

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PROBIÓTICO E ENZIMAS EM DIETAS DE FRANGOS DE
CORTE: DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DA CAMA E
EXCRETAS E PRODUÇÃO DE BIOGÁS**

Maria Fernanda Ferreira Menegucci Praes

Zootecnista

2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PROBIÓTICO E ENZIMAS EM DIETAS DE FRANGOS DE
CORTE: DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DA CAMA E
EXCRETAS E PRODUÇÃO DE BIOGÁS**

Maria Fernanda Ferreira Menegucci Praes

Orientador: Prof. Dr. Jorge de Lucas Junior

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para a
obtenção do título de Doutor em Zootecnia

2013

P897p Praes, Maria Fernanda Ferreira Menegucci
Probiótico e enzimas em dietas de frangos de corte:
desempenho, características da cama e excretas e produção de
biogás / Maria Fernanda Ferreira MenegucciPraes. – – Jaboticabal,
2013

x, 168 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013

Orientadora: Jorge de Lucas Junior

Banca examinadora: Adélia Pereira Miranda, José Otávio Berti
Sorbara, Lizandra Amoroso, Otto Mack Junqueira

Bibliografia

1. Biodigestores–cama de frango. 2. Fitase – probiótico. 3.
Protease – xilanase. I. Título. II. Jaboticabal - Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.5:636.084

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da
Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – UNESP, Câmpus de
Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE JABOTICABAL
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: PROBIÓTICO E ENZIMAS EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE: DE SEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DA CAMA E EXCRETAS E PRODUÇÃO DE BIOGÁS

AUTORA: MARIA FERNANDA FERREIRA MENEGUCCI PRAES

ORIENTADOR: Prof. Dr. JORGE DE LUCAS JUNIOR

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA , pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. JORGE DE LUCAS JUNIOR
Departamento de Engenharia Rural / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. OTTO MACK JUNQUEIRA
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Profa. Dra. LIZANDRA AMOROSO
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. JOSE OTAVIO BERTI SORBARA
DSM Nutritional Products / São Paulo/SP


Profa. Dra. ADÉLIA PEREIRA MIRANDA
Universidade José do Rosário Vellano / Alfenas/MG

Data da realização: 06 de dezembro de 2013.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Maria Fernanda Ferreira Menegucci Praes– nascida em 25 de fevereiro de 1981, na cidade de Ribeirão Preto (SP), filha de Luiz Carlos Praes e Sueli MenegucciPraes, ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa em março de 2002, sendo transferida para a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Unesp - Câmpus de Jaboticabal em março de 2004, graduando-se em dezembro de 2007. Em março de 2008, ingressou no Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, no Mestrado, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Unesp - Câmpus de Jaboticabal, obtendo o título de mestre em fevereiro de 2010. No mês de março do mesmo ano, iniciou o curso de Doutorado na mesma Instituição, sob orientação do Prof. Dr. Jorge de Lucas Junior.

O SENHOR é o meu pastor, nada me faltará.

Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me mansamente a águas tranqüilas.

Refrigera a minha alma; guia-me pelas veredas da justiça, por amor do seu nome.

Ainda que eu andasse pelo vale da sombra da morte, não temeria mal algum, porque tu
estás comigo; a tua vara e o teu cajado me consolam.

Preparas uma mesa perante mim na presença dos meus inimigos, unges a minha cabeça
com óleo, o meu cálice transborda.

Certamente que a bondade e a misericórdia me seguirão todos os dias da minha vida; e
habitarei na casa do Senhor por longos dias.

(Salmos 23:1-6)

De tudo ficaram três coisas...

A certeza de que estamos sempre começando...

A certeza de que é preciso continuar...

A certeza de que podemos ser interrompidos
antes de terminar...

Façamos da interrupção um caminho novo...

Da queda, um passo de dança...

Do medo, uma escada...

Do sonho, uma ponte...

Da procura, um encontro!

(Fernando Sabino)

OFEREÇO

A Deus, pois é ele que me fortalece e me ajuda na caminhada.

A minha avó Elza por ter me ajudado durante a minha caminhada na graduação e pós-graduação.

Aos meus pais Sueli e Luiz que sempre estiveram ao meu lado.

Aos meus irmãos Maria Claudia, Maria Gabriela e Guilherme, ao meu cunhado Willian e ao meu sobrinho João Gabriel, pelos momentos de alegria.

DEDICO

Ao professor Jorge de Lucas Junior, pela paciência nos momentos difíceis da condução dos experimentos, por ser um grande amigo, e principalmente por ter me mostrado a essência da vida “humilde”, pois não se chega a lugar algum sem ela, por mais conhecimento que se tenha.

Ao professor Otto e sua esposa Beatriz pela amizade e por proporcionar momentos de felicidades.

AGRADECIMENTOS

À Unesp – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, pela oportunidade oferecida para a realização do curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de doutorado (proc. n° 2010/05263-1) e pelo auxílio pesquisa concedidos (2010/11329-5).

A DSM por ter me dado suporte durante o decorrer do trabalho.

Ao Dr. José Otávio e Dr. Rafael Hermes (DSM) por ter me ajudado a formular as rações, e escrever os resumos e a tese de doutorado.

Aos funcionários do Setor de Avicultura e Fábrica de Ração: Robson, Vicente, “seu” Izildo, Batista, Helinho, pela ajuda e dedicação durante todo o período experimental.

Aos funcionários do setor de engenharia rural: David, Luizinho, Marquinho, Airton, seu João, Silvia, Sebastião.

Aos meus estagiários, Natasha, Natália, Mirela, Malaquias, Aline e Betinho, que foram de extrema importância para o desenvolvimento do projeto, sem eles não teria conseguido.

Ao professor Luiz Augusto Amaral e seus orientados em especial a Laryssa por ter me ajudado nas análises de coliformes.

À banca da qualificação, Professoras Dras. Karina Ferreira Duarte, Lizandra Amoroso, Silvana Martinez BaraldiArtoni e Teresa Cristina TarlePissarra, pelas colaborações.

À banca examinadora, Professor Dr. Otto Mack Junqueira, Professora Dra. Lizandra Amoroso, Dr. José Otávio Berti Sorbara e Professora Dra. Adélia Pereira Mairanda, pelas considerações.

Aos professores de estatística Dr. Euclides e Dr. João Ademir, pela disponibilidade e competência.

Aos amigos de trabalho, Carla, Anemia, Livia, Airon, Português, Pipeta, Lorenzo, Ricardo, Laura, Sagula, Juliana, Stella por serem meus companheiros diariamente.

À minha amiga Paula ter morado comigo, me tolerar e principalmente por me ensinar a rezar.

Ao senhor Orandir, pelo auxílio no preparo das amostras histológicas.

Ao professor Drº. Mario Jefferson Quintada Louzada e sua aluna de mestrado Bruna, por terem me auxiliado nas análises ósseas.

Ao Guilherme por ter estado comigo durante o doutorado e por ter sido um grande companheiro.

Aos meus tios e primos e primos que me deram muita alegria durante esse período, em especial a minha prima Maria Carolina por ser minha amiga e me ajudar nos momentos de descontração.

A Sarah por ter me ajudado no experimento e ser uma amiga de longa data, chegando a ser quase uma irmã.

As minhas amigas Ana Claudia e Viviane por serem amigas especiais e que estão comigo nos momentos de alegria.

Agradeço a minha família vercezi, em especial meu pai Eduardo e mina avó Dirce, por ter me reconhecido e estado comigo durante esse período.

A Liana e Dani por serem grandes amigas que levarei para vida toda.

A república coyotes que morei desde a graduação e sempre estive de portas abertas.

Agradeço a todos que participaram da minha vida durante esses anos do doutorado e que de uma forma ou de outra me ajudaram na conclusão do curso.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	III
LISTA DE FIGURAS.....	VIII
RESUMO..	IX
ABSTRACT	X
CAPÍTULO 1 - Considerações gerais.....	1
1. Introdução	1
2. Revisão da literatura.....	3
3. Objetivos gerais.....	21
6. Referências bibliográficas.....	22
CAPÍTULO 2 - Efeito de probióticos e enzimas sobre o desempenho, o rendimento de carcaça, a morfometria intestinal e a densitometria óssea de frangos de corte	
Resumo.....	32
1. Introdução	33
2. Objetivos	34
3. Material e métodos	34
4. Resultados e discussão	40
5. Conclusões.....	56
6. Referências.....	56
CAPÍTULO 3 - Efeito de probióticos e enzimas sobre a produção e a qualidade da cama de frangos de corte	
Resumo.....	61
1. Introdução.....	62
2. Objetivos	62
3. Material e métodos.....	63
4. Resultados e discussão.....	68
5. Conclusões.....	75
6. Referências.....	75

CAPÍTULO 4 - Efeito de probióticos e enzimas sobre a cama de frango tratada em biodigestores contínuos

Resumo.....	78
1. Introdução.....	79
2. Objetivo	79
3. Material e métodos.....	80
4. Resultados e discussão.....	89
5. Conclusões.....	103
6. Referências.....	104

CAPÍTULO 5 – Efeito de probióticos e enzimas sobre a cama de frango tratadas em biodigestores bateladas

Resumo.....	108
1. Introdução	109
2. Objetivo.....	110
3. Material e métodos.....	110
4. Resultados e discussão	118
5. Conclusões.....	133
6. Referências.....	134

CAPÍTULO 6 – A associação de probióticos e enzimas favorece a produção de biogás a partir de excretas de frangos de corte

Resumo.....	138
1. Introdução	139
2. Objetivo	140
3. Material e métodos.....	140
4. Resultados e discussão	149
5. Conclusões.....	164
6. Referências.....	164

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 - Efeito de probióticos e enzimas sobre o desempenho, o rendimento de carcaça, a morfometria intestinal e a densitometria óssea de frangos de corte

Tabela 1. Composição calculada das rações experimentais para a fase inicial, crescimento e final.	36
Tabela 2. Análise calculada dos níveis nutricionais das rações experimentais.	37
Tabela 3. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas de 1 a 21 dias de idade.	41
Tabela 4. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas de 22 a 35 dias de idade.	41
Tabela 5. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas de 36 a 42 dias de idade.	42
Tabela 6. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas de 1 a 42 dias de idade.	42
Tabela 7. Consumo de ração diário por ave alojada (CRAD), ganho de peso diário (GPD) viabilidade criatória (VC) e índice de eficiência produtiva (IEP) de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas de 1 a 42 dias de idade.	44
Tabela 8. Rendimento de carcaça (RC), rendimento de coxa + sobrecoxa (RC+SC), rendimento de peito (RP), rendimento de dorso (RD) e rendimento de asas (RA) de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas 1 a 42 dias de idade.	45
Tabela 9. Altura de vilosidades (AV) e largura dos vilos (LV) dos diferentes segmentos do intestino delgado de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas aos 21 dias de idade.	47
Tabela 10. Profundidade das criptas intestinais (PC) relação entre a altura dos vilos e profundidade das criptas (AV/PC) dos diferentes segmentos do intestino delgado de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas aos 21 dias de idade.	47
Tabela 11. Altura de vilosidades (AV) e largura dos vilos (LV) dos diferentes segmentos do intestino delgado de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas aos 42 dias de idade	50
Tabela 12. Profundidade das criptas intestinais (PC) relação entre a altura dos vilos e profundidade das criptas (AV/PC) dos diferentes segmentos do intestino delgado de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas aos 42 dias de idade.	50

Tabela 13. Composição mineral, área, densidade mineral total da epífise proximal, diáfise e epífise distal do metatarso de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas aos 21 dias de idade.	52
Tabela 14. Composição mineral, área, densidade mineral total da epífise proximal, diáfise e epífise distal do metatarso de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas aos 42 dias de idade.	54

CAPÍTULO 3 - Efeito deprobióticos e enzimas sobre a produção e a qualidade da cama de frangos de corte

Tabela 1. Composição calculada das rações experimentais para a fase inicial, crescimento e final.	65
Tabela 2. Análise calculada dos níveis nutricionais das rações experimentais.	66
Tabela 3. Produção de cama na MN, e MS, e por ave na MS, coeficiente de resíduo (Cr) e quantidade de excretas na MS por ave alojada (QEA), de frangos de corte alimentados com probióticos e enzimas.	69
Tabela 4. Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes (NMP/100 ml) de cama de frango de corte criados até 42 dias de idade, que receberam dieta com probióticos e enzimas.	70
Tabela 5. Composição química (N, P e K) dos diferentes tipos de cama de frango de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas.	72
Tabela 6. Composição química dos diferentes tipos de cama de frango de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas.	74

CAPÍTULO 4 - Efeito de probióticos e enzimas sobre a cama de frango tratada em biodigestores contínuos

Tabela 1. Quantidade de substratos, em kg, adicionados aos biodigestores contínuos diariamente.	81
Tabela 2. Composição calculada das rações experimentais para a fase inicial, crescimento e final.	85
Tabela 3. Análise calculada dos níveis nutricionais das rações experimentais.	86
Tabela 4. Resultados de pH para afluentes não peneirados e peneirados e efluentes de biodigestores contínuos abastecidos com cama de frangos de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas.	90
Tabela 5. Teores de ST nos afluentes e efluentes, em % e kg e % de ST reduzidos de cama de frangos de corte que receberam dieta com probióticos e enzimas tratadas em biodigestores contínuos.	91
Tabela 6. Teores de SV nos afluentes e efluentes, em % e kg e % de SV reduzido de cama de frangos de corte que receberam uma dieta com probióticos e enzimas tratadas em biodigestores contínuos.	91
Tabela 7. Composição química (N, P e K) dos afluentes, efluentes e % de nutrientes degradados de cama de frangos de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas tratadas em	93

biodigestores contínuos.

