandes JBK, Hauschild L. *Nutrição de Não-Ruminantes*, Jaboticabal: Funep, 2014. p. 466-484.
20. Zhai W, Peebles ED, Zumwalt CD, Mejia L, Corzo A. Effects of dietary amino acid density regimens on growth performance and meat yield of Cobb × Cobb 700 broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 22:447-460. 2013
21. Johnson CA, Duong T, Latham RE, Shirley RB, Lee JT. Increasing amino acid density improves growth performance and processing yield in Cobb 700 X MV broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 29:465-478. 2020.
22. Everaert N, Swennen Q, Coustard SM, Willemsen H, Careghi C, Buyse J, Bruggeman V, Decuypere E, Tesseraud S. The effect of the protein level in a pre-starter diet on the post-hatch performance and activation of ribosomal protein S6 kinase in muscle of neonatal broilers. *Brit. J. Nutri.* 103:206-211. 2009.
23. Belloir P, Méda B, Lambert W, Corrent E, Juin H, Lessire M, Tesseraud S. Reducing the CP content in broiler feeds: impact on animal performance, meat quality and nitrogen utilization. *Anim Sci.* 2017;11:1881-1889.
24. Jabbar A, Tahir M, Khan R, Ahmad N. Interactive effect of exogenous protease enzyme and dietary crude protein levels on growth and digestibility indices in broiler chickens during the starter phase. *Trop Anim Health Prod.* janeiro de 2021;53(1).

25. Law F, Zulkifli I, Soleimani A, Liang J, Awad E. The effects of low-protein diets and protease supplementation on broiler chickens in a hot and humid tropical environment. *ASIAN-Australas J Anim Sci.* 2019, 31(8):1291–300.
26. Oliveira HB. Uso de uma alfa-amilase exógena em rações de frangos de corte. [tese]. Universidade Federal de Lavras. Lavras. 2012. 42 p.
27. Queiroz LSB, Enzimas exógenas na alimentação de frangos de corte. [tese]. Pirassununga, FMVZ/USP, 2017, 108p.
28. Ghazi S, Rooke JA, Galbraith H, Bedford MR. 2002. The potential for the improvement of the nutritive value of soya-bean meal by different proteases in broiler chicks and broiler cockerels. *British Poultry Science* 43:70-77.
29. Freitas DM, Vieira SL, Angel CR, Favero A, Maiorka A. Performance and nutrient utilization of broilers fed diets supplemented with a novel mono component protease. *J Appl Poult Res.* 2011;20:347-352.
30. Rada V, Lichovnikova M, Foltyn M. O efeito da serina protease no crescimento de frangos de corte e na qualidade da carcaça. *Acta Fitotécnica e Zootécnica.* 2014;17:87-89.
31. Cowieson AJ, Roos FF. Toward optimal value creation through the application of exogenous monocomponent protease in the diets of non-ruminants. *Anim Feed Sci Technol.* 2016;221(B):331-340.
32. Corzo A, Schilling MW, Loar RE, Meija L, Barbosa LCGS, Kidd MT. Responses of Cobb × Cobb 500 broilers to dietary amino acid density regimens. *J Appl Poult Res.* 2010;19:227-236.
33. Nasr J. Effect of different levels of amino acids on carcass composition and yield in broilers. *Anim Prod Sci.* 2011;51:1123-1126.
34. Wang JJ, Garlich JD, Shih JCH. Beneficial effects of versazyme, a keratinase feed additive, on body weight, feed conversion, and breast yield of broiler chickens. *J Appl Poult Res.* 2006;15(4):544-550
35. Angel C, Saylor W, Vieira S, Ward N. Effects of a monocomponent protease on performance and protein utilization in 7- to 22-day-old broiler chickens. *Poult Sci.* 1º de outubro de 2011;90(10):2281–6.
36. Dessimoni GV. Planos nutricionais com suplementação de protease em dietas de frangos de corte. [dissertação]. Diamantina: Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; UFVJM, 48 p. 2011.
37. Fisher G, Maier JC, Rutz F, Bermudez VL. 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.* 2002;31:402-410.
38. Messias RKG. Avaliação nutricional de enzimas exógenas em dietas para frangos de corte [tese]. Universidade Federal de Viçosa. 2014. 76 p.

CAPÍTULO 3 - EFEITO DOS NÍVEIS DE PROTEASE NO CONTEÚDO DE AMINOÁCIDOS DIGESTÍVEIS DO MILHO E DO FARELO DE SOJA EM RAÇÕES INICIAIS PARA FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Dois experimentos foram conduzidos para avaliar o efeito de diferentes níveis de protease na digestibilidade ileal aparente (CDIa) e estandardizada (CDIe) de aminoácidos na ração, e nos ingredientes, milho e farelo de soja (FS), para frangos de corte na fase inicial. No experimento 1 objetivou-se determinar os coeficientes de digestibilidade ileal aparente da ração (CDIa). Os tratamentos consistiram de uma ração basal e uma ração com redução da fração não digestível de AA, suplementada ou não com dois níveis de inclusão da enzima protease: 8.000 UP/kg e 12.000 UP/kg. Um total de 240 pintos de corte machos, de um dia foram alojados aleatoriamente em 24 gaiolas, divididos em quatro tratamentos com seis repetições com dez aves cada. No período de um a 16 dias foi utilizada uma ração basal, e as rações experimentais foram utilizadas de 17 a 22 dias. Aos 22 dias de idade todas as aves de cada repetição foram abatidas para coleta do conteúdo da porção íleo terminal. O CDIa dos aminoácidos totais e da proteína bruta (PB) melhorou significativamente nos tratamentos que receberam a suplementação da enzima protease. O nível de 8.000 UP/kg melhorou significativamente o CDIa de AA da ração com redução da fração indigestível de AA. No experimento 2 objetivou-se determinar os coeficientes de digestibilidade ileal aparente (CDIa) e estandardizada (CDIe) de aminoácidos dos ingredientes, milho e farelo de soja. Os tratamentos consistiram em uma ração isenta de proteína (RIP) contendo os ingredientes, milho ou FS, suplementadas ou não com dois níveis de inclusão da enzima protease: 8.000 UP/kg e 12.000 UP/kg. Um total de 630 pintos de corte, machos de um dia, foram alojados aleatoriamente em 42 gaiolas, divididos em seis tratamentos com seis repetições com quinze aves cada, e um tratamento RIP. O RIP foi utilizado para avaliar as perdas endógenas de AA. No período de um a 16 dias foi utilizada uma ração basal, e as rações experimentais foram utilizadas de 17 a 22 dias. Aos 22 dias de idade todas as aves de cada repetição foram abatidas para coleta do conteúdo ileal. A enzima protease promoveu aumento significativo no CDIa e CDIe do milho, todos os aminoácidos essenciais apresentaram aumento da digestibilidade com a suplementação de 12.000 UP/kg. A enzima protease no nível de 8.000 UP/kg aumentou o CDIa e CDIe dos AA determinados para o farelo de soja, apresentando uma maior digestibilidade para a Met, Trp, Cys e Asp. Conclui-se que a adição da protease melhorou os CDIa da ração e os CDIa e CDIe dos aminoácidos do milho e do farelo de soja em rações iniciais para frangos, sendo o nível de 8000 UP/kg recomendado.

Palavras-chave: aves, digestibilidade, enzimas, nutrição, suplementação.

CHAPTER 3 –DIGESTIBLE AMINO ACIDS CONTENT OF CORN AND SOYBEAN MEAL WITH PROTEASE FOR BROILERS

ABSTRACT

Two experiments were carried out to evaluate the effect of different protease levels on the apparent (CDIa) and standardized (CDIe) ileal digestibility of amino acids in the diet, and in the ingredients, corn and soybean meal (SF), for broilers in the initial phase. In exp 1, the objective was to determine the apparent ileal digestibility of the diet (CDIa). The treatments consisted of a basal diet and a diet with reduced non-digestible AA fraction, supplemented or not with two levels of protease enzyme inclusion: 8,000 PU/kg and 12,000 PU/kg. A total of 240-day-old male cobb-500 broiler chicks were randomly housed in 24 cages, resulting in six replicates with ten birds each, totaling four treatments. In the period from 1 to 16 days, a basal diet was used, and the experimental diets were used from 17 to 22 days. At 22 days of age, all birds of each replicate were slaughtered to collect the contents of the terminal ileum. The CDIa of total amino acids and CP significantly improved in treatments that received protease enzyme supplementation. The level of 8,000 PU/kg significantly improved the AA CDIa of the diet with a reduction in the indigestible fraction of AA. In exp 2, the objective was to determine the coefficients of apparent ileal digestibility (CDIa) and standardized (CDIe) of amino acids of the ingredients, corn and soybean meal. The treatments consisted of a protein-free meal (DIP) containing the ingredients, corn or SF, supplemented or not with two levels of protease enzyme inclusion: 8,000 PU/kg and 12,000 PU/kg. A total of 630-day-old male cobb-500 broiler chicks were randomly housed in 42 cages, resulting in six replicates with fifteen birds each, totaling six treatments and one DIP group. DIP groups were used to assess endogenous AA losses. In the period from 1 to 16 days, a basal diet was used, and the experimental diets were used from 17 to 22 days. At 22 days of age, all birds of each replicate were slaughtered to collect the ileal content. The protease enzyme promoted a significant increase in CDIa and CDIe of corn, all essential amino acids showed an increase in digestibility with the supplementation of 12,000 UP/kg. The protease enzyme at the level of 8000 UP/kg increased the CDIa and CDIe of the AA determined for soybean meal, showing greater digestibility for Met, Trp, Cys and Asp. It was concluded that the protease addition improved the CDIa of the diet and the CDIa and CDIe of corn and soybean meal amino acids in starter diets for broilers, with the recommended level of 8000 UP/kg.

Keywords: poultry, digestibility, enzymes, nutrition, supplementation.

1. INTRODUÇÃO

A nutrição representa a maior parte dos custos de produção, com os alimentos proteicos sendo a fração mais cara nas rações. A elevação nos preços desses alimentos e a poluição por nitrogênio motiva a formulação de rações que atendem às exigências nutricionais, mesmo com alimentos alternativos, considerando valor nutritivo, custo e oferta desses produtos[4].

A redução da proteína bruta (PB) e a inclusão de aminoácidos industriais visam diminuir os custos e mitigar os impactos ambientais, como a poluição e as emissões de amônia [5]. Além disso, proteases são utilizadas para reduzir o conteúdo de PB, gerando a necessidade de farelo de soja e aumentando o milho, que, embora seja uma fonte energética, contribui com 25-33% da proteína bruta total nas rações [10]. A proteína do milho possui baixa digestibilidade, com 80% dela compostos

Segundo [12] demonstraram que a digestibilidade de rações à base de milho e farelo de soja pode ser melhorada em até 3% com o uso de enzimas como xilanase, amilase e protease. O desenvolvimento das aves depende da quantidade de aminoácidos essenciais presentes na ração, fundamentais para diversas funções, como a formação de tecidos e processos metabólicos [13].