- Tabela 8.** Composição de fibras (FDN, FDA e lignina) dos afluentes, efluentes e % de fibras degradadas de cama de frangos de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas tratadas em biodigestores contínuos. 95
- Tabela 9.** Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes (NMP/100 mL) e eficiência do tratamento de cama de frangos de corte que receberam dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores contínuos em 30, 60 e 85 dias. 97
- Tabela 10.** Volume diário e acumulado, potencial de produção de biogás por ST e SV adicionados e reduzidos, de cama de frangos de corte que receberam dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores contínuos. 99
- Tabela 11.** Volume total e composição do biogás produzido de camas de frangos de corte que receberam uma dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores contínuos. 102

CAPÍTULO 5 – Efeito de probióticos e enzimas sobre a cama de frango tratadas em biodigestores bateladas

- Tabela 1.** Quantidade de substratos, em kg, adicionados aos biodigestores bateladas. 111
- Tabela 2.** Composição calculada das rações experimentais para a fase inicial, crescimento e final. 114
- Tabela 3.** Análise calculada dos níveis nutricionais das rações experimentais. 115
- Tabela 4.** Resultados de pH para afluentes e efluentes de camas de frangos de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas. 119
- Tabela 5.** Teores de ST nos afluentes e efluentes, e % de ST reduzido de camas de frangos de corte que receberam uma dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas. 120
- Tabela 6.** Teores de SV nos afluentes e efluentes, e % de SV reduzido de camas de frangos de corte que receberam uma dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas. 120
- Tabela 7.** Composição química (N, P e K) dos afluentes, efluentes % de nutrientes degradados de camas de frangos de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores batelada. 122
- Tabela 8.** Composição química (FDN, FDA e lignina) dos afluentes, efluentes % de nutrientes degradados de cama de frangos de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores batelada. 125
- Tabela 9.** Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes (NMP/100 ml) e eficiência do tratamento de camas de frango de corte que receberam uma dieta com probióticos e enzimas, em biodigestores bateladas. 127

Tabela 10. Volume total de biogás produzido e potencial de produção de biogás para ST e SV adicionados e reduzidos de camas de frango de corte, que receberam uma dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas.	129
Tabela 11. Volume total e composição do biogás produzido de cama de frangos de corte que receberam uma dieta com probióticos e enzimas tratadas em biodigestores bateladas.	132

CAPÍTULO 6 – A associação de probióticos e enzimas favorece a produção de biogás a partir de excretas de frangos de corte

Tabela 1. Quantidade de substratos adicionados aos biodigestores bateladas.	141
Tabela 2. Composição calculada das rações experimentais para a fase inicial, crescimento e final.	143
Tabela 3. Análise calculada dos níveis nutricionais das rações experimentais.	144
Tabela 4. Produção de excretas na matéria natural e matéria seca (g/ave/dia) de frangos de corte com 43 dias (criados em gaiolas por cinco dias) que receberam uma dieta com probiótico e enzimas.	150
Tabela 5. Metabolismo do nitrogênio, de frangos de corte, alimentados com probióticos e enzimas exógenas.	151
Tabela 6. Metabolismo do fósforo, de frangos de corte, alimentados com probióticos e enzimas exógenas.	151
Tabela 7. Resultados de pH para afluentes e efluentes de excretas de frangos de corte, que receberam dietas com probióticos e enzimas exógenas, tratadas em biodigestores bateladas.	152
Tabela 8. Teores de ST nos afluentes e efluentes, e % de ST reduzido de excreta de frangos de corte, que receberam uma dieta com probióticos e enzimas tratadas em biodigestores bateladas.	153
Tabela 9. Teores de SV nos afluentes e efluentes, e % de SV reduzido de excreta de frangos de corte, que receberam uma dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas.	153
Tabela 10. Composição química dos afluentes, efluentes % de nutrientes degradados de excretas de frangos de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas.	155
Tabela 11. Composição química dos afluentes, efluentes % de nutrientes degradados de excretas de frangos de corte que receberam dietas contendo probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas.	157
Tabela 12. Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes (NMP/100 ml) e eficiência do tratamento de excretas de frangos de corte, que receberam uma dieta com probióticos e enzimas em biodigestores bateladas.	159
Tabela 13. Volume total de biogás produzido e potencial de produção de biogás para ST e SV adicionados e reduzidos de excretas de frangos de corte que receberam uma dieta contendo probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores do tipo batelada.	161

Tabela 14. Volume total de biogás e composição do biogás produzido de 163 excretas de frangos de corte que receberam uma dieta com probióticos e enzimas tratadas em biodigestores do tipo batelada.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 4 - Efeito de probióticos e enzimas sobre a cama de frango tratada em biodigestores contínuos

- Figura 1.**Biodigestores experimentais dispostos em uma bancada (vista frontal) e respectivos gasômetros. 82
- Figura 2.**Biodigestor contínuo (vista lateral). 83
- Figura 3.**Produção semanal do biogás em m³. 100
- Figura 4.** Distribuição do metano em 13 semanas de produção (%). 103

CAPÍTULO 5 – Efeito de probióticos e enzimas sobre a cama de frango tratadas em biodigestores bateladas

- Figura 1.**Digestor tipo batelada de bancada. 112
- Figura 2.**Produção de biogás (m³) em 162 dias. 130
- Figura 3.**Distribuição do metano (%) em 162 dias. 133

CAPÍTULO 6 – A associação de probióticos e enzimas favorece a produção de biogás a partir de excretas de frangos de corte

- Figura 1.**Biodigestor tipo batelada de bancada. 141
- Figura 2.**Produção de biogás (m³) em 142 dias. 162
- Figura 3.** Distribuição do metano em 142 dias de produção em %. 164

PROBIÓTICO E ENZIMAS EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE: DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DA CAMA E EXCRETAS E PRODUÇÃO DE BIOGÁS

O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos de probióticos e enzimas em frangos de corte e sua ação sobre a cama e excretas na produção de biofertilizante e biogás. Foram utilizados 900 pintos de corte da linhagem Cobb 500[®], distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 9 repetições com 25 aves cada. Os tratamentos consistiram em diferentes tipos de dietas: T1: controle; T2: T1 + 500 ppm do probiótico contendo *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; T3: dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4: T3 + 500 ppm do probiótico. As características avaliadas foram o desempenho, o rendimento de carcaça e de partes, a morfometria intestinal, a densitometria óssea, a produção, a composição química e os potenciais de produção de biogás de cama (biodigestores do tipo contínuo e batelada) e excretas (biodigestores do tipo batelada) de frangos de corte. As camas e as excretas foram distribuídas em biodigestores com 4 repetições por tratamento. Foi realizada a análise de variância dos dados e em caso de significância estatística foi adotado o procedimento de comparação das médias pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. A adição de probiótico+enzima proporcionou a pior conversão alimentar, aumento da altura de vilosidades de todos os segmentos intestinais aos 21 dias de idade e reduziu a quantidade de lignina da fração fibrosa da cama de frangos. O tratamento contendo somente enzimas aumentou a altura das vilosidades aos 42 dias de idade, o volume de biogás, a produção de metano e potencial de produção de biogás por sólidos totais e voláteis adicionados e reduzidos quando as camas de frango foram tratadas em biodigestores contínuos. A composição mineral do metatarso e a densidade mineral da diáfise de aves de 21 dias de idade foram maiores nos tratamentos que continham somente probiótico (T2) e enzimas (T3). Os tratamentos que continham enzimas (T3 e T4) acarretaram redução a composição e a densidade mineral do metatarso (42 dias de idade), o volume de biogás, a produção de metano, e o potencial de produção de biogás por ST e SV adicionados de camas de frango tratadas em biodigestores batelada. A adição de aditivos (T2, T3 e T4) aumentou o rendimento de peito dos frangos, reduziu a quantidade de coliformes totais e termotolerantes e FDA (%) e FDN (kg e kg/kg de cama MS) nas camas de frango, e não interferiu na produção de excretas na MN e MS, % de MS, na disponibilidade de N e P, e na produção de biogás e metano, no entanto, a adição de aditivos, influenciou o potencial de produção de biogás por kg/ST e SV adicionados e reduzidos de excretas de frangos tratados em biodigestores batelada. Observou-se redução do pH, ST, SV, nutrientes e fração fibrosa quando se comparou o afluente das camas e das excretas com o efluente tratados em biodigestores. A eficiência de tratamento em biodigestores contínuos foi superior a 90% para coliformes fecais e termotolerantes, para o período de 85 dias para todos os tratamentos e para os biodigestores batelada foi de 100%. A suplementação de aditivos em rações acarretou resultados controversos, sendo que mais estudos são necessários para testar o efeito desses na produção animal.

Palavras-chaves: biodigestores, cama de frango, fitase, probiótico, protease, xilanase.

PROBIOTIC AND ENZYMES IN DIETS OF BROILERS: PERFORMANCE, CHARACTERISTICS OF POULTRY LITTER AND EXCRETA AND BIOGAS PRODUCTION

ABSTRACT – The main aim of this research was to evaluate broilers diet probiotic and enzymes addition and their action over excreta and poultry litter used for biofertilizer and biogas production. In a completely randomized design, there were used 900 lineage Cobb 500r broiler chicks on 4 treatments with 9 repetitions each one with 25 birds. Different diets composed the treatments: T1: control diet without additives; T2: T1 plus 500 ppm of probiotic containing *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*; T3: T1+ 20 ppm of phytase enzyme, 200 ppm of protease and xylanase; T4: T1+T2+T3. Broilers performance, carcass yield and its parts, intestinal morphology, bone densitometry, production, chemical composition and their biogas potential production of excreta (batch biodigesters) and poultry litter (continuous and batch biodigesters), were the characteristics evaluated. The excreta and poultry litter were used on biodigesters with 4 repetitions for each treatment. Data variance analysis was performed, in case of significance it was used Tukey Test for average comparison with a probability of 5 %. The worst feed was obtained with enzyme+probiotic addition, at 21st day of age allintestinal segments had their villi height increased, poultry litter had his lignin fiber fraction amount reduced. At the 42nd days old, villi heights increased using a treatment with a small amount of enzymes, biogas volume, methane production and biogas potential production for TS and VS added and reduced of poultry litter treated in continuous biodigesters. For birds with 21 days of age, it was found that the mineral composition of metatarsus and the diaphysis mineral density were hugger for treatments containing probiotic (T2) and enzyme (T3). Metatarsus mineral density (birds with 42 days old), biogas volume, methane production and biogas potential production for TS and VS added from poultry litters treated with batch biodigesters, had a reduction on their composition with enzyme treatments (T3 and T4). Broilers yield chest increased with the additives (T2, T3 and T4) addition, ADF (%) and NDF (kg and kg per kg of litter DM) thermotolorent and total coliforms on poultry litter were reduced, not interfering with excreta production on NM and DM, % of DM, N and P availability and biogas and methane production. Biogas potential production per Kg of TS and VS added and reduced of broiler excreta treated on batch biodigesters, was influenced by additives addition. Comparing nutrients and fiber fraction with the litter affluent and the excreta effluent treated with biodigesters, there was a pH, TS and VS reduction. For fecal and thermotolerant coliforms, continuous biodigesters treatment efficiencies were higher than 90%, for a period of 85 days for all treatments and 100% for the batch biodigesters. Diets controversial results were obtained with additives supplementation, being needed more researches to test those effects on animal production.