Como os aminoácidos não estão totalmente disponíveis para absorção, é crucial quantificar a composição nutricional, especialmente para aminoácidos. Tabelas de composição nutricional são usadas para formular rações baseadas nas necessidades dos animais e no valor nutritivo dos alimentos [14-16]. Conhecer a digestibilidade dos aminoácidos, especialmente do milho e do farelo de soja com protease, é essencial para a formulação precisa das rações.

A digestibilidade dos aminoácidos é determinada pela diferença entre os aminoácidos ingeridos e os excretados, utilizando métodos como a coleta total ou ileal. Cada método tem limitações que afetam os resultados [17-20]. A coleta ileal é mais precisa, pois minimiza as influências da microbiota cecal e das perdas endógenas [19,21]. A digestibilidade aparente é a diferença entre os aminoácidos ingeridos e os eliminados nas fezes ou na digesta ileal, enquanto a digestibilidade estandardizada corrige os valores para perdas endógenas [22-24]. Determinar os coeficientes de digestibilidade é essencial para melhorar a utilização dos ingredientes na ração.

O uso de enzimas exógenas, como a protease, tem benefícios significativos no desempenho das aves, aumentando a digestibilidade dos nutrientes das rações [22-24]. No entanto, poucos estudos investigam o efeito da protease sobre os ingredientes individualmente.

O objetivo deste estudo foi avaliar o nível ideal de suplementação de protease para os coeficientes de digestibilidade ileal aparente e estandardizado de aminoácidos em rações à base de milho e farelo de soja, para frangos na fase inicial de criação.

Diante dessas considerações, objetivou-se avaliar o melhor nível de suplementação da enzima protease sobre os coeficientes de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos da ração a base de milho e farelo de soja, e os coeficientes de digestibilidade ileal aparente e coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada de aminoácidos determinados para os ingredientes, milho e farelo de soja, para frangos, na fase inicial de criação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos, nos quais todos os procedimentos realizados foram anteriormente aprovados pela Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Goiás (UFG), conforme protocolo registro CEUA/UFG 012/19.

2.1. Experimento 1

O experimento 1 foi realizado para avaliar a adição da enzima protease em rações com o nível de fração não digestível de aminoácidos reduzidos, para frangos de corte na fase inicial e seus efeitos sobre a digestibilidade aparente dos aminoácidos da ração.

2.1.1. Instalações, aves e manejo

O experimento 1 foi conduzido no aviário experimental do Setor de Avicultura da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Câmpus Samambaia, em Goiânica-Goiás, no período de 10 de março a 02 de abril de 2021.

Foram alojados 240 pintos de corte machos, com um dia de idade, da linhagem Cobb 500®, provenientes do incubatório comercial da empresa avícola Abatedouro São Salvador Alimentos S/A (Super Frango) de Itaberaí-Goiás.

Os pintos foram criados em baterias metálicas, divididas em gaiolas medindo 0,80m C x 0,75m L x 0,20m H, instaladas em galpão de alvenaria (12,96m x 2,96m), com cortinas e forro. O aquecimento das baterias foi realizado por campanulas a gás, e cada gaiola continha um bebedouro tipo linear e um comedouro tipo linear.

Durante todo o período experimental, as aves receberam ração e água *ad libitum*, e foram criadas, seguindo as recomendações de iluminação, temperatura, umidade e manejo de

acordo com o Guia de Manejo da Cobb [30]. O manejo da temperatura ambiente foi realizado com manejo de cortinas.

2.1.2. Delineamento e tratamentos experimentais

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos, seis repetições, totalizando 24 unidades experimentais compostas por 10 aves cada, totalizando 240 aves.

Os tratamentos utilizados estão apresentados na Tabela 1. Foram utilizadas quatro rações no período de 17-22 dias de idade: ração basal, ração reduzida, ração reduzida + 8.000 unidades de prótese (UP/kg), e ração reduzida + 12.000 unidades de prótese (UP/kg).

Tabela 1 - Tratamentos experimentais compostos de rações suplementadas com a enzima protease de 17 a 22 dias de idade (experimento 1)

Tratamentos
Ração basal
Ração reduzida
Ração reduzida + 8000 UP/kg
Ração reduzida + 12000 UP/kg

As aves receberam um programa alimentar dividido em dois períodos: no período de um a 16 dias foi utilizado uma ração basal para todas as aves (Tabela 2); e as rações experimentais foram utilizadas no período experimental de 17-22 dias de idade. A ração basal (RB) foi formulada a base de milho e farelo de soja de acordo com as recomendações de [31], o milho e o farelo de soja foram previamente analisados e suas composições nutricionais utilizadas para os cálculos das rações.

Tabela 2 - Ingredientes e composição nutricional da ração basal para o período 1 a 16 dias de idade (experimento 1)

Ingredientes (%)	RB¹	Composição nutricional	RB¹
Milho	55,82	EM (kcal/kg)	3.030
Farelo de soja (45%)	37,80	Proteína bruta (%)	20,92
Óleo de soja	2,87	Cálcio (%)	0,86
Fósforo bicálcico	0,73	Fósforo disponível (%)	0,41
Calcário	1,04	Potássio (%)	0,85
Sal	0,49	Sódio (%)	0,21
DL-Metionina	0,44	Cloro (%)	0,34
L-Lisina HCL	0,44	Ácido linoléico (%)	2,95
L-Treonina	0,13	Met digestível (%)	0,69

L-Valina	0,13	Met+cist digestível (%)	0,89
L-Triptofano	0,02	Treonina digestível (%)	0,81
Premix vitamínico ² /mineral ³	0,40	Lisina digestível (%)	1,34
Amido	0,03	Triptofano digestível (%)	0,21
Total	100,00	Valina digestível (%)	0,95

¹ RB: Ração basal; ²Premix vitamínico (inicial): vitamina A 20.000 UI, vitamina B12 45.000 mcg, vitamina B1 6.000 mg, vitamina B2 17.500 mg, vitamina B6 10.000 mg, vitamina D3 8.000 UI, vitamina E 45 UI, vitamina K 7.500mg, niacina 125.000 mg, ac. Pantoténico 37.500 mg, biotina 300.000 mcg, ac fólico 3.000 mcg e selênio 1250 mg; ³Premix mineral: cobre 24,00 g/kg; ferro 100,00 g/kg; iodo 3.000,00 g/kg; manganês 160,00 g/kg; zinco 160,00 g/kg.

Para o cálculo das rações com redução da PB, foi calculada a fração não digerida, pela diferença do AA total e o AA digestível da ração basal, em seguida, atribuído 70% de melhoria da matriz dessa fração não digestível. As rações experimentais estão apresentadas na Tabela 3.

Para o preparo das rações reduzidas (RR), os níveis dietéticos dos aminoácidos, foram reduzidos por meio de menor inclusão de farelo de soja, o que permitiu a maior inclusão do milho na ração. A redução proposta correspondeu aos níveis de PB e AA disponibilizados pela matriz nutricional da protease. A protease utilizada neste estudo foi a Aextra[®] PRO 301 TPT (Danisco Animal Nutrition, Reino Unido) produzida por fermentação seca de *Bacillus subtilis*, sulfato de sódio, álcool polivinílico (PVA), silicato de magnésio hidratado e amido, com atividade mínima garantida de subtilisina (protease) (EC3.4.21.62) 80.000 U g⁻¹.

Os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e a composição total de AA das rações analisadas estão descritos na Tabela 4.

Tabela 3 - Ingredientes e composição nutricional das rações basal e reduzida para o período de 17 a 22 dias de idade (experimento 1)

Ingredientes (%)	RB¹	RR²	RR + 8³	RR + 12⁴
Milho	62,54	66,71	66,68	66,68
Farelo de soja 45%	30,59	27,04	27,04	27,04
Óleo de soja	1,53	0,88	0,88	0,88
Fósforo Bicálcico	1,49	1,52	1,52	1,52
Calcário Calcítico	1,00	1,01	1,01	1,01
Sal	0,38	0,33	0,33	0,33
DL-Metionina	0,42	0,40	0,40	0,40
L-Lisina HCL	0,32	0,34	0,34	0,34
L-Treonina	0,05	0,04	0,04	0,04
L-Valina	0,12	0,11	0,11	0,11
L-Triptofano	-	0,01	0,01	0,01
Celite ^{®5}	1,00	1,00	1,00	1,00
Bicarbonato de sódio	0,15	0,22	0,22	0,22
Premix vit ⁶ /mineral ⁷	0,40	0,40	0,40	0,40
Amido	0,03	0,03	0,03	0,03
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição Nutricional				
EM (kcal/kg)	2980	2980	2980	2980
Proteína bruta (%)	19,49	18,12	19,44	19,44
Cálcio (%)	0,86	0,86	0,86	0,86
Fósforo disp (%)	0,38	0,38	0,38	0,38
Potássio (%)	0,74	0,69	0,69	0,69
Sódio (%)	0,21	0,21	0,21	0,21
Cloro (%)	0,28	0,25	0,25	0,25
Ácido Linoléico	2,30	1,99	1,99	1,99
Metionina d (%)	0,61	0,58	0,60	0,60
Metionina T (%)	0,63	0,60	0,60	0,60
Met+cist d (%)	0,82	0,78	0,82	0,82
Met+cist T (%)	0,88	0,83	0,83	0,83
Treonina d (%)	0,74	0,67	0,74	0,74
Treonina T (%)	0,84	0,77	0,77	0,77
Lisina d (%)	1,14	1,08	1,14	1,14
Lisina T (%)	1,23	1,16	1,16	1,16
Triptofano d (%)	0,20	0,19	0,20	0,20
Triptofano T (%)	0,22	0,20	0,20	0,20
Arginina d (%)	1,24	1,14	1,19	1,19
Arginina T (%)	1,32	1,21	1,21	1,21
Valina d (%)	0,88	0,81	0,88	0,88
Valina T (%)	0,97	0,90	0,90	0,90
Fenilalanina d (%)	0,82	0,76	0,81	0,81
Fenilalanina T (%)	0,89	0,82	0,82	0,82
Histidina d (%)	0,49	0,45	0,48	0,48
Histidina T (%)	0,52	0,49	0,49	0,49
Leucina d (%)	0,49	1,37	1,45	1,45
Leucina T (%)	1,56	1,48	1,48	1,48

¹DB= dieta basal, ²DR = dieta com redução da fração indigestível, ³DR+8 = dieta reduzida + 8000 UP/kg, ⁴DR+12 dieta reduzida + 12000 UP/kg. ⁵Celite[®] (cinza insolúvel em ácido). ⁶Premix vitamínico (inicial): vitamina A 20.000 UI, vitamina B12 45.000 mcg, vitamina B1 6.000 mg, vitamina B2 17.500 mg, vitamina B6 10.000 mg, vitamina D3 8.000 UI, vitamina E 45 UI, vitamina K 7.500mg, niacina 125.000 mg, ac. Pantoténico 37.500 mg, biotina 300.000 mcg, ac fólico 3.000 mcg e selênio 1250 mg. ⁷premix mineral: cobre 24,00 g/kg; ferro 100,00 g/kg; iodo 3.000,00 g/kg; manganês 160,00 g/kg; zinco 160,00 g/kg.

Tabela 4 - Matéria seca, teor de proteína bruta e composição de aminoácidos totais das rações, expressos em percentagem na matéria natural¹

Parâmetros (%)	RB²	RR³	RR+8⁴	RR+12⁵
Matéria seca %	78,81	81,82	87,12	87,78
Proteína bruta %	20,60	19,45	19,54	19,52
Aminoácidos essenciais (%)				
Lisina	1,19	1,24	1,15	1,08
Metionina	0,64	0,62	0,60	0,60
Treonina	0,96	0,82	0,84	0,85
Arginina	1,26	1,24	1,26	1,16
Histidina	0,50	0,49	0,47	0,47
Valina	1,02	0,93	0,99	0,91
Isoleucina	0,78	0,74	0,79	0,72
Leucina	1,72	1,72	1,76	1,68
Fenilalanina	0,99	0,98	1,0	0,93
Triptofano	0,18	0,16	0,19	0,16
Aminoácidos não essenciais (%)				
Cistina	0,23	0,23	0,24	0,20
Taurina	0,01	0,01	0,01	0,01
Alanina	1,01	0,98	1,01	0,98
Glicina	0,78	0,78	0,76	0,73
Ácido aspártico	2,03	2,03	1,98	1,87
Ácido glutâmico	3,34	3,33	3,33	3,28
Prolina	1,21	1,21	1,23	1,18
Serina	1,00	1,01	0,99	0,95
Hidroxiprolina	0,01	0,01	0,01	0,01
Tirosina	0,64	0,63	0,64	0,60
AAs totais	19,48	19,14	19,23	18,35

¹Aminograma realizado por cromatografia líquida (HPCL), no laboratório de análises CBO (São Paulo, Brasil);

²RB: ração basal; ³RR: ração com redução da fração indigestível; ⁴RR+8 = ração reduzida + 8.000 UP/kg; ⁵RR+12 ração reduzida + 12.000 UP/kg.

2.1.3. Variáveis avaliadas

Foi realizado digestibiliade dos nutrientes das rações pelo método de coleta ileal de excretas aos 22 dias de idade[23]. Para tanto, foi utilizado 1,0% de Celite®, como indicador indigestível para a determinação do fator de indigestibilidade [23]. A ração com o indicador foi fornecida as aves a partir do 17º dia de idade até a coleta da digesta aos 22 dias.

Aos 22 dias de idade, todas as aves de cada repetição foram abatidas por deslocamento cervical. Cinco horas antes do abate, as aves foram estimuladas a consumir ração para evitar que no segmento do íleo estivesse pouco conteúdo intestinal. Imediatamente após o abate, as aves foram dissecionadas, sendo a 5cm da junção íleo-ceco-cólica até 40cm em

direção ao jejuno para colheita de excretas para determinação dos aminoácidos endógenos e metabólicos, conforme metodologia descrita por [31].

O conteúdo ileal foi coletado por lavagem suave, feita com seringa e água desmineralizada. As excretas foram acondicionadas em tubos falcon de 50mL, identificados e armazenados no ultrafreezer com temperatura de -16°C. Amostras das rações e excretas foram secas por liofilização a vácuo, à temperatura de -40°C, por 72 horas no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ/UFG).

Para determinação dos teores de aminoácidos totais foi utilizada a cromatografia líquida de alta precisão *HPLC (High Performance/Pressure Liquide Chromatography)* realizada CBO Análises Laboratoriais (Valinhos, São Paulo, Brasil).

Com base nos resultados obtidos dos teores de aminoácidos totais dos alimentos, e das excretas, foi determinado os teores de aminoácidos digestíveis aparente, seguindo a metodologia descrita por [31].

O CD_{Ia} dos AAs foi calculado de acordo com as equações propostas de Sakomura e Rostagno [31], como segue:

$$\text{CDIa (\%)} = [(\text{AA dieta [MS, \%]} / \text{AIA dieta [\%]}) - (\text{AA ileal digesta [\%]} / \text{AIA ileal digesta [\%]})] \times 100 / \text{AA dieta (MS, \%)} / \text{AIA dieta (\%)}$$

Em que: CD_{Ia}, coeficiente de digestibilidade aparente do AA; AIA, cinza insolúvel em ácido; MS, matéria seca.

2.1.4. Análise estatística

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$), usando-se o programa estatístico R[32] version 3.2.3.

2.2. Experimento 2

O experimento 2 foi realizado com intuito de avaliar a digestibilidade do ingrediente em dietas isentas de proteínas com a adição da enzima para frangos de corte na fase inicial e seus efeitos sobre o coeficiente de digestibilidade aparente e verdadeiro.

2.2.1. Instalações, aves e manejo

O experimento 2 também foi conduzido no aviário experimental do Setor de Avicultura da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Câmpus Samambaia, em Goiânia-Goiás, no período de 20 de abril a 11 de maio de 2021.

Foram alojados 630 pintos de corte machos, com um dia de idade, da linhagem Cobb 500®, provenientes do incubatório comercial da empresa avícola Abatedouro São Salvador Alimentos S/A (Super Frango) de Itaberaí-Goiás.

Os pintos foram criados em baterias metálicas, divididas em gaiolas medindo 0,80m C x 0,75m L x 0,20m H, instaladas em galpão de alvenaria (12,96m x 2,96 m) com cortinas e forro. O aquecimento das baterias foi realizado por campanulas a gás e cada gaiola continha um bebedouro tipo linear e um comedouro linear.

Durante todo o período experimental, as aves receberam ração e água *ad libitum*, e foram criadas, seguindo as recomendações de iluminação, temperatura, umidade e manejo de acordo com o Guia de Manejo da Cobb[8]. O manejo da temperatura ambiente foi realizado com manejo de cortinas.

2.2.2. Delineamento e tratamentos experimentais

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) com seis tratamentos + 1 (RIP), tendo seis repetições, totalizando 42 unidades experimentais compostas por 15 aves cada.

Os tratamentos utilizados estão apresentados na Tabela 5. Foram utilizadas 6 rações no período de 17-22 dias de idade, sendo: ração isenta de proteína (RIP) + adição dos ingredientes testados (milho ou farelo de soja), com inclusão ou não de dois níveis diferentes de protease, 8.000 unidades de protease (UP/kg) ou 12.000 unidades de protease (UP/kg).

Uma parcela dos frangos foi alimentada com uma ração isenta de proteína (RIP), para avaliar os valores da perda endógena de aminoácidos e calcular os coeficientes de digestibilidade ileal standardizadas. A ração isenta de proteína foi composta por amido, açúcar e óleo de soja que são fontes de energia; celulose que compõe a porção fibrosa da dieta na intenção de dar volume e textura à digesta, além da capacidade de absorver água, auxiliando na viscosidade e na taxa de passagem da digesta; e os suplementos vitamínicos e minerais.

A protease utilizada neste estudo foi a Aextra® PRO 301 TPT (Danisco Animal Nutrition, Reino Unido) produzida por fermentação seca de *Bacillus subtilis*, sulfato de sódio, álcool polivinílico (PVA), silicato de magnésio hidratado e amido, com atividade mínima garantida de subtilisina (protease) (EC3.4.21.62) 80000 U g⁻¹.

As rações experimentais foram utilizadas de 17 a 22 dias de idade. O milho e o farelo de soja utilizados, foram previamente analisados e suas composições nutricionais

utilizadas para os calculos das rações. Todas as rações experimentais estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 5 - Tratamentos experimentais compostos de rações suplementadas com a enzima protease (experimento 2)

Tratamentos
RIP ¹ + Milho
RIP + Milho + 8000 UP/kg ²
RIP + Milho + 12000 UP/kg
RIP + Farelo de Soja
RIP + Farelo de Soja + 8000 UP/kg
RIP + Farelo de Soja + 12000 UP/kg

¹RIP: ração isenta de proteína; ²UP/kg: unidades de protease/Kg

As aves receberam um programa alimentar dividido em dois períodos: no período de um a 16 dias foi utilizado uma ração basal para todas as aves, e foram formuladas a base de milho e farelo de soja de acordo com as recomendações de [31] (Tabela 6); as rações experimentais foram utilizadas de 17 a 22 dias de idade. O milho e o farelo de soja utilizados, foram previamente analisados e suas composições nutricionais utilizadas para os calculos das rações que estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 6 – Ingredientes e composição nutricional da ração basal para o período de 1 a 16 dias de idade (experimento 2)

Ingredientes (%)	RB¹	Composicao nutricional	RB¹
Milho	55,82	EM (kcal/kg)	3.030
Farelo de soja (45%)	37,80	Proteína bruta (%)	20,92
Óleo de soja	2,87	Cálcio (%)	0,86
Fósforo bicálcico	0,73	Fósforo disponível (%)	0,41
Calcário calcítico	1,04	Potássio (%)	0,85
Sal	0,49	Sódio (%)	0,21
DL-Metionina	0,44	Cloro (%)	0,34
L-Lisina HCL	0,44	Ácido linoléico (%)	2,95
L-Treonina	0,13	Met digestível (%)	0,69
L-Valina	0,13	Met+cist digestível (%)	0,89
L-Triptofano	0,02	Treonina digestível (%)	0,81
Premix	0,40	Lisina digestível (%)	1,34
vitamínico ² /mineral ³			
Amido ³	0,03	Triptofano digestível (%)	0,21
Total	100,00	Valina digestível (%)	0,95

¹RB= Ração basal; ²Premix vitamínico (inicial): vitamina A 20.000 UI, vitamina B12 45.000 mcg, vitamina B1 6.000 mg, vitamina B2 17.500 mg, vitamina B6 10.000 mg, vitamina D3 8.000 UI, vitamina E 45 UI, vitamina K

7.500mg, niacina 125.000 mg, ac. Pantoténico 37.500 mg, biotina 300.000 mcg, ac fólico 3.000 mcg e selênio 1250 mg.³premix mineral: cobre 24,00 g/kg; ferro 100,00 g/kg; iodo 3.000,00 g/kg; manganês 160,00 g/kg; zinco 160,00 g/kg.