Keywords: biodigesters, poultry litter, phytase, probiotic, protease, xylanase.

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

1. Introdução

A avicultura brasileira é referência no fomento de tecnologia e produção, sendo a terceira produtora mundial de carne de frango (AVISITE, 2013). Como a alimentação representa o maior e mais importante fator na produção avícola, medidas para melhorar essas dietas vêm sendo motivo de destaque no setor. O aperfeiçoamento da biotecnologia permitiu o lançamento de produtos no mercado que, adicionados à ração, proporcionaram melhores índices de produtividade e eficiência alimentar em frangos de corte. Além de o setor avícola ser um grande produtor de proteína animal de baixo custo, tem-se também a alta produção de resíduos, sendo assim necessário buscar alternativas para o tratamento dos mesmos.

As pesquisas são em grande número na área de nutrição, no entanto, poucas são as pesquisas destinadas a influencia da dieta no tratamento desses resíduos, com a produção de energia. Visando a redução nos custos de produção, com a utilização de energia como alternativa no setor.

Um dos fatores que contribuíram para a obtenção da alta produtividade apresentada pela indústria avícola foi à utilização de aditivos nas dietas. O uso de aditivos, como antibióticos, probióticos, prebióticos, simbióticos e enzimas exógenas vêm sendo, bastante enfatizado na alimentação animal, pois podem contribuir com a melhoria do desempenho animal e possibilitar maior utilização de ingredientes de difícil degradação das dietas. No entanto, esses aditivos podem influenciar nas excretas das aves, a eliminação de nutrientes ao ambiente e influenciar diretamente o tratamento desses resíduos.

A adição de enzimas nas rações é uma ferramenta tecnológica que tem apresentado alta resposta zootécnica e econômica na produção de aves. As enzimas têm como principal função facilitar a digestão, sendo substâncias naturais envolvidas em todos os processos bioquímicos que ocorrem nas células vivas. De maneira resumida, são proteínas que atuam como catalisadoras dos processos biológicos, ou seja, aumentam a velocidade da reação bioquímica sem serem consumidas no processo. Assim a suplementação enzimática beneficia a digestão e

absorção dos nutrientes presentes nos ingredientes convencionais e não convencionais das dietas, remove ou destrói os fatores antinutricionais presentes nos grãos, aumentam a digestibilidade total da ração, melhora a digestibilidade dos polissacarídeos não amiláceos (PNA's) e aumenta o espaço para o ajuste da formulação da ração.

Em razão das dúvidas e indícios de que a utilização de antibióticos como promotores de crescimento na produção animal possa selecionar micro-organismos resistentes aos antibióticos utilizados na medicina humana, estão sendo impostas restrições e até mesmo o banimento desses produtos na alimentação animal. Consumidores atentos a esses fatos são levados a procurar produtos livres desses antibióticos. Como alternativas, existem no mercado diferentes produtos sugeridos para substituir os antibióticos como promotores de crescimento, entre eles, os mais importantes são os probióticos e os prébióticos.

Probióticos são descritos como micro-organismos vivos benéficos fornecidos na ração das aves como forma de melhorar o equilíbrio da microbiota intestinal. Esses probióticos são bactérias naturais do intestino, as quais, após ingestão em doses efetivas, são capazes de se estabelecer ou mesmo colonizar o trato digestório e manter ou aumentar a biota natural, prevenindo a colonização de micro-organismos patogênicos e assegurando melhor utilização dos alimentos (VANBELLE et al., 1990).

Com o crescimento da avicultura em grande escala, além da alimentação, a produção de dejetos também tem sido preocupação para o setor. Diante dessa evolução, os nutricionistas esforçam-se na busca de alternativas que tornem possível a formulação de rações mais eficientes, que causem baixo impacto ambiental e ao mesmo tempo, alternativas para o tratamento dos resíduos, gerados.

Os resíduos sólidos de frangos de corte incluem a cama ou crostas ao final de cada ciclo de produção e a animais mortos e podem ser tanto um recurso como um poluente. No entanto, o manejo adequado destes resíduos com altos conteúdos de nutrientes possibilita um impacto ambiental mínimo. Estes resíduos têm o potencial de poluir as águas superficiais e o lençol freático e podem aumentar os nutrientes minerais, as substâncias orgânicas que demandam oxigênio, materiais em

suspensão e em algumas ocasiões micro-organismos patogênicos (SEIFFERT, 2000).

A finalidade de toda tecnologia de manejo de resíduos é aproveitar os nutrientes disponíveis com mínimas perdas no ambiente durante o seu processo de aproveitamento. Estudos são necessários para que se saiba até que ponto eles podem ou não ser utilizados, e em que condições e dimensões são realmente viáveis.

A biodigestão anaeróbia é uma alternativa de tratamento de resíduos que tem merecido destaque, em função dos aspectos sanitários e com potenciais na geração de energia renovável, além de oferecer condições econômicas de reciclagem orgânica e de nutrientes.

O aproveitamento dos resíduos sob a forma de biogás (metano) é apenas uma das vantagens da biodigestão anaeróbia, podendo ser citados a redução de odores, eliminação de patógenos, redução da demanda bioquímica de oxigênio (DBO), produção de biofertilizante, baixa produção de lodo, baixos custos operacionais e de investimento e possibilidade de sistemas descentralizados de tratamentos. No entanto, pouco se sabe da influência da dieta na produção de biogás.

2. Revisão da Literatura

2.1 Enzimas

As enzimas são aditivos que não possuem função nutricional direta, mas auxiliam no processo digestivo melhorando a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta. São compostos protéicos que atuam em substratos específicos, dependentes de alguns fatores como temperatura, umidade e pH. As reações bioquímicas que ocorrem nos organismos vivos são catalisadas por algumas enzimas (CAIRES et al., 2008). Esses aditivos alimentares têm sido incorporados aos alimentos dos animais com o propósito de melhorar ou manter o seu desempenho e a rentabilidade, dependendo da forma que é utilizado.

Há quatro razões principais para adicionar enzimas na nutrição animal, como a remoção de fatores antinutricionais, o aumento na disponibilidade dos nutrientes, o

aumento na digestibilidade de polissacarídeos não amiláceos (PNAs) e a suplementação de enzimas endógenas (SHEPPY, 2001).

Os PNA's são essencialmente fibras não digestíveis, que pouco acrescentam ao valor nutritivo dos ingredientes e podem reduzir a disponibilidade geral dos nutrientes ao criarem um ambiente de difícil atuação das enzimas endógenas. As adições das enzimas para PNA's nas dietas potencializam a ação das enzimas endógenas, o que reflete em melhores índices zootécnicos, fezes mais secas e sem resíduos de ingredientes.

Os animais monogástricos, em geral, não possuem a capacidade endógena de digerir os PNAs. A utilização de enzimas exógenas se torna importante, pois estas hidrolisam os PNAs que podem ser potencialmente utilizados pelo animal, aumentando, por exemplo, o aproveitamento da energia presente nos alimentos, como a soja. Adicionalmente, ocorre a liberação do conteúdo celular que se torna disponível à digestão enzimática, aumentando, desta forma, a digestibilidade de alguns dos nutrientes presentes nos alimentos utilizados nas rações das aves. Outra consequência importante da utilização enzimática, é a redução do impacto negativo destes resíduos não digestivos sobre a viscosidade da digesta (BUCHANAN et al., 2007), pois é bem verdade que os PNAs têm um alto poder de retenção de água e conseqüentemente dificultam a ação enzimática, aumentando a carga de nutrientes não degradados.

Normalmente, as enzimas comerciais usadas como aditivos não contêm uma única enzima, e sim uma variedade de enzimas, o que é desejável, uma vez que as rações são compostas por vários ingredientes (CAMPESTRINI et al., 2005). Entretanto, pesquisadores têm demonstrado a possibilidade de utilização de complexos enzimáticos em rações à base de cereais com baixa viscosidade (milho, sorgo e farelo de soja), objetivando aumentar a utilização do amido e da proteína (FIALHO, 2003).

Garcia et al. (2000) avaliaram o efeito da suplementação de enzimas em rações com farelo de soja e soja integral extrusada sobre o desempenho de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade e concluíram que a adição de complexo multienzimático nas rações foi efetiva na melhoria da eficiência de utilização da energia metabolizável, da proteína e dos aminoácidos metionina, metionina+cistina e

lisina em 9, 7, e 5%, respectivamente. No entanto, Fischer et al. (2002) estudaram dietas à base de milho e farelo de soja, superestimadas em 5% de energia, proteína e aminoácidos, com e sem complexo multienzimático, observaram que o desenvolvimento das aves que consumiram dietas com enzimas não se igualou ao daquelas arraçadas com ração normal sem enzima.

Segundo Caires et al. (2008) estes aditivos alimentares vem sendo utilizados para melhorar a eficiência de produção dos animais devido ao aumento na digestibilidade dos produtos de baixa qualidade e também proporcionar uma redução na perda de nutrientes nas fezes, sendo possível baixar os níveis nutricionais da dieta com possíveis vantagens econômicas.

Han (1997) reportou melhoria de 4,8; 4,3 e 6,1% na digestibilidade aparente da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e proteína bruta (PB), respectivamente, com a adição de 0,1% de amilase. No entanto com a adição de dose superior das enzimas (1,0%), a digestibilidade dos nutrientes foi grandemente reduzida. A razão para o efeito negativo de concentrações muito altas de enzimas não foi estabelecida, porém o autor cita que este fato é relatado em outras pesquisas. Em outro estudo Choct (2001) verificou que o uso de enzimas exógenas melhorou a digestibilidade da matéria seca em 17%, a energia metabolizável aparente em 24% e a conversão alimentar em 31%, e ainda reduziu em 50% a viscosidade da digesta.

Kocher et al. (2003) verificou aumento da energia metabolizável aparente de dietas à base de milho e soja para frangos com a dosagem combinada de pectinase, protease e amilase somente quando as dietas basais apresentavam baixa proteína e energia. Utilizando a suplementação de alfa-amilase na dieta de pintos de frangos de corte, Garcia et al. (2003) verificaram que a digestibilidade fecal aparente do amido foi aumentada de 94,9% aos 7 dias para 97,1% aos 28 dias de idade dos frangos, melhorando a utilização de energia da dieta, assim como proporcionou maior consumo e menor conversão alimentar.

2.1.1 Fitase

De acordo com Wu et al. (2006) a fitase catalisa o fitato disponibilizando fósforo e outros elementos indisponíveis como o cálcio, o magnésio, o zinco, o ferro

e moléculas orgânicas, como os aminoácidos. Sendo expressa em uma unidade de atividade de fitase (FTU), que é definida pela quantidade de enzima que libera 1 micromol de fósforo inorgânico em 1 minuto num substrato de sódio-fitato a 37°C em pH 5,5.

Segundo Rutherford et al. (2002) a adição de fitase microbiana nas dietas de aves pode facilitar a ação enzimática e a absorção de minerais, e a digestibilidade de aminoácidos é aumentada consequentemente reduzindo assim o custo e os impactos ambientais, devido ao fato de as concentrações de nitrogênio e de fósforo nas excretas serem reduzidas.

Este aditivo apresenta aplicações dos mais variados tipos, uma vez que seu substrato está presente invariavelmente em dietas para aves e suínos e sua inclusão resulta em maior biodisponibilidade de fósforo e na redução da excreção deste mineral no ambiente. A utilização de fitase como aditivo em rações para animais vem sendo acelerada devido à proibição do uso de farinhas protéicas de origem animal, que também são fontes de fósforo. A capacidade desta enzima de liberar o fósforo fítico e reduzir a excreção para o meio ambiente está bem documentada; a fitase é uma forma eficiente e econômica de reduzir os níveis de fósforo dietético e, uma vez que as reservas naturais de fósforo não são renováveis, o seu uso seria benéfico, inclusive para a preservação de tais contingentes (SELLE; RAVIDRAN, 2007).

Wu et al. (2006) adicionaram fitase nas dietas para poedeiras deficientes em fósforo (0,11%), verificaram melhoria na digestibilidade dos aminoácidos e dos carboidratos.