Tabela 7 - Ingredientes e composição nutricional das rações experimentais para o período de 17 a 22 dias de idade (experimento 2)

Ingredientes (%)	RIP ¹	RIP + Milho		RIP + F. Soja			
	-	-	8.000 UP/kg ²	12.000 UP/kg ³	-	8.000 UP/kg	12.000 UP/kg
Amido	79,49	-	-	-	45,12	45,12	45,12
Milho	-	89,14	89,14	89,14	-	-	-
Farelo de soja (45%)	-	-	-	-	41,85	41,85	41,85
Açúcar	6,00	-	-	-	-	-	-
Inerte (celulose)	5,00	5,00	4,97	4,97	5,00	4,97	4,97
Óleo de soja	4,00	1,00	1,00	1,00	3,56	3,56	3,56
Fosf. bicálcico	2,17	1,88	1,88	1,88	1,65	1,65	1,65
Celite ^{®4}	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Calcário	0,79	0,90	0,90	0,90	0,82	0,82	0,82
Carbonato de potássio	0,53	0,07	0,07	0,07	-	-	-
Premix vitamínico ⁵ /mineral ⁶	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Sal	0,32	0,23	0,23	0,23	0,28	0,28	0,28
Bicarbonato de sódio	0,31	0,38	0,38	0,38	0,33	0,33	0,33
Produto ⁷	-	-	0,03	0,03	-	0,03	0,03
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição nutricional							
	RIP	RIP + Milho		RIP + F.S			
EM (kcal/kg)	3.461	3.090		2.900			
Proteína bruta (%)	0,44	6,35		20,00			
Cálcio (%)	0,84	0,84		0,84			
Fósforo disponível (%)	0,40	0,40		0,40			
Potássio (%)	0,30	0,30		0,77			
Sódio (%)	0,21	0,21		0,21			
Cloro (%)	0,19	0,19		0,19			
Ácido linoléico (%)	2,16	2,24		2,29			
Lisina digestível (%)	-	0,17		1,09			
Met+cist digestível (%)	-	0,14		0,48			
Treonina digestível (%)	-	0,17		0,67			

Triptofano digestível (%)	-	0,02	0,24
Valina digestível (%)	-	0,23	0,83

¹RIP: ração isenta de proteína; ²RIP+8000 unidades de protease/Kg; ³RIP+12000 unidades de protease/Kg; ⁴Celite[®]: cinza insolúvel em ácido; ⁵Premix vitamínico (inicial): vitamina A 20.000 UI, vitamina B12 45.000 mcg, vitamina B1 6.000 mg, vitamina B2 17.500 mg, vitamina B6 10.000 mg, vitamina D3 8.000 UI, vitamina E 45 UI, vitamina K 7.500mg, niacina 125.000 mg, ac. Pantoténico 37.500 mg, biotina 300.000 mcg, ac fólico 3.000 mcg e selênio 1250 mg. ⁶premix mineral: cobre 24,00 g/kg; ferro 100,00 g/kg; iodo 3.000,00 g/kg; manganês 160,00 g/kg; zinco 160,00 g/kg; ⁷Produto: enzima protease Axtra pro, misturada com amido.

Os teores de proteína bruta (PB), e a composição total de AA dos alimentos analisados estão descritos na Tabela 8. Os valores dos aminoácidos do milho, assim como a PB são inferiores aos encontrados na literatura. Já o farelo de soja, apresentou valores de aminoácidos e proteína bruta semelhantes aos encontrados na literatura.

Tabela 8 - Teor de proteína bruta e composição de aminoácidos totais do milho e do farelo de soja, expressos em percentagem na matéria natural¹

Parâmetros (%)	Milho	Farelo de soja
Proteína bruta %	6,13	48,37
Aminoácidos essenciais (%)		
Lisina	0,07	2,84
Metionina	0,05	0,57
Treonina	0,09	1,93
Arginina	0,12	3,35
Histidina	0,08	1,24
Valina	0,12	2,18
Isoleucina	0,08	2,13
Leucina	0,36	3,78
Fenilalanina	0,12	2,40
Triptofano	0,01	0,48
Aminoácido não essencial (%)		
Cistina	0,008	0,57
Taurina	0,008	0,02
Alanina	0,19	2,11
Glicina	0,09	2,00
Ácido aspártico	0,19	5,51
Ácido glutâmico	0,53	8,83
Prolina	0,24	2,38
Serina	0,10	2,51
Hidroxiprolina	0,008	0,02
Tirosina	0,08	1,49

AAs totais	2,59	46,38
-------------------	------	-------

¹Aminograma realizado por cromatografia líquida (HPCL), no laboratório de análises CBO (São Paulo, Brasil).

2.2.3. Variáveis avaliadas

O ensaio de digestibilidade realizado pelo método de coleta ileal de excretas aos 22 dias de idade [23]. Para tanto, foi utilizado 1,0% de Celite®, como indicador indigestível para a determinação do fator de indigestibilidade [23]. A ração com o indicador foi fornecida as aves a partir do 17º dia até o momento do abate para coleta da digesta aos 22 dias.

Aos 22 dias de idade, todas as aves de cada repetição foram abatidas por deslocamento cervical. Cinco horas antes do abate, as aves foram estimuladas a consumir ração para evitar que no segmento do íleo estivesse pouco conteúdo intestinal. Imediatamente após o abate, as aves foram dissecionadas, sendo a 5cm da junção íleo-ceco-cólica até 40cm em direção ao jejuno para colheita de excretas para determinação dos aminoácidos endógenos e metabólicos, conforme metodologia descrita por [23].

O conteúdo ileal foi coletado por lavagem suave, feita com seringa e água desmineralizada. As excretas foram acondicionadas em tubos falcon de 50mL, identificados e armazenados no ultrafreezer com temperatura de -16°C. Amostras das rações e excretas foram secas por liofilização a vácuo, à temperatura de -40°C, por 72 horas no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ/UFG).

Para determinação dos teores de aminoácidos totais foi utilizada a cromatografia líquida de alta precisão HPLC (*High Performance/Pressure Liquide Chromatography*) realizada no CBO Análises Laboratoriais (Valinhos, São Paulo, Brasil).

Com base nos resultados obtidos dos teores de aminoácidos totais das rações, das excretas e endógenos, determinou-se os teores de aminoácidos digestíveis estandardizados seguindo a metodologia descrita por [23].

O CD_{Ia} e CD_{Ie} dos AAs foi calculado de acordo com as equações propostas de [23], como segue:

$$\text{CDIa (\%)} = [(\text{AA dieta [MS, \%]} / \text{AIA dieta [\%]}) - (\text{AA ileal digesta [\%]} / \text{AIA ileal digesta [\%]})] \times 100 / \text{AA dieta (MS, \%)} / \text{AIA dieta (\%)}$$

$$\text{EAA (g/kg MS)} = \text{AA digesta (g/kg MS)} \times [\text{AIA dieta (g/kg MS)} / \text{AIA digesta (g/kg MS)}]$$

$$\text{CDIe (\%)} = \text{CDIa (\%)} + [\text{EAA (g/kg DM)} / \text{dieta AA (g/kg MS)}] \times 100$$

Em que: CD_{Ia}, coeficiente de digestibilidade aparente do AA; AIA, cinza insolúvel em ácido; MS, matéria seca; EAA, perda endógena basal de AA; CD_{Ie}, coeficiente de digestibilidade ileal estandardizada de AA.

2.2.4. Análise estatística

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$), usando-se o programa estatístico R [32] version 3.2.3. Os tratamentos com milho foram analisados separadamente dos tratamentos com farelo de soja, por análise de variância, para testar os efeitos da enzima protease para cada alimento.

3. RESULTADOS

3.1. Experimento 1

Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos (CD_{Ia}), nas rações RB, RR, RR+8.000 UP/kg e RR+12.000 UP/kg, determinados para frangos de corte aos 22 dias de idade, estão descritos na Tabela 9.

Tabela 9 - Coeficientes de digestibilidade ileal aparente de aminoácidos (%) das rações, para frangos de corte aos 22 dias de idade

Parâmetros (%)	Tratamentos				p-valor	EPM ⁵	CV ⁶
	RB ¹	RR ²	RR+8 ³	RR+12 ⁴			
Proteína	78,60b	77,77b	83,98a	80,41ab	0,008	1,202	3,67
Aminoácidos essenciais							
Lisina	86,54b	87,69ab	90,78a	87,90ab	0,010	0,807	2,24
Metionina	96,18	96,63	97,24	96,82	0,094	0,281	0,71
Treonina	79,96ab	77,07b	84,39a	80,86ab	0,009	1,341	4,08
Arginina	87,50b	87,82b	91,90a	89,34ab	0,002	0,745	2,05
Histidina	83,69	84,15	86,69	85,11	0,304	1,167	3,37
Valina	81,97b	80,80b	87,88a	84,33ab	0,000	1,015	2,97
Isoleucina	80,08b	79,67b	87,29a	83,87ab	0,001	1,174	3,48
Leucina	82,74b	83,88b	88,68a	86,08ab	0,002	0,978	2,81
Fenilalanina	83,85b	84,59b	89,14a	85,96ab	0,006	0,997	2,84
Triptofano	72,76b	71,14b	81,74a	73,99b	0,001	1,677	5,48
Aminoácidos não essenciais							
Cistina	73,78b	75,19b	81,50a	75,64b	0,008	1,485	4,75
Alanina	82,15b	82,47b	88,12a	84,83ab	0,002	1,010	2,93
Glicina	58,43b	57,74b	67,56a	60,48b	0,000	2,913	1,69
Ácido aspártico	79,99b	81,97b	87,99a	86,88a	<0,001	1,098	3,19

Ácido glutâmico	57,77b	56,70b	69,39a	62,67ab	0,031	2,657	5,84
Prolina	80,94b	81,80b	86,63a	83,57ab	0,003	0,985	2,90
Serina	74,06b	75,69ab	81,04a	75,92ab	0,044	1,683	5,38
Tirosina	82,08b	83,08b	87,79a	84,52ab	0,006	1,045	3,03
AAs totais	82,30b	83,08b	88,11a	85,33ab	0,002	0,962	2,78

¹RB: ração basal; ²RR: ração com redução da fração indigestível; ³RR+8: ração reduzida + 8.000 UP/kg; ⁴RR+12 ração reduzida + 12.000 UP/kg; ⁵erro padrão da média; ⁶Coefficiente de variação.

Letras diferentes na linha representam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Foram verificadas diferenças no CDIA de todos os AA, exceto para metionina e histidina, de acordo com as rações. A ração com o nível de 8.000 UP/kg apresentou o maior CDIA de AA para lisina (Lys), treonina (Thr), arginina (Arg), histidina (His), valina (Val), isoleucina (Ile), leucina (Leu), fenilalanina (Phe), triptofano (Trp), cisteína (Cys), alanina (Ala), glicina (Gly), glutamato (Glu), prolina (Pro), serina (Ser) e tirosina (Tyr), quando comparados com a ração basal (RB), e a ração com redução da fração indigestível dos AA (RR). No entanto, a ração com 12.000 UP/kg apresentou o menor CDIA para o triptofano e a glicina, e foi semelhante a RB e RR. O CDIA do Asp foi melhor e semelhante entre os níveis de 8.000 UP/kg e 12.000 UP/kg ($p < 0,05$). A ração suplementada com 8.000 UP/kg de protease também melhorou o CDIA da PB e dos AAs totais.

3.2. Experimento 2

O coeficiente de digestibilidade ileal aparente (CDIA) dos aminoácidos, determinados para o milho com diferentes níveis de suplementação da enzima protease para frangos de corte aos 22 dias de idade, estão descritos na Tabela 10.

Tabela 10 - Coeficientes de digestibilidade ileal aparente de aminoácidos (%) do milho, para frangos de corte aos 22 dias de idade suplementados com protease

Parâmetros (%)	Tratamentos			p-valor	EPM ⁴	CV ⁵
	RIP+Milho ¹	RIP+Milho+8 ²	RIP+Milho+12 ³			
Proteína	75,50	73,85	77,90	0,069	0,738	3,68
Aminoácidos essenciais						
Lisina	47,03b	75,10 ^a	78,34 ^a	<0,001	3,500	5,35
Metionina	82,01	85,79	89,73	0,063	1,378	6,03
Treonina	30,65c	55,57b	67,41 ^a	0,001	4,815	7,01
Arginina	66,29b	78,03ab	87,51 ^a	0,007	3,033	12,76
Histidina	60,84b	77,38 ^a	83,69 ^a	<0,001	2,761	8,97
Valina	52,81b	72,18 ^a	81,66 ^a	<0,001	3,598	13,85
Isoleucina	55,49b	72,77ab	83,19 ^a	<0,001	3,820	6,85
Leucina	74,85b	83,68ab	89,23 ^a	0,005	2,011	7,70
Fenilalanina	67,57b	78,41ab	87,39 ^a	0,017	3,041	13,47

Aminoácidos não essenciais						
Alanina	70,72b	82,69a	88,33 ^a	0,001	2,290	8,07
Glicina	25,54b	67,22a	69,29 ^a	<0,001	4,999	8,75
Ácido aspártico	78,18	75,17	86,58	0,474	3,803	10,43
Ácido glutâmico	80,03	85,35	91,02	0,063	1,959	8,61
Prolina	55,55b	76,95a	82,70 ^a	<0,001	3,081	7,61
Serina	32,21b	66,08 ^a	75,23 ^a	<0,001	5,369	13,01
Tirosina	59,08b	75,04 ^a	83,23 ^a	0,002	3,193	9,90
AAs totais	60,72b	75,31^a	83,38^a	0,003	3,111	13,11

¹RIP+Milho: RIP + milho; ²RIP+Milho+8: RIP + Milho + 8.000 UP/kg; ³RIP+Milho+12: RIP + Milho + 12.000 UP/kg; ⁴EPM = erro padrão da média; ⁵CV: coeficiente de variação.

Letras diferentes na linha representam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Foram verificadas diferenças no CDIA de todos os AAs ($p < 0,05$), com excessão da metionina, ácido aspártico, ácido glutâmico e PB. Avaliando os AA essenciais, a ração RIP + Milho + 12.000 UP/kg apresentou o maior CDIA para Thr, Arg, Iso, Leu e Fen. No entanto, o maior CDIA da lisina, histidina e valina foram semelhantes entre as rações RIP + Milho + 8.000 UP/kg e RIP + Milho + 12.000 UP/kg. O CDIA dos AA não essenciais, Ala, Gly, Pro, Ser e Tyr, foi maior com a adição de 8.000 e 12.000 UP/kg (Tabela 10).

A principal diferença entre os valores de CDIA e CDIE foi a correção pelo o fluxo endógeno basal (EAA). A ração isenta de proteína foi utilizada para determinar o valor de perda endógena de aminoácidos, cujos resultados estão apresentados no Gráfico 1.

O fluxo médio de EAA foi de 0,21g/kg. O fluxo de Gly endógeno, Leu, Pro, Thr, Glu e Ser foram mais altos que o valor médio, e o fluxo endógeno da Met, Cys e His foi menor que o valor médio.

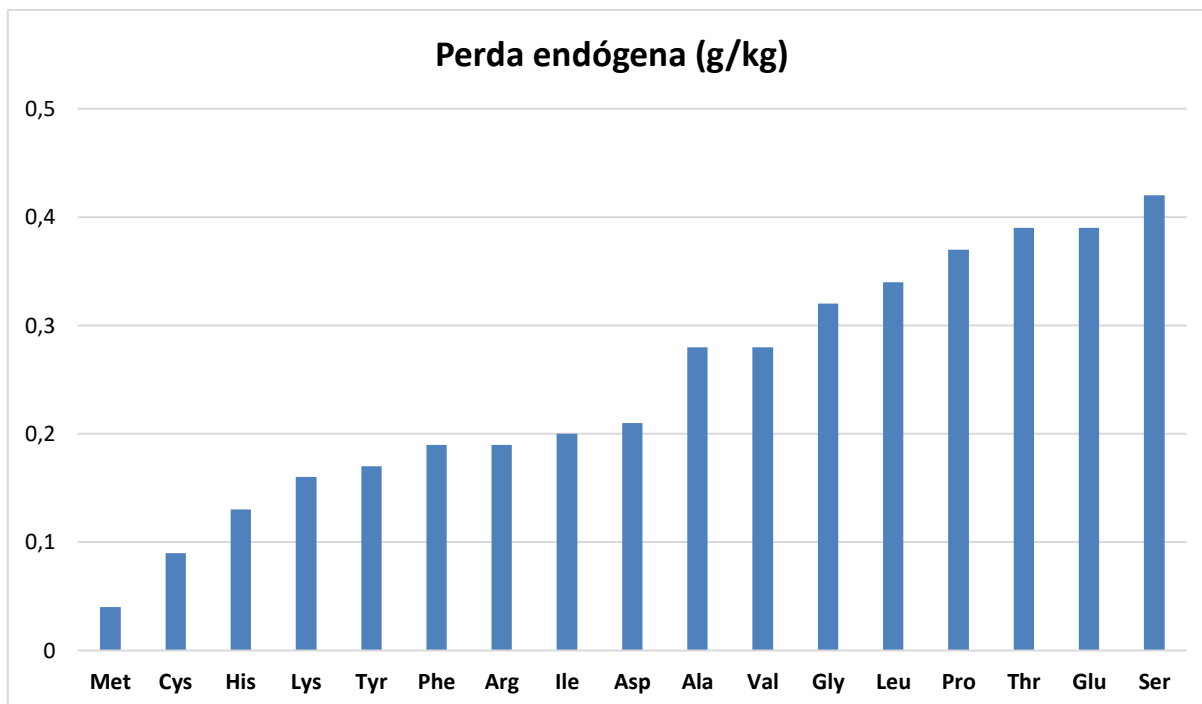


Gráfico 2. Fluxo de aminoácidos endógenos no íleo de frangos de corte alimentados com ração isenta de N (g/kg MS ingerida). Cada barra representa a média de 6 repetições com 15 aves por repetição.

O coeficiente de digestibilidade ileal estandardizada (CDIe) dos aminoácidos, determinados para o milho, com diferentes níveis de suplementação da enzima protease, para frangos de corte aos 22 dias de idade, estão descritos na Tabela 11.

Foram verificadas diferenças no CDIe de todos os AA ($p < 0,05$), com exceção da proteína, e dos aminoácidos não essenciais ácido aspártico e ácido glutâmico. A ração RIP + Milho + 12.000 UP/kg apresentou o maior CDIe de AA para Lys, Met, Tre, His, Val, Iso, Leu, Fen, Ala, Gly, Pro, Ser e Tyr. No entanto, o maior CDIe da prolina foi semelhante para as rações RIP + Milho + 8.000 UP/kg e DIP + Milho + 12.000 UP/kg. O milho sem a suplementação da protease apresentou o menor CDIe para todos os AAs. No entanto, o CDIe da metionina e da treonina, foram semelhantes para as rações RIP + Milho e RIP + Milho + 8000 UP/kg (Tabela 11).

Tabela 11 - Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada de aminoácidos (%) do milho, para frangos de corte suplementados com protease

Parâmetros (%)	Tratamentos			p-valor	EPM ⁴	CV ⁵
	RIP+Milho ¹	RIP+Milho+8 ²	RIP+Milho+12 ³			
Proteína	89,18	86,59	89,95	0,125	1,138	3,15
Aminoácidos essenciais						
Lisina	66,02b	69,93ab	85,76 ^a	0,011	7,684	5,47

Metionina	88,71b	89,55b	93,46 ^a	0,269	2,114	5,72
Treonina	63,32b	69,57b	80,75 ^a	0,021	5,648	9,43
Arginina	78,92b	83,37ab	92,49 ^a	0,043	4,026	7,61
Histidina	73,22b	82,89ab	89,44 ^a	0,003	2,708	8,10
Valina	71,73b	79,91ab	89,11 ^a	0,022	3,896	9,89
Isoleucina	74,15b	80,04ab	90,40 ^a	0,047	4,849	9,57
Leucina	82,62b	87,10ab	92,66 ^a	0,048	2,597	7,27
Fenilalanina	80,02b	83,50ab	92,44 ^a	0,041	4,279	8,28
Aminoácidos não essenciais						
Alanina	82,57b	87,56ab	93,17 ^a	0,041	2,654	7,41
Glicina	52,49c	65,81b	80,30 ^a	0,048	7,468	7,63
Ácido aspártico	87,03	79,22	90,51	0,489	6,672	9,09
Ácido glutâmico	85,93	87,96	93,60	0,207	3,004	8,25
Prolina	68,01b	82,12 ^a	87,93 ^a	<0,001	2,230	6,88
Serina	64,93b	77,56ab	86,99 ^a	0,037	5,434	7,40
Tirosina	75,00b	81,80ab	89,94 ^a	0,045	3,817	8,37
AA's totais	76,05b	81,79ab	89,75^a	0,035	3,914	7,62

¹RIP+Milho: RIP + milho; ²RIP+Milho+8: RIP + Milho + 8.000 UP/kg; ³RIP+Milho+12: RIP + Milho + 12.000 UP/kg; ⁴EPM = erro padrão da média; ⁵CV: coeficiente de variação.