A concentração de fósforo excretado decresceu em aproximadamente 50% em poedeiras de 20 a 70 de semanas de idade, alimentadas com dietas contendo 0,10% Pd e 300 FTU de fitase/kg de ração, quando comparadas com aves que consumiram 0,45% Pd sem suplementação de fitase (BOLING et al., 2000). Da mesma forma, Keshavarz (2003) utilizou 4 diferentes linhagens de poedeiras comerciais para avaliar o efeito de diferentes níveis de Pd (0,25; 0,20; 0,15 e 0,10%) e 3 níveis de suplementação da enzima fitase (0, 150 e 300 FTU de fitase/kg de ração), tendo como controle uma dieta com 0,45% de Pd sem fitase. O autor observou que a adição de 300 FTU de fitase/kg de ração nos níveis de 0,25; 0,20 e

0,15 determinaram redução de 55,6% na quantidade de fósforo excretado em todas as linhagens em relação à dieta controle.

O fitato, além de se ligar com minerais, tem a habilidade de se associar à proteína levando a um decréscimo da sua solubilidade, e conseqüentemente, redução na disponibilidade, e maior excreção de nitrogênio no meio ambiente, lembrando que o nitrogênio juntamente com o fósforo são considerados os principais elementos poluidores presentes nas excretas. Além disso, o fitato pode se ligar com proteases endógenas, como a tripsina e a quimiotripsina do trato gastrintestinal, inibindo a atividade dessas enzimas com conseqüente decréscimo da digestibilidade de aminoácidos e proteínas.

Neste contexto, alguns trabalhos foram realizados testando a eficácia da fitase em hidrolisar a ligação entre o fitato e a proteína, em sua maior parte com frangos de corte (SEBASTIAN et al., 1996; NAMKUNG; LEESON, 1999; ZHANG et al., 1999; TEJEDOR, 2000; RAVINDRAN et al., 2001; PETER; BAKER, 2001; RUTHERFURD et al. 2004), os quais muitas vezes apresentam resultados controversos.

Em experimentos com frangos de corte, Yu et al. (1994) observaram melhoria na absorção de nitrogênio quando as rações foram suplementadas com fitase. Também com frangos de corte, Sebastian et al. (1997), Namkung e Lesson (1999) e Rutherford et al. (2004) observaram que quando a fitase microbiana foi adicionada nas rações ocorreu melhora na digestibilidade para alguns aminoácidos essenciais e não essenciais. Entretanto, resultados de outros experimentos com dietas similares (ZHANG et al., 2000; PETER; BAKER, 2001), não evidenciaram melhora na digestibilidade ileal para nenhum aminoácido testado.

Conduzindo um experimento com frangos de corte na fase de 1 a 49 dias de idade, Fernandes et al. (2003) adotaram a matriz nutricional da fitase recomendada pelo fabricante no nível de 500 FTU de fitase/kg de ração em rações à base de milho e sorgo e constataram que os níveis nutricionais adotados nas dietas com fitase, dentro da equivalência nutricional proposta, proporcionaram resultados de desempenhos iguais aos do tratamento controle. Resultados similares foram obtidos por Shelton et al. (2004), que trabalhando com frangos de corte alimentados com três dietas, uma dieta controle e outras duas reduzindo os níveis nutricionais

conforme a matriz da enzima recomendada pelo fabricante no nível de 600 FTU de fitase/kg de ração, verificaram que o desempenho, porcentagem de cinzas na tíbia e qualidade da carne foram similares às aves que foram alimentadas com a dieta controle.

2.1.2 Protease

A proteína é o nutriente de maior custo em dietas de aves. Nos últimos anos, o aumento do custo do farelo de soja, utilizado como fonte protéica, tem levado a uma busca por maneiras de aperfeiçoar seu valor nutricional da dieta. Com isso a inclusão de proteases exógenas na dieta pode melhorar o valor nutricional através da hidrólise de certos tipos de proteínas que resistem ao processo digestivo através da complementação das enzimas digestivas das próprias aves.

Dada à importância protéica para o desenvolvimento animal e o alto custo da proteína na dieta, o uso de protease em dietas de monogástricos têm recebido cada vez mais atenção de pesquisadores. Apesar de dietas tradicionais de milho e farelo de soja sejam consideradas de alta digestibilidade (ODETALLAH et al. 2003), elas ainda possuem uma série de complexos protéicos que podem não ser facilmente digeríveis por aves jovens que nessa fase da vida são carentes enzimaticamente (UNI et al. 1999).

Pode-se citar como principal objetivo para o uso destes compostos enzimáticos a redução de proteína bruta da dieta, sem que haja alteração no desempenho zootécnico da ave (YU et al. 2007). Porém o efeito benéfico da adição enzimática torna-se limitado, quando estas são adicionadas acima da exigência de aminoácidos das aves. Para confirmar tal afirmação, Toledo et al. (2007) testaram um complexo enzimático, frente à dietas de diferentes densidades nutricionais e obtiveram melhora significativa apenas em dietas com níveis nutricionais reduzidos.

A suplementação com protease em dietas para frangos de corte produziu melhorias significativas no crescimento das aves (ODETALLAH et al., 2003). Isso pode se explicado porque com a inclusão de enzimas exógenas reduz a síntese das endógenas e em conseqüência disso o organismo teria à disposição, maior quantidade de aminoácidos para a síntese protéica.

De acordo com Wang et al., (2006) as proteases são recomendadas para a adição às dietas de frangos de corte, pois melhora o desempenho e o rendimento de carcaça, sendo seus efeitos mais pronunciados quando as dietas são formuladas com baixos níveis de aminoácidos essenciais ou de proteína total, de forma a minimizar as excreções de nitrogênio.

Segundo Jaroni et al. (1999) é de grande importância a presença de proteases em complexos enzimáticos que degradam polissacarídeos não-amiláceos, já que nestes casos as proteínas são importantes ligações principalmente para arabinoxilanos. Em contra partida, o uso de um único composto enzimático traz ao nutricionista a possibilidade da combinação de diferentes enzimas que não irão competir pelo mesmo substrato.

Brito et al. (2006) ao avaliar a interação entre a suplementação de enzimas exógenas (protease, celulase e amilase) e a soja extrusada na dieta de pintos de corte, de 1 a 21 dias de idade verificaram que essa adição melhorou o ganho de peso em 3,8% e a conversão alimentar em 4,2%. Esses dados demonstram a real eficiência conferida às aves alimentadas com enzimas exógenas em suas dietas, de modo a repercutir diretamente na redução nos custos de produção, pelo fato de se tornar possível a redução dos níveis energéticos e protéicos das rações com a inclusão das mesmas.

2.1.3 Xilanase

A incapacidade que os animais monogástricos têm em digerir a celulose e as hemiceluloses limita o valor econômico e nutricional dos cereais. Dietas com uma incorporação demasiadamente elevada destes alimentos provocam, por exemplo, vários distúrbios alimentares, que se revestem de maior gravidade em animais jovens e que afetam negativamente o seu desenvolvimento.

Xilanases são glicosidases responsáveis principalmente pela hidrólise das ligações β -1,4 presentes na xilana vegetal (componente da hemicelulose). Tendo em vista que as hemiceluloses são constituídas de vários polímeros, principalmente xilana, formados por diferentes resíduos de açúcares, a sua degradação completa necessita da ação cooperativa de um consórcio de enzimas microbianas específicas.

A enzima principal na despolimerização da xilana é a endo β -1,4 xilanase (COUGHLAN; HAZLEWOOD, 1993).

Brice e Morrison (1991) observaram aumento na digestibilidade de dietas quando se adiciona a enzima xilanase. O aumento na digestibilidade de rações animais é um processo que pode ser obtido pela aplicação das xilanases, uma vez que a hemicelulose é uma fibra insolúvel, e a sua ingestão, na forma integral, possui pouco valor nutricional para os animais não-ruminantes (KULKARNI et al., 1999).

Conte et al. (2003) avaliando a relação da xilanase com a fitase na dieta de frangos de corte, verificaram que a utilização da enzima xilanase não afetou de maneira significativa o peso vivo e o consumo de ração. Entretanto, as tendências de maior peso vivo e menor consumo de ração proporcionaram conversão alimentar significativamente melhor com a utilização de xilanase na dieta. Esse efeito incorporado pela adição de xilanase possivelmente confirma sua ação sobre a digestibilidade de nutrientes, como os PNAs, possibilitando um aumento da energia metabolizável das dietas.

Choct et al. (2004) reportou diferenças na capacidade de redução da umidade da excreta entre diferentes tipos de xilanases adicionadas em dietas de frangos à base de trigo, sendo denominadas xilanases A, B e C, com afinidade por PNAs solúveis e insolúveis, PNAs insolúveis e PNAs solúveis, respectivamente. A xilanase A reduziu de 77% para 73% a umidade da excreta, enquanto as xilanases B e C reduziram a umidade somente para 75 e 75,5%, respectivamente.

2.2 Probióticos

Na avicultura o uso de antibióticos é uma prática muito comum na prevenção de certas enfermidades, porém com o passar do tempo, o risco de aparecimento de resistência ao uso desses medicamentos, surgiu a necessidade alternativas para o uso destes aditivos.

Neste contexto surgiram os probióticos que são produtos constituídos por micro-organismos vivos, que quando introduzidos à dieta do animal, vão influenciar de forma positiva o hospedeiro através da melhoria do balanço microbiano intestinal (FULLER, 1989).

Segundo Fox (1988) e Jin et al. (1997) os probióticos agem por exclusão competitiva, ou seja, aderem a sítios específicos localizados no epitélio intestinal diminuindo assim, a colonização por micro-organismos patogênicos. Este mecanismo de exclusão competitiva não está totalmente esclarecido, mas através de várias pesquisas pode-se levantar algumas formas de atuação dos probióticos:

- Dentro do intestino, os micro-organismos do probiótico realizam uma rápida metabolização de substratos, que por ficarem indisponíveis aos patógenos, impedem sua proliferação.
- Provocam redução no pH intestinal, através da produção de ácido láctico, tornando o meio impróprio para a multiplicação de agentes patogênicos.
- Podem secretar proteínas (bacteriocinas) que possuem ação inibidora ou destrutiva contra uma cepa específica de bactéria.
- As bactérias produtoras de ácido láctico podem estimular a produção de anticorpos e a atividade fagocítica contra patógenos no intestino e em outros tecidos do corpo.
- Tem-se o aumento de atividade enzimática no trato gastrointestinal, devido as bactérias benéficas.
- Tem-se o aumento da área de absorção do intestino delgado.

Gibson e Roberfroid (1995) afirmam que um bom probiótico deve sobreviver às condições adversas do trato intestinal para que assim consiga permanecer no ecossistema intestinal; não pode ser tóxico nem patogênico para o homem e para os animais; ser estável durante a estocagem e permanecer viável por longos períodos, nas condições normais de estocagem e promover efeitos comprovadamente benéficos ao hospedeiro.

O ideal para o uso do probiótico é que ele seja utilizado o mais cedo possível nas aves, fazendo assim com que as bactérias presentes neste aditivo colonizem e multipliquem-se no trato intestinal das aves jovens, iniciando suas atividades benéficas ao hospedeiro antes desse ser contaminado por algum patógeno (ANDREATTI FILHO; SAMPAIO, 2000).

A utilização de aditivos como alguns probióticos baseados em *Lactobacillus* sp. (CHANG; CHEN, 2013) nas dietas de frangos tem resultado em reduções

significativas de amônia e odor das excretas das aves. Porém, outros pesquisadores não observaram efeitos significativos destes aditivos (ULLMAN et al., 2004).

2.2.1 Bactérias do Gênero *Bacillus*: uma abordagem geral

O gênero *Bacillus sp.* pertence ao grupo de bactérias aeróbias ou facultativas, grampositivas, saprófitas e formadoras de endosporos, as quais podem ser isoladas do solo e/ou de plantas em todo o mundo. Muitos *Bacillus sp.* são organoheterotróficos e utilizam uma considerável gama de compostos orgânicos simples (açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos) como substratos para o seu metabolismo. A maioria é mesófila, com temperatura ótima para crescimento entre 30 e 45°C; no entanto, algumas espécies termófilas crescem em temperaturas superiores à 65°C (SNEATH, 1986).