Letras diferentes na linha representam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

O coeficiente de digestibilidade ileal aparente (CDIa) dos aminoácidos, determinados para o farelo de soja, com diferentes níveis de suplementação da enzima protease, para frangos de corte aos 22 dias de idade, estão descritos na Tabela 12.

Avaliando o CDIa dos AA essenciais, a ração RIP + FS + 8.000 UP/kg apresentou o maior CDIa para metionina e triptofano. A lisina, treonina, arginina, histidina, aminoácidos da cadeia ramificada, e fenilalanina não apresentaram diferenças. Ao avaliar o CDIa dos AA não essenciais, a dieta RIP + FS + 8.000 UP/kg apresentou o maior CDIa para a cistina e ácido aspártico. No entanto, o maior CDIa da cistina e do ácido aspártico foram semelhantes entre as rações RIP + FS e RIP + FS + 8000 UP/kg. (Tabela 12).

Tabela 12 - Coeficientes de digestibilidade ileal aparente de aminoácidos (%) do farelo de soja, para frangos de corte suplementados com protease

Parâmetros (%)	Tratamentos			p-valor	EPM ⁴	CV ⁵
	RIP+FS ¹	RIP+FS+8 ²	RIP+FS+12 ³			
Proteína	91,33	90,71	90,06	0,110	0,250	1,08
Aminoácidos essenciais						
Lisina	90,39	90,37	90,22	0,958	0,244	1,22
Metionina	93,14b	94,67a	93,43b	0,048	0,279	1,10

Treonina	83,48	82,08	82,30	0,614	0,594	3,14
Arginina	93,44	93,31	92,86	0,571	0,224	1,04
Histidina	88,59	88,13	86,79	0,272	0,464	2,19
Valina	87,24	86,88	85,53	0,221	0,419	1,98
Isoleucina	88,58	88,29	86,49	0,100	0,429	1,89
Leucina	88,86	88,77	87,83	0,420	0,342	1,65
Fenilalanina	90,18	90,03	89,93	0,943	0,282	1,41
Triptofano	78,60b	84,38a	77,59b	0,006	1,036	4,16
Aminoácidos não essenciais						
Cistina	84,50a	86,35a	78,72b	0,001	1,024	3,55
Alanina	88,05	87,56	87,05	0,548	0,355	1,76
Glicina	79,39	80,35	79,37	0,732	0,548	3,04
Ácido aspártico	89,54a	90,54a	87,29b	0,004	0,463	1,61
Ácido glutâmico	92,39	92,82	91,45	0,075	0,256	1,05
Prolina	86,33	86,31	86,68	0,916	0,379	1,97
Serina	86,14	86,46	85,15	0,420	0,411	2,04
Tirosina	89,20	89,37	88,37	0,346	0,292	1,38
AAs totais	88,50	88,71	87,41	0,242	0,333	1,55

¹RIP+FS: RIP + farelo de soja; ²RIP+FS+8: RIP + farelo de soja + 8.000 UP/kg; ³RIP+FS+12: RIP + farelo de soja + 12.000 UP/kg; ⁴EPM: erro padrão da média; ⁵CV: coeficiente de variação.

Letras diferentes na linha representam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

O coeficiente de digestibilidade ileal estandardizada (CDIe) dos aminoácidos, determinados para o farelo de soja, com diferentes níveis de suplementação da enzima protease, para frangos aos 22 dias de idade, estão descritos na Tabela 12.

Avaliando o CDIe dos AAs essenciais, a ração RIP + FS + 8.000 UP/kg apresentou o maior CDIe para a metionina e triptofano ($p < 0,05$). Os AA, lisina, treonina, arginina, histidina, valina, isoleucina, leucina e fenilalanina não apresentaram diferenças. Ao avaliar o CDIe dos aminoácidos não essenciais, as rações RIP + FS e RIP + FS + 8.000 UP/kg, apresentaram o maior CDIe para a cistina e ácido aspártico. Os AA não essenciais, alanina, glicina, ácido aspártico, ácido glutâmico, prolina e serina não apresentaram diferenças, assim como a proteína e ao AAs totais.

Tabela 13 - Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada de aminoácidos (%) do farelo de soja, para frangos de corte suplementados com protease

Parâmetros (%)	Tratamentos			p-valor	EPM ⁵	CV ⁶
	RIP+FS ¹	RIP+FS+8 ²	RIP+FS+12 ³			
Proteína	95,54	95,30	94,68	0,315	0,398	1,03
Aminoácidos essenciais						
Lisina	91,53	91,64	91,47	0,967	0,448	1,20

Metionina	94,62b	96,35a	94,98ab	0,026	0,420	1,08
Treonina	87,43	86,81	86,72	0,875	1,061	2,99
Arginina	94,56	94,59	94,10	0,632	0,397	1,03
Histidina	90,70	90,51	89,26	0,392	0,784	2,13
Valina	89,83	89,71	88,48	0,346	0,700	1,92
Isoleucina	90,39	90,33	88,70	0,171	0,678	1,85
Leucina	90,65	90,78	89,83	0,495	0,595	1,61
Fenilalanina	91,72	91,76	91,58	0,968	0,517	1,38
Triptofano	87,72b	88,76a	93,54ab	0,019	1,362	3,71
Aminoácidos não essenciais						
Cistina	87,49a	89,74a	82,62b	0,003	1,206	3,41
Alanina	90,68	90,62	89,96	0,676	0,629	1,70
Glicina	82,54	83,87	82,84	0,619	0,989	2,92
Ácido aspártico	90,52a	91,38a	88,10b	0,004	0,586	1,59
Ácido glutâmico	93,26	93,78	92,43	0,083	0,397	1,04
Prolina	89,45	89,80	89,96	0,871	0,694	1,90
Serina	89,46	90,31	88,73	0,322	0,714	1,95
Tirosina	91,47	91,92	90,87	0,356	0,501	1,34
AA's totais	90,58	91,04	89,72	0,265	0,559	1,51

¹RIP+FS: RIP + farelo de soja; ²RIP+FS+8: RIP + farelo de soja + 8.000 UP/kg; ³RIP+FS+12: RIP + farelo de soja + 12.000 UP/kg; ⁴EPM: erro padrão da média; ⁵CV: coeficiente de variação.

Letras diferentes na linha representam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

4. DISCUSSÃO

4.1. Experimento 1

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes níveis de protease no coeficiente de digestibilidade aparente dos aminoácidos, em rações a base de milho e farelo de soja na fase inicial de frangos de corte.

Ao avaliar a digestibilidade ileal das rações, verificou-se, que a ração suplementada com 8.000 UP/kg aumentou o CDIA de quase todos os AA. A adição da protease resultou em um aumento no CDIA de todos os AA em uma média de 5,92%, em relação a ração basal, variando de 4,24% para a lisina (86,54 vs. 90,78) a 11,62% para o ácido glutâmico (57,77 vs. 69,39). Os AA com maior porcentagem de aumento no CDIA da ração, foram os AA que são comumente associados ao fluxo de EAA, como, Ser, Glu, The, Pro e Gly.

A inclusão de 8.000 UP/kg na ração com redução da PB melhorou o CDIA da Lys, Tre, Arg, His, aminoácidos da cadeia ramificada, Fen, Trp, Cys, Ala, Gly, Glu, Pro, Ser e Tyr. Esses AA são classificados como polares e apolares, indicando que a enzima protease não melhorou a digestibilidade de um grupo específico.

Segundo [33], mostraram que a adição de uma protease em rações a base de milho e farelo de soja, também teve efeitos positivos na digestibilidade de PB e certos AAs (Arg, Ile, Lys, Thr, His, Asp, Cys e Ser) em rações com baixo teor de proteína em comparação com uma ração proteica padrão ou uma ração pobre em proteínas sem suplementação de protease para frangos de corte aos 22 dias de idade.

Em contraste, [34] não encontraram efeito da adição de protease na digestibilidade dos aminoácidos. Assim como [35], utilizando a protease em rações de frangos de corte com níveis padrão e menores de proteína, não encontraram efeito da adição da protease na digestibilidade dos aminoácidos.

A ração com maior nível de inclusão da protease (12.000 UP/kg), não apresentou o maior CDIA, uma das hipóteses é que altas dosagens da enzima poderia liberar muitos aminoácidos, que poderiam competir pelo sítio de absorção, causando o fenômeno do antagonismo, pois alguns aminoácidos apresentam afinidade por mais de um carreador, da mesma forma, dois aminoácidos estruturalmente relacionados podem competir pelo mesmo carreador, resultando em inibição na absorção do AA que estiver em menor concentração[36].

Apesar da histidina e a metionina não apresentarem aumento significativo no CDIA nas rações com redução da PB e inclusão da protease. A adição da enzima protease contribuiu para suprir a deficiência de PB da ração, aumentando a eficiência na digestibilidade das fontes de aminoácidos, restaurando o valor nutricional da ração, no qual o CDIA dos AA com a inclusão de 8.000 UP/kg, da metionina (96,82), e da histidina (86,69) foram iguais aos CDIA da ração basal (96,18 e 83,69) respectivamente. Demonstrando que a suplementação de protease em rações com redução da PB, é uma estratégia nutricional, para minimizar os efeitos adversos da diminuição da densidade de nutrientes, e reduzir os custos da alimentação, sem afetar o desempenho de frangos.

4.2. Experimento 2

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes níveis de protease no coeficiente de digestibilidade aparente e estandardizada dos aminoácidos, do milho e farelo de soja, na fase inicial de frangos.

Os resultados da digestibilidade aparente (CDIA) e estandardizada (CDIE) de aminoácidos do milho, demonstraram que a inclusão da enzima protease influenciou positivamente a digestibilidade dos aminoácidos.

As médias dos CDIA dos 16 aminoácidos determinados para o milho, segundo os tratamentos experimentais foram: 59,96% na ausência de protease; e 76,06% e 83,46% nas dietas suplementadas com 8.000 UP/kg e 12.000 UP/kg respectivamente, o que contribuiu com o aumento na digestibilidade aparente dos aminoácidos do milho de 16,25 e 23,50% respectivamente.

Analisando as médias do CDIE, dos 16 aminoácidos do milho, segundo os tratamentos experimentais foram: 74,66% na ausência de protease; e 80,49% e 89,30% nas dietas suplementadas com 8.000U e 12.000U de protease respectivamente, o que contribuiu com o aumento na digestibilidade ileal estandardizada dos aminoácidos do milho de 5,82 e 14,64% respectivamente.

De acordo com [11], a proteína do milho está distribuída no endosperma, cerca de 80%, denominada de zeína e no gérmen, cerca de 20%, denominada de gluteína. A gluteína possui alto valor biológico, já a zeína possui baixo valor biológico, provocado pelo desequilíbrio de aminoácidos essenciais, pelo alto teor de leucina, isoleucina e fenilalanina e pela deficiência de lisina e treonina.