Muitos *Bacillus sp.* crescem em meio simples e produzem enzimas hidrolíticas extracelulares, tais como proteases, amilases, além de mananases e glucanases, que degradam polímeros complexos, principalmente polissacarídeos, dependendo das condições do meio de cultura utilizado (SHUMI et al., 2004). Segundo Pérez et al. (2007), algumas espécies, tais como, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. cereus* e *B. clausii*, são grandes produtoras de enzimas extracelulares e endosporos e têm sido amplamente utilizadas como probióticos em animais e humanos. Pandey et al. (2000) reportaram que não existe um meio ideal para a produção de enzimas por espécies de *Bacillus*, sendo esse dependente das características fisiológicas e exigências nutricionais inerentes a cada espécie desse gênero.

Existe ampla diversidade na fisiologia deste gênero, incluindo a degradação de diversos tipos de substratos derivados de plantas e animais como fontes de carbono, tais como, celulose, amido, pectina, proteínas, hidrocarbonetos e outros (THE GENUS BACILLUS, 2005). Em função das características de não patogenicidade das bactérias do gênero *Bacillus*, essas podem ser amplamente utilizadas industrialmente (VEITH et al., 2004).

Atualmente diversas enzimas de importância econômica são produzidas industrialmente por meio do cultivo de *Bacillus sp.* Estima-se que mais de 300 toneladas de enzimas, principalmente proteases, são produzidas anualmente a partir do cultivo de espécies dessas bactérias (PÉREZ et al., 2007). Adicionalmente,

bactérias do gênero *Bacillus* também encontram aplicação na indústria de bioinseticida, no tratamento de água (REIS, 2004) e na produção de antibióticos, tais como, bacitracina, poliximina, tirocidina, gramicidina e circulina (THE GENUS BACILLUS, 2005).

2.2.2 *Bacillus subtilis*

Os organismos da espécie *Bacillus subtilis* são gram-positivos, saprófitos e não são patogênicos, por tolerarem condições ambientais atípicas podem ser encontrados tanto no solo como na água. Tendo em vista que o *Bacillus subtilis*, não é um patógeno humano e apresenta melhorias ao hospedeiro, é um aditivo que tem sido cada vez mais utilizado na avicultura, podendo ser utilizado como probiótico e como método de tratamento de cama de frango contendo excretas, para diminuir a carga microbiológica, que consiste no princípio da inibição competitiva.

A literatura cita vantagens na utilização do gênero *Bacillus* sobre as outras bactérias utilizadas como probiótico. Esta vantagem reside basicamente em sua capacidade de esporular, conferindo maior sobrevivência durante o trânsito estomacal (HOA et al., 2000) e durante a elaboração, transporte e armazenamento das rações (GIL TURNES et al., 1999). Estes probióticos promovem o ganho de peso e o controle de diarreias, e reduzem a mortalidade perinatal em suínos (ZANI et al., 1998) e em frangos de corte (RICHTER et al., 1999). Cuevas et al. (2000) comprovaram aumento do ganho de peso e diminuição significativa da mortalidade pela síndrome de ascítica em frangos de corte e Lohnert et al. (1999), aumento no ganho de peso de 10% em terneiros machos suplementados com este probiótico.

O *Bacillus subtilis* quando adicionado isolado ou associado à enzimas e outros agentes em dietas de aves, tem a finalidade de auxiliar as bactérias produtoras de ácido láctico na sua colonização (MARUTA, 1993), provocando redução no pH intestinal, tornando o meio impróprio para a multiplicação dos agentes patogênicos. Conseqüentemente aumentam a atividade enzimática e a área de absorção no trato gastrintestinal, melhorando a eficiência alimentar e o ganho protéico dos animais.

Maruta (1993) observou que com a administração do *Bacillus subtilis* em granjas de frangos de corte, houve hipertrofia muscular, diminuição da quantidade

de gordura abdominal, principalmente nos machos, redução de odor característico da carne de frango e das excretas. Sobre as bactérias nocivas ao trato gastrintestinal, o autor verificou a redução da frequência de isolamento da *Salmonella sp.* de 60 para 20%.

Em um estudo realizado por Roll et al. (2008) matrizes de frango de corte com 58 semanas de idade tiveram a cama trocada por nova para então receber a aplicação de um produto formulado com cepas de *Bacillus subtilis* em dois níveis de 2,5 g/m² (subdosagem) e 5,0 g/m² de cama (dosagem recomendada), comparado com a cama controle na qualidade microbiológica de enterobactérias. Evidenciou-se melhor qualidade microbiológica da cama, ao final de quatro semanas de utilização da cama, devido à menor contagem logarítmica de enterobactérias, apresentando redução de 13% comparando a dosagem recomendada com à cama controle (2,89 versus 3,31log₁₀ UFC, respectivamente). As bactérias inoculadas aceleraram o processo de degradação dos dejetos e sua atividade inibiu a sobrevivência e multiplicação de bactérias patogênicas.

O efeito de inativação de micro-organismos tem sido atribuída ao efeito químico de liberação de enzimas proteolíticas (GUAN et al., 2009) e nucleases (VELAYUDHAN et al., 2003), que são produzidas pela a atividade microbiológica que se instala em materiais como a cama de frango.

Além dos efeitos mencionados, bactérias do gênero *Bacillus* podem estimular a resposta imune e serem utilizadas como imunomoduladores. O *Bacillus firmus* aumentou a resistência contra a infecção experimental por *Listeria monocytogenes* em camundongos (MÁRA et al., 1994). Beliavskaia et al. (2001) demonstraram que *Bacillus subtilis* recombinante evitou a imunossupressão causada pelas vacinas replicantes contra Parvovirus e Cinomose, acelerando a formação de clones de memória e aumentando a resposta imune específica devido à ação do interferon α2 secretado pela bactéria no interior do lúmen intestinal. Conceição et al. (2002) demonstraram que o probiótico CenBiot estimulou a resposta imune humoral a uma bacterina de *Escherichia coli* em camundongos e Coppola et al. (2005) comprovaram que este probiótico aumentou significativamente a resposta imune de camundongos a uma vacina replicante de Parvovirus canino.

2.2.3 *Bacillus licheniformis*

Bacillus licheniformis, é uma bactéria identificada como não-patogênica, é classificada como GRAS (Generally Recognized As Safe) pelo U.S. Food and Drug Administration na produção de alfa-amilase. Segundo a U.S. Environmental Protection Agency (2003), pesquisas realizadas com a cepa de *Bacillus licheniformis* SB3086 evidenciaram a não ocorrência de danos à saúde de humanos e ratos, embora tivessem sido observados problemas relacionados à reprodução em animais domésticos.

Segundo Veith et al. (2004), *Bacillus licheniformis* se encontra amplamente distribuído na natureza, principalmente no solo associado com plantas e materiais de plantas, bem como próximo a esse local pela alta resistência de seus endosporos que são disseminados com a poeira.

Bacillus licheniformis tem sido utilizado nas fermentações industriais por várias décadas para produção de enzimas comerciais, antibióticos e produtos químicos diversos, como ácido acético e substituto de L-triptofano (GHERNA et al., 1989).

Segundo Schallmey et al. (2004), *Bacillus licheniformis* é amplamente empregado na obtenção de proteases, as quais são utilizadas industrialmente na produção de detergentes. Por outro lado, amilases, são enzimas responsáveis pela hidrólise do amido em dextrina e oligossacarídeos solúveis, são empregadas na indústria alimentícia, têxtil, farmacêutica e de adesivos (KENNEDY, 1987).

Extrato enzimático obtido pela ação fermentativa de *Bacillus licheniformis* pode ser utilizado na hidrólise de parede celular de leveduras, como *Saccharomyces cerevisiae*, a qual é um subproduto proveniente do processo cervejeiro e de usinas de álcool. O hidrolisado da parede de levedura é rico em polissacarídeos complexos, principalmente β glucanas e mananas, os quais apresentam efeito prebiótico (MAIORKA et al., 2001). Adicionalmente, estes autores relataram que o hidrolisado pode também ser utilizado como nutriente por espécies de *Bacillus*.

Flemming e Freitas (2005) conduziram um experimento com 2400 aves com o objetivo de avaliar o efeito da adição de probióticos (*Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*), probiótico acrescido de mananoligossacarídeos (MOS), promotor de crescimento (avilamicina) e uma dieta controle sem aditivos na alimentação dessas

aves. Os resultados mostraram que a adição do probiótico acrescido de MOS acarretou aumento significativo no ganho de peso durante a fase inicial do tratamento. Segundo estes autores, os melhores resultados em termos de ganho de peso e conversão alimentar evidenciado pela adição do probiótico comparativamente ao grupo de aves alimentadas com antibiótico e ao grupo controle se devem a um melhor equilíbrio entre os microrganismos (*Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*).

2.3 Cama de frango

A cama é o material distribuído sobre o piso dos galpões para servir de leito das aves, absorver a umidade, servir como isolante térmico, e absorver o impacto do peso da ave (PAGANINI, 2004). Geralmente é utilizado material suficiente para ter camas com 5 a 15 cm de espessura. Entre os materiais mais comuns tem-se a maravalha, o pó de serra, a casca de arroz, o sabugo de milho triturado, as palhadas de culturas em geral e os fenos de gramíneas. Nos sistemas de produção de aves, as práticas de manejo dos frangos de corte influem na qualidade da cama e nas emissões de gases da cama e conseqüentemente influenciam no impacto ambiental.

A cama de aviário era um ingrediente da ração de ruminantes intensamente utilizados pelos pecuaristas. A partir da Instrução Normativa Nº 15, de 17 de julho de 2001, no seu 2º artigo (DOU de 18-07-01) proibiu-se a produção, comercialização e uso da cama de aviário com esta finalidade.

Esta decisão foi tomada porque este resíduo pode conter ingredientes de origem animal provenientes da ração desperdiçada dos comedouros pelos frangos, sendo possível que os bovinos, ao ingerirem esta cama, passem a ser portadores da doença conhecida como encefalite espongiiforme bovina (síndrome da vaca louca). Como a imagem que o Brasil estava defendendo no comércio exterior era de que a carne bovina brasileira era produzida sem a presença de ingredientes de origem animal, a utilização da cama de aviário contrariava esta imagem. Além deste aspecto, outros inconvenientes do uso da cama de aviário na alimentação de ruminantes são apontados por Oliveira (1997) e Ortolani e Brito (2001), cuja presença de toxinas produzidas por bactérias (toxina botulínica produzida por *Clostridium botulinum* e aflatoxinas produzidas por *Aspergillus flavus* ou *A. fumigatus*

quando o material usado no piso do galpão é a casca de amendoim), hipocalcemia, algumas enfermidades infecciosas produzidas por *Salmonella sp.* e coliformes, a intoxicação por cobre, amônia, resíduos de substâncias químicas e os acidentes pela presença de corpos estranhos.

Nos últimos anos a cama de aviário tem sido produzida em grandes quantidades, onde o principal destino que tem sido dado à cama é a sua aplicação como fertilizante do solo. Normalmente os agricultores aplicam a cama de aviário nas suas lavouras para poder limpar os aviários. Nesse sentido, o solo tem sido um receptor terminal deste resíduo. As necessidades nutricionais das culturas e a otimização da aplicação para aproveitamento máximo dos nutrientes pelas culturas, critérios que deveriam prevalecer quando se aplica qualquer fertilizante no solo, geralmente não são respeitados. Desequilíbrios químicos, físicos e biológicos no solo, o risco de toxicidade às plantas e as perdas de nutrientes por erosão e lixiviação podem causar a poluição dos recursos hídricos e são sintomas da utilização inadequada deste e de outros resíduos.

Uma alternativa para a cama é a produção de energia através da biodigestão anaeróbia, sendo uma forma de minimizar gastos com granja e produzir fertilizantes de alta qualidade, buscando uma propriedade sustentável com produção de energia limpa.

2.4 Biodigestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo biológico que ocorre na ausência de oxigênio livre, sendo que diversas populações de bactérias degradam a matéria orgânica até a forma de metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2) (DEMIRER; CHEN, 2005; NOGUEIRA, 1986).

A mistura de gases provenientes deste processo é conhecida como biogás que pode ser utilizado como combustível devido à sua alta concentração de CH_4 , usualmente na faixa de 55 a 70% (NOGUEIRA, 1986).