Os grânulos de amido são revestidos por uma matriz proteica, cuja função é aumentar a rigidez do endosperma. As proteases podem auxiliar na digestão da matriz proteica, melhorando a digestibilidade tanto da energia quanto da proteína. Ou seja, a protease ao degradar a matriz proteica do endosperma aumentaria a exposição do amido à amilase endógena e, conseqüente, melhora na digestão do amido e da energia [37,38].

Segundo [39], a suplementação de enzimas permite a hidrólise das camadas da aleurona do milho, favorecendo o acesso das enzimas digestivas na hidrólise da proteína, aumentando a digestibilidade do nitrogênio, refletindo no aumento da digestibilidade dos nutrientes e da energia. Uma vez que a estrutura do amido no endosperma dos grãos e nas camadas de aleurona são consideradas como barreiras físicas à ação das enzimas digestivas das aves, devido a limitação do contato dessas com as frações de proteína e amido [40,41].

A utilização da enzima proteolítica melhorou os coeficientes de digestibilidade da maioria dos aminoácidos do milho. O milho é deficiente em lisina e treonina, e a inclusão de 8000 UP/kg e 12000 UP/ kg, aumentou o CDIE da Lys em 3,9% e 19,7% e da treonina em 6,2% e 17,4%, respectivamente.

A melhoria da digestibilidade da Lys é muito importante. A Lys é classificada como o segundo AA limitante para frangos. Este AA é utilizado quase que exclusivamente para a

deposição de proteína corporal, sendo encontrado em maiores proporções no musculo do peito de frangos [42,43].

A melhoria da digestibilidade da treonina também é muito importante. A Tre é considerada o terceiro AA limitante para frangos. É exigido para formação da proteína e manutenção do *turnover* protéico corporal, além de auxiliar na formação do colágeno, e também está envolvida em outras funções fisiológicas, como a digestão e imunidade [44,45].

Os resultados da digestibilidade aparente (CDIa) e estandardizada (CDIe) de aminoácidos do farelo de soja na fase inicial para frangos, demonstraram que a inclusão de 8.000 UP/kg, aumentou a digestibilidade da metionina, triptofano, cistina e ácido aspártico. O farelo de soja é um ingrediente de alto valor alimentar, já que representa a principal fonte de proteína e aminoácidos essenciais para os animais monogástricos, mas possui baixo coeficiente de digestibilidade para a metionina, triptofano e valina [31,46,47].

No presente estudo, a suplementação de 8.000 UP/kg no farelo de soja, promoveu um maior CDIe da metionina em 1,7% (94,64 vs 96,35) em relação a ração sem protease. A melhor digestibilidade da Met é importante, pois ela é o primeiro AA limitante em rações para aves à base de milho e farelo de soja, logo a concentração adequada desses aminoácidos é fundamental para determinar que outros aminoácidos sejam utilizados com eficiência na síntese de proteína [43].

O Triptofano foi o outro AA essencial que teve um maior CDIe no farelo de soja, com a inclusão de 8000 UP/kg. A protease promove um aumento na digestibilidade do Trp de 1,04% (87,72 vs 88,76). O triptofano é um AA essencial para a síntese de serotonina e sua deficiência pode causar redução no consumo de ração, com conseqüente queda no ganho de peso [43].

A alta digestibilidade inerente do AA do farelo de soja, pode contribuir para a falta de efeito da enzima protease no aumento dos coeficientes de digestibilidade de outros AA. Segundo [48], conforme aumenta a digestibilidade inerente, o efeito da protease na digestibilidade dos aminoácidos diminui. Estudos têm demonstrado que quanto maior a digestibilidade de um alimento, mais deficiente será a resposta a uma enzima. logo, o aumento significativo na digestibilidade da Met, Cys e Trp, e a falta de resultados para a Lys por exemplo, encontrados nesse estudo podem ser explicados pela alta e baixa digestibilidade desses aminoácidos no farelo de soja.

Segundo [49], diferentes estruturas presentes em alimentos distintos determinam taxas de digestibilidade variáveis para o conteúdo aminoacídico. Essa diferença estrutural está relacionada com a natureza das inter-relações dos aminoácidos que as compõe.

Esses resultados confirmaram relatos de [50], em experimento com galos cecectomizados, encontraram relação entre a digestibilidade e os valores de proteína bruta da ração e demonstraram haver influência do nível proteico sobre a digestibilidade das rações. Sabe-se também que o efeito das enzimas tende a ser maior quando se trabalha com ingredientes de baixa digestibilidade.

De forma similar [51], avaliando o complexo enzimático de carbohidrase e protease em rações com DDGS de milho, concluíram que o mecanismo de ação da protease na digestibilidade de aminoácidos é dependente da qualidade da proteína, e a protease foi a grande responsável pelo incremento no coeficiente de digestibilidade de aminoácidos.

No presente estudo, foram obtidas variações nos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos entre os alimentos estudados, mostrando a importância do perfeito conhecimento da digestibilidade destes nutrientes para a formulação de rações de baixo custo. Ao analisar os coeficientes de digestibilidade do milho e do farelo de soja na fase inicial, o milho apresentou maiores diferenças em seus resultados.

Uma das prováveis explicações para essa diferença na digestibilidade dos aminoácidos dos ingredientes analisados, em aves na fase inicial de vida, relaciona-se à característica estrutural da proteína dos alimentos avaliados. Esses maiores valores de digestibilidade dos aminoácidos determinados para o milho provavelmente foram ocasionados pela maior concentração de enzimas em relação ao substrato, pois rações/alimentos com menores porcentagens de proteína bruta apresentam maior digestibilidade da proteína.

Os CDIA e CDIE dos AA dos ingredientes analisados foram superiores ao CDIA dos AA da ração. Resultados semelhantes foram encontrados por [52], que ao avaliarem a digestibilidade ileal aparente e verdadeira de aminoácidos de milho e farelo de soja em rações de frangos de corte demonstraram que o valor real da digestibilidade dos ingredientes (milho e farelo de soja) tiveram uma subestimação em relação a ração completa, demonstrando ainda a limitação das suposições aritméticas sobre o valor nutricional de ingredientes individuais em dietas completas.

Poucos trabalhos exploraram o efeito da protease no CDIE de AA para ingredientes únicos e uma mistura dos mesmos ingredientes (dieta completa). Segundo [52], se o efeito de uma enzima em um ingrediente individual não for traduzível para uma dieta completa, isso põe

em dúvida muitos dos sistemas de aplicação de enzimas usados na formulação de rações hoje. Os valores derivados de estudos de avaliação de um único ingrediente pode estar sujeitos a críticas se não puderem ser traduzidos em dietas completas devido à falta de coerência aritmética. No entanto, no presente trabalho, o efeito da protease nos ingredientes individuais foi proporcionalmente previsível com base no efeito na dieta completa.

5. CONCLUSÃO

A inclusão de protease melhorou significativamente os coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos em frangos na fase inicial. O nível de 8.000 UP/kg melhorou significativamente o CDIA de AA da ração com redução da fração indigestível de AA, e também o CDIA e CDIE de AA do farelo de soja. O nível de 12.000 UP/kg aumentou significativamente o CDIA e CDIE de AA do milho. A suplementação de proteases na ração de frangos na fase inicial aumentou a digestibilidade dos aminoácidos, permitindo a redução do custo da alimentação, sendo o nível de 8000 UP/kg recomendado.

REFERÊNCIAS

1. Cancherini LC, Junqueira OM, Oliveira MC, Andreotti MO, Barbosa MJB. Utilização de subprodutos de origem animal em dietas formuladas com base em proteína bruta e proteína ideal para frangos de corte de 22 a 42 dias de idade. *Rev Bras Zootec.* 2005;34(2):535-40.
2. Tavernari FC, Bernal LEP, Rostagno HS, Albino LFT, Vieira RA. Relação metionina+cistina/lisina digestível para frangos de corte Cobb. *Rev Ceres.* 2014;61(2):193-201.
3. Caetano VC, Faria DE, Caniatto ARM, Faria Filho DE, Nakagi VS. Performance and carcass yield of broilers from 1 to 46 days fed diets containing different levels of valine and reduced protein content. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2015;67(6):1721-8.
4. Albino LFT, Silva MA. Tópicos avançados em exigências nutricionais para frangos de corte. In: Congresso Internacional; 1º; Congresso Nacional; 6º; Congresso Estadual; 14º. Porto Alegre: PUCRS - Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia; 1996. p. 59-64.
5. Nahm KH. Efficient phosphorus utilization in poultry feeding to lessen the environmental impact of excreta. *World's Poult Sci J.* 2007;63:625-54.
6. Dean DW, Bidner TD, Southern LL. Glycine supplementation to low protein, amino acid-supplemented diets supports optimal performance of broiler chicks. *Poult Sci.* 2006;85:288-96.
7. Dozier WA III, Hess JB. Soybean meal quality and analytical techniques. In: El-Shemy H, editor. *Soybean and nutrition.* Vienna: InTech; 2011. Available from: <http://www.intechopen.com/books/soybean-and-nutrition/soybean-meal-quality-and-analytical-techniques>. Accessed on: 7 Jul 2022.
8. Cowieson AJ, Ruckebush P, Sorbara JOB, Wilson JW, Guggenbuhl P, Tanadini L, et al. A systemic view on the effect of phytase on ileal amino acid digestibility in broilers. *Anim Feed Sci Technol.* 2017;225:182-94.

9. Clarke E, Wiseman J. Effects of variability in trypsin inhibitor content of soya bean meals on true and apparent ileal digestibility of amino acids and pancreas size in broiler chicks. *Anim Feed Sci Technol.* 2005;121(2):125-38.
10. Bertechini AG, Fassani EJ, Fialho ET. Utilização do milho QPM (Quality Protein Maize) para aves. *Cienc Agrotec.* 1999;23(2):434-40.
11. Regina R, Solferini O. Produção de cultivares de ingredientes de alto valor nutricional: características e benefícios. In: *Simpósio sobre Ingredientes na Alimentação Animal, 2º.* Uberlândia. Campinas: CBNA; 2002. p. 105-16.
12. Zanella I, Sakomura NK, Silversides FG, Figueirido A, Pack M. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybean. *Poult Sci.* 1999;78(4):561-8.
13. Albino LFT, Silva SHM, Vargas Jr JG, Rostagno HS, Silva MA. Níveis de metionina mais cistina para frangos de corte de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade. *Rev Bras Zootec.* 1999;28(3):519-25.
14. Junqueira OM, Duarte KF, Cancherini LC, Araújo LF, Oliveira MCD, Garcia EA. Composição química, valores de energia metabolizável e aminoácidos digestíveis de subprodutos do arroz para frangos de corte. *Cienc Rural.* 2009;39(8):2497-503.
15. Borges FMO, Rostagno HS, Saad CEP, et al. Avaliação dos coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos do grão de trigo e seus subprodutos para frangos de corte utilizando diferentes metodologias. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2003;55(6):68-72.
16. Oliveira Neto AR, Oliveira WP. Aminoácidos para frangos de corte. *Rev Bras Zootec.* 2009;38(Supl. Especial):205-8.
17. Engster HM, Cave NA, Likuski H. A collaborative study to evaluate a precision-fed rooster assay for true amino acid availability in feed ingredients. *Poult Sci.* 1985;64(3):487-98.
18. Rostagno HS, Pupa JMR, Pack M. Diet formulation for broilers based on total versus digestible amino acids. *J Appl Poult Res.* 1995;4(1):293-9.
19. Brito CO, Albino LFT, Rostagno HS. Dieta aminoácídica na determinação da perda endógena ileal de frangos de corte: uma proposta metodológica. *Rev Bras Zootec.* 2009;38(11):2161-6.
20. Sibbald IR, Slinger SJA. A biological assay for metabolizable energy in poultry feed ingredients together with findings which demonstrate some of the problems associated with the evaluation of fats. *Poult Sci.* 1963;42(1):313-25.
21. Parsons CM. Disponibilidad de aminoácidos en alimentos para aves. Mexico: Assoc Amer De Soya; 1991. p. 1-8.
22. Leeson S, Summers JD. Nutrition of the chickens. Guelph: University Books; 2001. 591 p.
23. Sakomura NK, Rostagno HS. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. Jaboticabal: FUNEP; 2016. p. 283.
24. Stein HH, Pedersen C, Wirt AR, et al. Additivity of values for apparent and standardized ileal digestibility of amino acids in mixed diets fed to growing pigs. *J Anim Sci.* 2005;83:2387-95.
25. Garcia AR, Batal AB, Dale NM. A comparison of methods to determine amino acid digestibility of feed ingredients for chickens. *Poult Sci.* 2007;86:94-101.
26. Brumano G, Gomes P, Rostagno HS, Albino LFT, Schmidt M, Generoso RAR. Aminoácidos digestíveis verdadeiros dos alimentos proteicos determinados com galos cecectomizados. *Rev Bras Zootec.* 2006;35(6):2290-6.
27. Bertechini AG, Carvalho JCC, Mesquita FR, Castro C, Meneghetti C, Sorbara JOB. Uso de uma protease para aumentar a utilização de aminoácidos do farelo de soja pelos frangos de corte. *Poult Sci.* 2009;88:69.
28. Angel CR, Saylor W, Vieira SL, Ward N. Effects of a monocomponent protease on performance and protein utilization in 7- to 22-day-old broiler chickens. *Poult Sci.* 2011;90:2281-6.

29. Cowieson AJ, Roos FF. Toward optimal value creation through the application of exogenous mono-component protease in the diets of non-ruminants. *Anim Feed Sci Technol.* 2016;221:331-40.
30. Cobb. Cobb Broiler Nutrition Guide. Available from: http://www.agri.ankara.edu.tr/animal_science/10068_Cobb_broyler_besleme_kilavuzu.pdf. Accessed on: 22 Jan 2022.
31. Rostagno HS, Albino LFT, Hannas MI, Donzele JL, Sakomura NK, Perazzo FG, et al. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais.* 4ª ed. Viçosa: Departamento de Zootecnia, UFV; 2017. 488 p.
32. R Core Team. *R: A language and environment for statistical computing.* Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2019.
33. Angel CR, Saylor W, Vieira SL, Ward N. Effects of a monocomponent protease on performance and protein utilization in 7- to 22-day-old broiler chickens. *Poult Sci.* 2011;90:2281-6.
34. Ghazi S, Rooke JA, Galbraith H. Improvement of the nutritive value of soybean meal by protease and alpha-galactosidase treatment in broiler cockerels and broiler chicks. *Br Poult Sci.* 2003;44:410-8.
35. Rada V, Lichovnikova M, Foltyn M. The effect of serine protease on broiler growth and carcass quality. *Acta Fytotechn Zootechn.* 2014;17(3):87-9.
36. Silva JHS, Costa FGP, Lima RB. Digestão e absorção das proteínas. In: Sakomura NK, Silva JHV, Costa FGP, Fernandes JBK, Hauschild L, editors. *Nutrição de não-ruminantes.* Jaboticabal: FUNEP; 2014. p. 96-126.
37. Duvick DN, Snyder RJ, Anderson EG. The chromosomal location of Rfl, a restorer gene for cytoplasmic pollen sterile maize. *Genetics.* 1961;46:1245-52.
38. Narváez-González ED, Figueroa-Cárdenas JD, Taba S, Castaño-Tostado E, Martínez-Peniche RA, Rincón-Sánchez F. Relationships between the microstructure, physical features and chemical composition of different corn accessions from Latin America. *Cereal Chem.* 2006;83:595-604.
39. Slominski BA. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. *Poult Sci.* 2011;90(9):2013-23.
40. Cowieson AJ, Acamovic T, Bedford MR. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. *Br Poult Sci.* 2004;45(1):101-8.
41. Jozefiak D, Ptak A, Kaczmarek S, Mackowiak P, Sassek M, Slominski BA. Multi-carbohydrase and phytase supplementation improves growth performance and liver insulin receptor sensitivity in broiler chickens fed diets containing full-fat rapeseed. *Poult Sci.* 2010;89(9):1939-46.
42. Tesseraud S, Temin S, Le BDE, Chagneau AM. Increased responsiveness to dietary lysine deficiency of pectoralis major muscle protein turnover in broilers selected on breast development. *J Anim Sci.* 2001;79(4):927-33.
43. Costa FG, Silva JHV, Goulart CC, Nogueira ET, Sá LM. Exigência de aminoácidos para aves. In: Sakomura NK, Silva JHV, Costa FGP, Fernandes JBK, Hauschild L, editors. *Nutrição de não-ruminantes.* Jaboticabal: FUNEP-UNESP; 2014. Cap. 4, p. 240-61.
44. Sá LM, Gomes PC, Cecon PR, et al. Exigência nutricional de treonina digestível para galinhas poedeiras no período de 34 a 50 semanas de idade. *Rev Bras Zootec.* 2007;36:1846-53.
45. Bisinoto KS, Berto DA, Caldara FR, Trindade Neto MA, Wechsler FS. Threonine: lysine ratios for piglets from 6 to 11 kg of live weight in diets based on the ideal protein concept. *Cienc Rural.* 2007;37(6):1740-5.

46. Brum PAR, Lima GJM, Ávila VS, Ardigo MLR. Características nutricionais da soja desativada por diferentes processos térmicos para alimentação de frangos de corte. Comunicado Técnico. Concórdia; 2006.
47. Debastiani M, Nunes RV, Pozza PC, Pozza MSS, Silva JD, Nunes CGV, et al. Valores energéticos do farelo de soja para galinhas poedeiras em função dos níveis de inclusão e de proteína bruta na ração referência. Arch Vet Sci. 2007;12(2):40-5.
48. Cowieson AJ, Belford MR. The effect of phytase and carbohydrase on ileal amino acid digestibility in monogastric diets: complementary mode of action? World Poult Sci J. 2009;65:609-24.
49. Farrell DJ, Mannion PF, Perez-Maldonado RA. A comparison of total and digestible amino acids in diets for broilers and layers. Anim Feed Sci Technol. 1999;82(1):131-42.
50. Angkanaporn K, Ravindran V, Bryden WL. Influence of caecectomy and dietary protein concentration on apparent excreta amino acid digestibility in adult cockerels. Br Poult Sci. 1997;38:270-6.
51. Romero LF, Parsons CM, Utterback PL, Plumstead PW, Ravindran V. Comparative effects of dietary carbohydrases without or with protease on the ileal digestibility of energy and amino acids and AMEn in young broilers. Anim Feed Sci Technol. 2013;181:35-44.
52. Cowieson AJ, Sorbara JOB, Pappenberger G, Abdollahi MR, Ravindran V. Toward standardized amino acid matrices for exogenous phytase and protease in corn–soybean meal–based diets for broilers. Poult Sci. 2020;99(6):3196-206. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.071>. Accessed on: 15 Oct 2022.

CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso da enzima protease na forma de inclusão “on the top”, nesse trabalho demonstrou resultados positivos, indicando o seu uso como aditivo zootécnico em rações para frangos de corte. A melhor absorção de nutrientes e no processo de digestão também foram constatados pelos resultados de desempenho, mas principalmente no ensaio de digestibilidade.

A suplementação da protease mostrou-se mais responsiva na fase pré-inicial, influenciando o desempenho dos frangos, resultando em melhor peso médio; e mesmo com os níveis nutricionais reduzidos, conseguiu propiciar o mesmo resultado de desempenho quando comparado com a ração basal, evidenciando a atuação da protease na liberação de nutrientes.

No período total, de um a 42 dias de idade, com base nos resultados para conversão alimentar, recomenda-se o nível de 6.243 UP/kg de protease em rações para frangos de corte. Porém esse nível não foi utilizado no presente estudo, logo mais trabalhos devem ser realizados, utilizando-se esse e outros níveis de inclusão da protease para que se obtenha resultados mais precisos relacionados ao desempenho de frangos.

As informações geradas sobre o incremento na digestibilidade ileal dos aminoácidos dos ingredientes na fase inicial, promovidas pela suplementação da enzima protease, auxilia para entender melhor o efeito da enzima sobre o substrato de cada ingrediente (milho e farelo de soja), de forma que a matriz nutricional dos ingredientes com protease possa ser melhor estabelecida. Da mesma forma, que a inclusão de protease pode auxiliar na redução de excreção de nutrientes não aproveitados ao ambiente, corroborando com os atuais conceitos produtivos que visam atendimento dos anseios dos consumidores e o equilíbrio ambiental.

O nível de 8.000 UP/kg a protease apresentou os melhores resultados para os coeficientes de digestibilidade ileal da ração e dos ingredientes. Demonstrando assim, que a inclusão de 8.000 UP/kg facilitou a rápida degradação dos fatores antinutricionais presentes nos alimentos, reduzindo o fluxo de proteína endógena parcialmente digerida para o intestino grosso, resultando em maior disponibilidade de aminoácidos e permitindo a redução do custo da alimentação.

Assim, os efeitos positivos da protease resultaram em melhora nos parâmetros de desempenho e digestibilidade ileal dos aminoácidos, fatores esses que justificam a utilização deste aditivo nas rações para frangos de corte.