A biodigestão anaeróbia ocorre em três fases: a hidrólise enzimática, acidogênese e metanogênese. Alguns autores citam uma quarta fase que faria a intermediação entre a acidogênese e a metanogênese, sendo a acetogênese (SPERLING et al., 2001)

Segundo Souza (2010) a hidrólise, envolve transformações de compostos complexos em compostos solúveis, como a dos compostos com alto peso molecular (carboidratos, proteínas, lipídios e ácido nucléico) em compostos mais simples (como monossacarídeos, aminoácidos e ácidos graxos), mediante a ação de enzimas extracelulares.

Na acidogênese ocorre a transformação dos produtos resultantes da fase anterior em ácido acético, hidrogênio, dióxido de carbono e outros ácidos orgânicos, que se dá por outro grupo de micro-organismos (bactérias saprófilas). A maioria das bactérias nessa fase se constitui em espécie anaeróbia estritas além das facultativas.

Na metanogênese, o ácido acético, o hidrogênio e o dióxido de carbono, são transformados em uma mistura de metano e dióxido de carbono pelas *Archeas metanogenicas*. Dentre as *Archeas metanogenicas*, destacam-se as que utilizam o acetato (*Methanosarcina spp* e *Methanotrix spp*) e as que utilizam o formiato e o hidrogênio (*Methanobacterium spp.* e *Methanococcus spp.*). Esta fase é responsável pela limitação da velocidade da cadeia das reações, devido à formação de microbolhas de metano e dióxido de carbono em torno das *Archeas metanogenicas*, isolando-a do contato direto com a mistura em digestão (MIRANDA et al., 2009).

2.4.1 Benefícios da biodigestão

Devido à biodigestão anaeróbia ser um processo biológico (DEMIRER; CHEN, 2005; NOGUEIRA, 1986), pode-se concluir que trará benefícios e vantagens pelos produtos provenientes do mesmo. Representando um importante papel que além de permitir a redução do potencial poluidor, também não há geração de calor e nem volatilização dos gases no processo levando em consideração o pH próximo à neutralidade é mínima, ocorre ainda a recuperação de energia na forma de biogás e a reciclagem do efluente na forma de biofertilizante (FISHER et al., 1979; LUCAS JÚNIOR, 1998).

- **Biogás:** de acordo com Souza (2010) o biogás é constituído basicamente de 60 a 70% de metano (CH₄) e de 30 a 40% de dióxido de carbono (CO₂), além de traços O₂, N₂ e H₂S, de acordo com a forma que é produzido. O gás liquefeito de petróleo (GLP), a gasolina e o óleo diesel em motores estacionários de

combustão interna, sistemas de geração de energia elétrica ou térmica e até a lenha ou óleo combustível em caldeiras podem ser substituídos pelo biogás. Em termos de equivalência energética, 1,63; 1,80; 1,26 e 0,70 m³ de biogás são equivalentes a 1 L de gasolina, óleo diesel e álcool combustível e 1 KWh de energia elétrica, respectivamente (TEIXEIRA, 2003).

- **Biofertilizante:** o material que se encontra na câmara de fermentação, o qual já foi degradado será descartado para que o sistema seja abastecido por nova carga, este efluente possui grande quantidade de nutrientes e é utilizado como fertilizante orgânico, nas lavouras nos sistemas de irrigação. Os odores desagradáveis presente nos dejetos que abastecem o biodigestor não está presente no biofertilizante, que também é isento de micro-organismos patogênicos. Este produto em contato com o solo favorece a multiplicação de bactérias fixadoras de nitrogênio e devido o pH na faixa de 7,0 a 8,5 o biofertilizante corrige a acidez do solo e contribui para aumentar a produtividade (SGANZERLA, 1983).

2.4.2 Tipos de biodigestores

Atualmente são propostos diversos modelos de biodigestores com diferenças tecnológicas, que dependem das condições locais, tipo do substrato, experiência do condutor e principalmente da relação custo x benefício (DEGANUTTI et al., 2002). Porém um biodigestor consiste basicamente por duas partes: um recipiente (tanque) no qual será depositada a matéria orgânica para que ocorra a decomposição e o gasômetro (campânula) onde o biogás será armazenado. Barrera (1993) define bem este conceito: “o biodigestor, como toda grande idéia, é genial por sua simplicidade”.

Segundo Costa (2005) os modelos de biodigestores utilizados no Brasil são os de bateladas quando o resíduo é obtido com periodicidade, e os contínuos, indiano e o chinês para os casos de produção de resíduos diários.

- **Contínuos:** Existem vários modelos de biodigestores de alimentação contínua, a diferença entre eles está no modelo de construção e operação. Estes modelos de biodigestores realizam a carga e a descarga do material orgânico pelo princípio de vasos comunicantes ou através de bombas hidráulicas. A alimentação não é de forma constante, mas em intervalos regulares de tempo. A concentração de sólidos totais deve ser de até 8%, para evitar obstrução do tubo de carga e facilitar a circulação da biomassa. Em geral, biodigestores deste modelo são ideais para

atender propriedades que produzem dejetos em curtos períodos de tempo, por exemplo, na suinocultura e em granjas de postura (NOGUEIRA, 1986; SGANZERLA, 1983). A carga regular de matéria orgânica no biodigestor faz com que o substrato esteja em várias etapas no processo, com presença simultânea de culturas microbianas distintas, respectivas de cada fase do processo de biodigestão. A adição periódica de carga orgânica assegura uma produção constante de biogás e de biofertilizante. Os biodigestores de sistemas contínuos mais difundidos no mundo são: o modelo Indiano e o modelo chinês, sendo que hoje vem sendo utilizado o modelo tubular. Ambos possuem caixa de carga e descarga diferenciando-se apenas pela câmara de fermentação.

Batelada: O biodigestor do tipo batelada recebe em uma única vez a quantidade de resíduos orgânicos a ser tratado. A biomassa permanece nesse reservatório fechado até que o ciclo da digestão anaeróbia esteja completo. O fim da produção de biogás indica que o ciclo está completo e o biodigestor está apto para receber uma nova carga de matéria orgânica. Nesse sistema só haverá produção constante de biogás quando houver vários biodigestores operando em série. Trata-se de um dos modelos mais simples de biodigestores. Este sistema é composto de uma única câmara de fermentação, normalmente feita em alvenaria, e por um gasômetro móvel. Este sistema requer baixa operacionalidade e pode ser alimentado tanto com dejetos diluídos em água quanto resíduos vegetais sólidos, sendo usado, principalmente, para matérias orgânicas de decomposição lenta (NOGUEIRA, 1986; SGANZERLA, 1983).

2.5 Cama de frango vs biodigestão anaeróbia

A cama de aviário está sendo produzida em grande quantidade, devido ao crescente aumento da avicultura de corte nos últimos anos. Este crescimento da produção tem como uma de suas bases a alta tecnificação dos galpões, o que significa maior dependência energética e econômica destes sistemas. A biodigestão, ou digestão anaeróbia, se mostra como uma boa alternativa, por apresentar melhores resultados com os resíduos

As camas de frangos podem ser utilizadas para produção de biogás (LUCAS; SANTOS, 2000) ou como combustível para geração de energia elétrica

(FIBROWATT, 2005). O biogás é constituído por 60% CH₄, 38% CO₂ e 2% da mistura entre vapor de água, NH₃ e H₂S, sendo que estes dados podem variar dependendo do substrato utilizado na biodigestão.

Conforme relata Coldebella (2006), a utilização do biogás como insumo energético, deve-se principalmente ao gás metano (CH₄), estando este último, puro e em condições normais de pressão e de temperatura, pode obter um poder calorífico de aproximadamente 9,9kWh/m³, ainda o biogás, como produto final, com um teor de metano entre 50 e 80%, terá um poder calorífico entre 4,95 e 7,92 kWh/m³.

O biogás pode ser utilizado como fonte de energia na granja para queimar em aquecedores ou combustível de motores de combustão interna para geração de energia elétrica. Os efluentes da fermentação anaeróbia e os resíduos sólidos deste processo podem ser utilizados como fertilizantes.

Existem diversos modelos de biodigestores e condições de operação (LUCAS; SANTOS, 2000). No entanto, poucos produtores utilizam digestão anaeróbia como método de tratamento de resíduos avícolas devido aos custos de instalação, dificuldades no pré-tratamento e na operação dos fermentadores (TURNELL et al., 2007). Porém, com os altos custos do gás propano e a necessidade de encontrar alternativas de energia renovável, existe interesse em retomar esta tecnologia na granja.

Os aditivos podem melhorar o aproveitamento dos alimentos e reduzir a excreção de nutrientes. No entanto, poucos estudos têm sido realizados para avaliar as características da cama quando se utilizam aditivos nas dietas. Além disso, pouco se conhece sobre a ação dos mesmos sobre a cama e produção de biogás. No presente estudo vem-se buscar alternativas para melhorar o desempenho animal, buscando reduzir o impacto ambiental tratando as camas em biodigestores e ainda avaliando a influência dos mesmos sobre a produção de biogás e conseqüentemente sua qualidade para gerar energia limpa.

3. Objetivos gerais

O presente estudo avaliou o desempenho, o rendimento de carcaça e de partes, a morfometria intestinal, a densitometria óssea, a biodisponibilidade de

nitrogênio e de fósforo, a análise das excretas e da cama de frangos de corte e seu potencial de produção de biogás, em aves alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas (fitase, xilanase e protease) e um probiótico contendo *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*.

4. Referências

ANDREATTI FILHO, R. L.; SAMPAIO, H. M. Probióticos e prebióticos. **Avic. Ind.**, São Paulo, v. 90, n. 1078, p.1632, 2000.

AVISITE. **Ubabef defende instalação de Marco Regulatório para Integração.** Disponível em: <<http://avisite.com.br/clipping/index.php?codclipping=18922>>. Acesso em 25 de janeiro de 2013.

BARRERA, P. **Biodigestores:** energia, fertilidade e saneamento para a zona rural. São Paulo: Ícone, 1993. p. 11.

BELIAVSKAIA, V. A.; IGNAT'EV, G. G.; CHERDYNTSEVA, N. V.; LITVIAKOV, N. V. Adjuvant properties of subalin, a recombinant interferon-producing probiotic. **Zhurnal Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.**, Moskva, v. 78, n. 6, p. 77-82, 2001.

BOLING, S. D.; DOUGLAS, M. W.; SHIRLEY, R. B.; PARSONS, C. M.; KOELKEBECK, K. W. The effects of various dietary levels of phytase and available phosphorus on performance of laying hens. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 79, n. 3-4, p. 535-538, 2000.

BRICE, R. E.; MORRISON, I. M. Effect of the addition of D-xylose on xylanase activity and digestibility of fiber in an artificial rumen. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, Totowa, v. 30, n. 1, p. 9-15, 1991.

BRITO C. O.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; DIONIZIO, M. A.; CARVALHO, D. C. O. Adição de complexo multienzimático em dietas à base de soja extrusada e desempenho de pintos de corte. **Rev. Bras. Zootec.**, Viçosa, v. 35, n. 2, p. 457-461, 2006.

BUCHANAN, N. P.; KIMBLER, L. B.; PARSONS, A. S.; SEIDEL, G. E.; BRYAN, W. B., FELTON, E. E. D.; MORITZ, J. S. The effects of nonstarch polysaccharide enzyme addition and dietary energy restriction on performance and carcass quality of organic broiler chickens. **J. Appl. Poultry Res.**, Champaign, v. 16, n. 1, p. 1-12, 2007.

CAIRES, E. F.; GARBUIO, F. J.; CHURKA, S.; BARTH, G.; CORRÊA, J. C. L. Effects of soil acidity amelioration by surface liming on no-till corn, soybean, and wheat root growth and yield. **Eur. J. Agron.**, Amsterdam, v. 28, n. 1, p. 57-64, 2008.

CAMPESTRINI E.; SILVA, V. T. M.; APPELT, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Rev. Eletrôn. Nutritime**, v. 2, n. 6, p. 254-267, 2005. Disponível em:<http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/027V2N6P259_272_NOV_2005.pdf>.

CHANG, H. T.; CHEN, J. L. **Eco-innovative examples for 40 TRIZ inventive principles.** 2003. Disponível em:<<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.200.3221&rep=rep1&type=pdf>>. Acesso em: 20 set. 2013.

CHOCT, M. Enzyme supplementation of poultry diets based on viscous cereals. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. (Ed.). **Enzymes in farm animal nutrition.** 2nd. ed. Oxford, CAB Publishing, 2001. 329 p.

CHOCT, M.; KOCHER, A.; WATERS, D.L.E. A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v.92, p.53–61. 2004.

COLDEBELLA, A. **Viabilidade do uso do biogás da bovinocultura e suinocultura para geração de energia elétrica e irrigação em propriedades rurais.** 2006. 73 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Sistemas Agroindustriais) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2006.

CONCEIÇÃO, F. R.; ZANI, J. L.; GIL-TURNES, C. Effect of probiotic CenBiot on the humoral response to an *Escherichia coli* bacterin. **Food Agric. Immunol.**, Basingstoke, v. 14, n. 2, p. 135-140, 2002.

CONTE, A.J.; TEIXEIRA, A. S.; FIALHO, E. T.; SCHOUTEN, N. A.; BERTECHINI, A. G. Efeito da fitase e xilanase sobre o desempenho e as características ósseas de frangos de corte alimentados com dietas contendo farelo de arroz. **Rev. Bras. Zootec.**, Viçosa, v. 32, n. 5, p. 1147-1156, 2003.

COPPOLA, M. M.; CONCEIÇÃO, F. R., GIL-TURNES, C. Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the humoral and cellular response of mice to vaccines. **Food Agric. Immunol.**, Basingstoke, v.16, n. 3, p. 213-219, 2005.

COSTA, M. S. S. M. **Caracterização de dejetos de novilhos superprecoces: reciclagem energética e de nutrientes.** 2005. 126 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Área de Concentração em Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

COUGHLAN, M. P.; HAZLEWOOD G. β -1,4-D-Xylan-degrading enzyme systems: Biochemistry, molecular biology and applications. **Biotechnol. Appl. Biochem.**, Oxford, v. 17, pt. 3, p. 259-289, 1993.

CUEVAS, A. C.; GONZALES, E. A.; HUGUENIN, T. C.; DOMINGUEZ, S. C. El efecto del *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorda. **Vet. Méx.**, México, v. 31, n. 4, p. 301-308, 2000.

DEGANUTTI, R.; PALHACI, M. C. J. P.; ROSSI, M. TAVERES, R.; SANTOS, C. **Biodigestores rurais**: modelo indiano, chinês e batelada. In: ENCONTRO DE ENERGIA MEIO RURAL, 4., 2002, São Paulo. **Anais eletrônicos...** São Paulo: Faculdade de Arquitetura, Artes e Comunicação, 2002.

DEMIRER, G. N.; CHEN, S. Two-phase anaerobic digestion of unscreened dairy manure. **Process Biochem.**, London, v. 40, n. 4, p. 3542-3549, 2005.

FERNANDES, E. A.; HONSI BRANDEBURGO, M. I.; SILVEIRA, M. M.; MARCACINE, B. A. Avaliação da adição de fitase em dietas de frangos de corte. **Rev. Bras. Ciên. Avíc.**, Campinas, v. 5, supl., p. 33, 2003.

FIALHO, E. T. Alimentos alternativos para suínos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 2003, Itapetinga, SP. **Anais...** p. 35-98.

FIBROWATT USA. **Power from poultry litter**. Disponível em <<http://www.fibrowattusa.com/http://www.bensonmn.org/fibrominn/flyer.pdf>>. Acesso em: 28 fev. 2005.

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

FISCHER, J. R.; IANNOTTI, E. L.; PORTER, J. H.; GARCIA, A. Producing methane gas from swine manure in a pilot-size digester. **Trans. ASAE**, St. Joseph, v. 22, n. 2, p. 370-374, 1979.

FOX, S. M. Probiotics: intestinal inoculants for production animals. **Vet. Med.**, Lenexa, v. 83, n. 8, p. 806-829, 1988.

FULLER, R. Probiotics in man and animals: a review. **J. Appl. Bacteriol.**, Chichester, v. 66, n. 5, p. 365-378, 1989.

GARCIA, E. R. M.; MURAKAMI, A. E.; BRANCO, A. F.; FURLAN, A. C.; MOREIRA, I. Efeito da suplementação enzimática em rações com farelo de soja e soja integral extrusada sobre a digestibilidade de nutrientes, o fluxo de nutrientes na digesta ileal e o desempenho de frangos. **Rev. Bras. Zootec.**, Viçosa, v. 29, n. 5, p. 1414-1426, 2000.

GARCIA, M. I.; ARANÍBAR, M. J.; LÁZARO, R.; MEDEL, P.; MATEOS, G. G. α -amilase supplementation of broiler diets based on corn. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 82, p. 436-442, 2003.

GHERNA, R., PIENTA, P. & COTE, R. **American Type Culture Collection (ATCC) Catalogue of Bacteria and Phages**, 17th edn, p.15, 1989.

GIBSON, G. R; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. **J. Nutr.**, Bethesda, v. 125, n. 6, p. 1401-1412, 1995.

GIL-TURNES, C.; SANTOS, A. F. dos; CRUZ, F. W.; da; MONTEIRO, A. V. Properties of the *Bacillus cereus* strain used in probiotic CenBiot. **Braz. J. Microbiol.**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 11-14, 1999.

GUAN, J.; CHAN, M.; GRENIER, C.; WILKIE, D. C.; BROOKS, B. W.; SPENCER, J. L. Survival of avian influenza and Newcastle diseases viruses in compost and at ambient temperatures based on virus isolation and real-time reverse transcriptase PCR. **Avian Dis.**, Jacksonville, v. 53, n. 1, p. 26-33, 2009.

HAN, Z. Effect of enzyme supplementation of diets on the physiological function and performance of poultry. In: MARQUARDT, R. R.; Han, Z. (Ed.). **Enzymes in poultry and swine nutrition**. [S. l.]: IDRC, 1997.

HOA, N. T.; BACCIGALUPUI, L.; HUXHAM, A.; SMERTENKO, A.; VAN, P. H.; AMMENDOLA, S.; RICCA, E.; CUTTING, A. S. Characterization of *Bacillus* species used for oral cacteriotherapy and bacterioprohylaxis of gastrointestinal isorders. **Appl. Environm. Microbiol.**, Washington, v. 66, n. 12, p. 5241-5247, 2000.

JARONI, D.; SCHEIDELER, S. E.; BECK, M. M.; WYATT, C. The effect of dietary wheat middlings and enzyme supplementation ii: apparent nutrient digestibility, digestive tract size, gut viscosity, and gut morphology in two strains of leghorn hens. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 78, p. 1664-1674, 1999.

JIN, L. Z.; HO, T. W.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. Probiotics in poultry: modes of action. **World's Poult. Sci. J.**, Cambridge, v. 53, p. 351-368, 1997.

KESHAVARZ, K. The effect of different levels of nonphytate phosphorus with and without phytase on the performance of four strains of laying hens. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 82, n. 1, p. 71-91, 2003.

KOCHER, A.; CHOCT, M.; ROSS, G.; CHUNG, T. K. Effects of enzyme combinations on apparent metabolizable energy of corn–soybean meal-based diets in broilers. **J. Appl. Poult. Res.**, Champaign, v. 12, p. 275-283, 2003.

KULKARNI, S. R.; FRAILI, D. A.; SARIi, R.; MORIARTY-SCHIEVEN, G. H.; SHEPHERS, D. S.; UDOMPRASERT, P.; READHEAD, A. C. S.; BLOOM, J. S.; FEROCI, M.; COSTA, E. Discovery of a radio flare from GRB 990123. **Astrophsy. J.**, Philadelphia, v. 522, p. L97–L100, 1999.

LUCAS JÚNIOR, J. Aproveitamento energético de resíduos da suinocultura. In: ENERGIA, automação e instrumentação. Lavras: UFLA/SBEA, 1998. p. 81-87.

LUCAS Jr., J.; SANTOS, T. M. B. Aproveitamento de resíduos da indústria avícola para produção de biogás. In: SIMPÓSIO SOBRE RESÍDUOS DA PRODUÇÃO AVÍCOLA, 2000, Concórdia, SC. **Proceedings...** p. 27-43.

MÁRA, M.; OCENASKOVÁ, M.; NOVÁKOVÁ, M.; JULÁK, J.; MENCIKOVÁ, E. Resistance to infection and activation of monocyte-macrophage system caused by *Bacillus firmus* and its fractions. **Folia Microbiol.**, Praga, v. 39, n. 2, p. 147-151, 1994.

MARUTA, K. Probióticos e seus benefícios. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Santos. **Anais...** Santos: APINCO, 1993. p. 203-219.

MIRANDA, A. P.; LUCAS JUNIOR, J.; THOMAZ, M. C. Redução de sólidos e produção de biogás em biodigestor abastecidos com dejetos de suínos alimentados com dietas formuladas com milho ou sorgo. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS DE ANIMAIS, GERAÇÃO DE ENERGIA A PARTIR DE RESÍDUOS ANIMAIS, 1., 2009, Florianópolis-SC. Florianópolis: Sigera, 2009. p. 258-263.

NAMKUNG, H.; LEESON, S. Effect of phytase enzyme on dietary nitrogen-corrected apparent metabolizable energy and the ileal digestibility of nitrogen and amino acids in broilers chicks. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 78, n. 9, p.1317-1319, 1999.

NOGUEIRA, L. A. **Biodigestão**: a alternativa energética. São Paulo: Nobel, 1986. 93 p.

ODETALLAH, N. H.; WANG, J. J.; GARLICH, J. D.; SHIH, J. C. Keratinase in starter diets improves growth of broiler chicks. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 82, n. 4, p. 664-670, 2003.

OLIVEIRA, S. L. **Tratado de metodologia científica**: projetos de pesquisas, TGI, TCC, monografias, dissertações e teses. São Paulo: Pioneira, 1997. 320 p.

ORTOLANI, E. L.; BRITO, L. A. B. Enfermidades causadas pelo uso inadequado de “cama de frango” na alimentação de ruminantes. **Rev. CRMV**, Brasília, v. 7, n. 22, p. 41-47, 2001.

PAGANINI, F. J. Manejo da cama. In: MENDES, A. A.; NAAS, I. A.; MACARI, M. (Ed.). **Produção de frangos de corte**. Campinas: FACTA, 2004. p. 107-116.

PANDEY, A.; NIGAM, P.; SOCCOL, C.R.; SOCCOL, V.T.; SINGH, D.; MOHAN, R. Advances in microbial amylases. **Biotechnology Applied Biochemistry**, v.1, p.135-152, 2000.

PÉREZ, M.; PIAD, R.; MILIAN, G.; FELIPE, M.G.; FERREIRA, A.; MANCILHA, I.M.; LAURÊNCIO, M.; SILVA, J.B.A. Preparation of a crude enzymatic from *Bacillus licheniformis* E-44 and its evaluation in the hydrolysis of *Saccharomyces cerevisiae* cell walls. **Enzyme and Microbial Technology**, v.40, p.452-455, 2007.

PETER, C. M.; BAKER, D. H. Microbial phytase does not improve protein-amino acid utilization in soybean meal fed to young chickens. **J. Nutr.**, Bethesda, v. 131, p. 1792-1797, 2001.

RAVINDRAN, V.; SELLE, P. H.; RAVINDRAN, G.; MOREL, P. C. H.; KIES, A. K.; BRYDEN, W. L. Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 80, n. 3-4, p. 338-344, 2001.

ROLL, V. F. B.; LOPES, L. L.; GONÇALVES, F. M.; ANCIUTI, M.; LEITE, F. L.; CORRÊA, E. K.; XAVIER, E. G. Condição microbiológica de cama tratada com Impact P® em matrizes de frangos de corte. **Ciênc. Rur.**, Santa Maria, v. 38, n. 9, p. 2650-2653, 2008.

RUTHERFURD, S. M.; CHUNG, T. K.; MOREL, P. C. H.; MOUGHAN, P. J. Effect of microbial phytase on ileal digestibility of phytate phosphorus, total phosphorus, and amino acids in a low-phosphorus diet for broilers. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 83, n. 1, p. 61-68, 2004.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R.; LAGUE, P. C. The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper and zinc in broiler chickens fed corn-soybean diets. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 75, p. 729-736, 1996.

SEIFFERT, N. F. Planejamento da atividade avícola visando qualidade ambiental. In: In: SIMPÓSIO SOBRE RESÍDUOS DA PRODUÇÃO AVÍCOLA, 2000, Concórdia. **Proceedings...** p. 1-20.

SELLE, P. H.; RAVIDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition: review. **Anin. Feed Sci. Technol.**, Amsterdam, v. 135, p. 1-41, 2007.

SGANZERLA, E. **Biodigestor, uma solução**. Porto Alegre: Agropecuária, 1983. 86 p.

SHELTON, J. L.; SOUTHERN, L. L.; GASTON, L. A.; FOSTER, A. Evaluation of the nutrient Matrix Values for phytase in broilers. **J. Appl. Poult. Res.**, Champaign, v. 13, n. 2, p. 213-221, 2004.

SHEPPY, C. The current feed enzyme market and likely trends: enzyme In: BEDFORD, M. R.; PATRIDGE, G. G. Farm **Animal Nutrition**. New York: CABI, 2001. p. 1-10.

SHUMI, W.; TOWHID-HOSSAIN, M.; ANWAR, M.N. Proteolytic activity of a bacterial isolate *Bacillus fastidiosus* den Dooren de Jong. **Journal Biol. Rev.**, v.4, n.3, p.370-374, 2004.

SNEATH, P.H.A. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore, Md.: William & Wilkins Co., v.2, p.1104, 1986.

SOUZA, C. G. **Biodigestão anaeróbia de dejetos suínos com e sem aditivo contendo *Bacillus subtilis***. Jaboticabal: UNESP, 2010.

TEIXEIRA, V. H. **Biogás**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. 93 p. (Textos Acadêmicos).

TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S. CARDOSO, C. C.; NEME, R.; QUIRINO, B. C.; CARVALHO, D. C. O. Efeito da adição da enzima fitase em dietas de frangos de corte sobre o desempenho e digestibilidade ileal de nutrientes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: p.273, 2000.

THE GENUS BACILLUS. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*, 2005. Disponível em: <<http://www.textbookofbacteriology.net/Bacillus.html>> . Acesso em: 20 setembro de 2005.

TOLEDO, G. S. P.; COSTA, P. T. C.; SILVA, J. H.; CECCANTINI, M.; JUNIOR, C. P. 2007. Broilers fed diets varying in energy and protein supplemented with a pool of enzymes. **Ciênc. Rur.**, Santa Maria, v. 37, n. 2, p. 518-523, 2007.

TURNELL, J. R.; FAULKNER, R. D.; HINCH, G. N. Recent advances in Australian broiler litter utilization. **World.s Poult. Sci. J.**, Cambridge, v. 63, p. 223-231, 2007.

ULLMAN, J. L.; MUKHTAR, S.; LAVEY, R. E.; CAREY, J. B. A review of literature concerning odors, ammonia, and dust from broiler production facilities: 4. Remedial management practices. **J. Appl. Poult. Res.**, Champaign, v. 13, p. 521-531, 2004.

UNI, Z.; NOY, Y.; SKLAN, D. Posthatch development of small intestinal function in the poult. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 78, n. 2, p. 215-222, 1999.

CAPÍTULO 2 - Efeito de probióticos e enzimas sobre o desempenho, o rendimento de carcaça, a morfometria intestinal e a densitometria óssea de frangos de corte

Resumo- O objetivo do estudo foi avaliar o desempenho, o rendimento de carcaça e de partes, a morfometria intestinal, a densitometria óssea e a avaliação econômica de frangos de corte, durante o período de 1 a 42 dias de idade, recebendo dietas contendo probióticos e enzimas. Foram utilizados 900 pintos de corte da linhagem Cobb 500[®], distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 9 repetições com 25 aves cada. Os tratamentos consistiram em diferentes tipos de dietas: T1: controle; T2: T1 + 500 ppm do probiótico contendo *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; T3: dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase (0,15% de fósforo disponível e 0,12% de cálcio), 200 ppm de protease (3,8% de proteína bruta; 3,8% de arginina digestível; 1,2% de lisina digestível; 3,6% de metionina + cistina digestível; 7,9% de treonina digestível; e 3% de triptofano digestível) e 200 ppm de xilanase (energia metabolizável 40 kcal/kg de ração); T4: T3 + 500 ppm do probiótico. Para as características de desempenho, foram avaliados o consumo de ração (CR) o peso médio (PM), o ganho de peso (GP) e a conversão alimentar (CA), durante as fases inicial, crescimento e final. Para a fase total também foram avaliados o ganho de peso diário (GPD), o consumo de ração por ave alojada (CRAD), a viabilidade criatória (VC) e o índice de eficiência produtiva (IEP). Aos 42 dias de idade foram separadas 2 aves/repetição, abatidas, para análise de rendimento de carcaça e de partes. Aos 21 e aos 42 dias de idade 5 aves/tratamento foram abatidas, o intestino foi removido e seus segmentos foram coletados (duodeno, jejuno e íleo), para análise morfométrica. Para a análise de densidade mineral óssea foi realizada a coleta do metatarso esquerdo para as medidas de composição, área e densidade mineral óssea. Foi realizada a análise de variância dos dados e em caso de significância estatística foi adotado o procedimento de comparação das médias pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. O uso de aditivos favorece o rendimento de peito, a altura de vilosidades e a densidade mineral óssea (21 dias de idade). Os resultados encontrados aos 42 dias de idade demonstram que os níveis de enzimas e probióticos utilizados no presente experimento não proporcionaram melhoria nos parâmetros avaliados. Sugerimos que a adição de enzimas e probióticos na dieta, associadas ou não, favorece o desenvolvimento de frangos de corte até 21 dias de idade e proporcionaram efeitos contraditórios aos 42 dias.

Palavras-chaves: aditivos melhoradores de desempenho, fitase, protease, xilanase

1. Introdução

O Brasil vem apresentando aumento na produção de produtos de origem animal para abastecer o mercado interno e externo, devendo apresentar melhorias constantes nos índices produtivos, para situar-se num patamar competitivo de desenvolvimento econômico em relação a outros países, principalmente os desenvolvidos.

O aumento do fornecimento de produtos primários, leite, carne e ovos, devido à crescente demanda da população urbana, leva ao crescimento econômico, que muitas vezes por ser pouco planejado, ocasiona danos ambientais, distúrbios da agricultura familiar e incertezas entre os produtores e consumidores. Há necessidade de novas políticas de produção animal para obtenção de alimentos saudáveis, boas práticas de produção animal e conservação ambiental.

Alternativas de produção têm aparecido, tanto economicamente viáveis como ambientalmente corretas principalmente na avicultura, estando altamente relacionadas à excelente capacidade dos profissionais que atuam na área, com destaque na nutrição animal ao formularem dietas de qualidade e a custos reduzidos. A utilização de ingredientes alternativos, como os modernos compostos, advindos da biotecnologia, é primordial para aumentar a produtividade e/ou reduzir os custos de produção e melhorar de forma indireta o ambiente. O uso de aditivos alimentares, como enzimas exógenas, probióticos e prebióticos, tem se tornado importante na criação de frango de corte, melhorando características do alimento e o desempenho dos animais. Algumas pesquisas do uso desses aditivos demonstram que estes modulam benéficamente a microbiota intestinal, conseqüentemente melhorando a qualidade das vilosidades, resultando em maior absorção de nutrientes e ganho no desempenho zootécnico. Além de disponibilizar mais nutrientes como o fósforo e cálcio para compor a estrutura óssea das aves, melhorando de certa forma a densidade mineral dos ossos das aves e conseqüentemente, sua resistência.

Estudos são necessários para que se possa afirmar até que ponto os aditivos podem ou não ser utilizados e em que condições e dimensões são realmente viáveis.

2. Objetivo

Objetivou-se avaliar a adição de probiótico contendo *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* e de enzimas (fitase, xilanase e protease) na dieta de frangos de corte, sobre o desempenho, o rendimento de carcaça e de partes, a morfometria intestinal e densitometria óssea.

3. Material e métodos

Local, período do experimento, aves, instalações e manejo

Foram utilizados 900 pintos de corte da linhagem Cobb 500®, provenientes de um mesmo lote de matrizes, com idade e linhagem iguais. As aves foram alojadas no Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – campus de Jaboticabal – São Paulo, em um galpão de alvenaria com 36 boxes, cobertura de telha de barro, piso de concreto, paredes laterais com 0,30 m de altura, completados com tela de arame até o telhado e cortinado externo móvel, dividido em boxes de 3,2 x 1,4 m, separados por muretas de alvenaria de 0,40 m de altura e completadas com tela de arame até uma altura de 1,80 m.

Nas primeiras duas semanas de idade das aves, foram utilizados comedouros tubulares infantis, os quais foram substituídos gradativamente por comedouros tubulares com capacidade para 20 kg de ração após a primeira semana de idade. Os bebedouros foram tipo nipple desde a fase inicial até a fase final. O aquecimento inicial foi feito através de lâmpadas infra-vermelho de 250 watts, procurando manter a temperatura ambiente entre 28 a 30°C, durante as duas primeiras semanas de vida. Os pintos foram vacinados contra a doença de Marek, Gumboro e Bouda no incubatório, seguindo-se a vacinação no galpão de criação das aves, no 5º e 21º dias contra a Doença de Gumboro e no 7º dia contra a Doença de New castle, ambas por via ocular.

A cama utilizada foi a maravalha com uma quantidade de 0,7 kg de matéria seca/ave alojada, de modo que todos os tratamentos tiveram a mesma quantidade (20 kg de cama) em todos os boxes.

Foram registradas diariamente a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar com termômetro digital, colocados na altura das aves. Foi usado o manejo de cortinas e de ventiladores para a garantia do conforto térmico das aves. O programa de luz adotado foi o de 24 horas de luz, durante todo o período experimental. As aves receberam água e ração *ad libitum* durante todo o período experimental que foi dividido em três fases de criação: inicial (1a 21 dias de idade), crescimento (22 a 35 dias de idade) e final (36 a 42 dias de idade).

Para não ocorrer contaminação das camas devido à utilização de probióticos em alguns tratamentos, foram utilizados propés durante o manejo diário das aves.

Tratamentos experimentais

As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, suplementadas com minerais, vitaminas e aminoácidos, para atenderem às exigências nutricionais de cada fase de criação das aves (inicial, crescimento e final) de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2011) (Tabelas 1 e 2). Não foi utilizado promotor de crescimento.

Foi utilizada a matriz nutricional de cada enzima para a devida formulação das dietas onde, a enzima xilanase contribuiu com energia metabolizável 40 kcal/kg de ração, enzima fitase contribuiu com 0,15% de fósforo disponível e 0,12% de calcio para calcio e a enzima protease contribuiu com 3,8% de proteína bruta; 3,8% de arginina digestível; 1,2% de lisina digestível; 3,6% de metionina + cistina digestível; 7,9% de treonina digestível; e 3% de triptofano digestível.

O probiótico adicionado às dietas está presente em um produto comercial em teste para aves, sendo adicionado no nível de 0,5kg/Ton de ração, contendo *Bacillus subtilis* (mínimo $0,735 \times 10^8$) e *Bacillus licheniformis* (mínimo $0,735 \times 10^8$).

Os tratamentos utilizados foram os seguintes:

- ✓ Tratamento 1: Dieta controle.
- ✓ Tratamento 2: Dieta T1 com adição de 500 ppm do probiótico.
- ✓ Tratamento 3: Dieta formulada com 20 ppm de fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase.
- ✓ Tratamento 4: Dieta T3 + 500 ppm de probiótico .

Tabela 1. Composição calculada das rações experimentais para a fase inicial, crescimento e final.

Macro Ingredientes	Inicial				Crescimento				Final			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Milho triturado	50,36	50,36	55,04	55,04	58,23	58,23	62,90	62,90	62,95	62,95	67,54	67,54
Farelo de soja	40,80	40,80	38,30	38,30	32,60	32,60	30,10	30,10	28,60	28,60	26,30	26,30
Óleo de soja	4,70	4,70	3,10	3,10	4,80	4,80	3,20	3,20	4,60	4,60	2,90	2,90
Fosfato bicálcico	1,86	1,86	1,05	1,05	1,90	1,90	1,09	1,09	1,75	1,75	0,94	0,94
Calcário fino	1,24	1,24	1,43	1,43	1,26	1,26	1,46	1,46	0,97	0,97	1,16	1,16
Sal comum	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,41	0,41	0,41	0,41
DL-Metionina 99%	0,22	0,22	0,20	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,18	0,18	0,16	0,16
L-Lisina HCl 78%	0,09	0,09	0,14	0,14	0,22	0,22	0,27	0,27	0,20	0,20	0,25	0,25
L-Treonina 98%	0,05	0,05	0,02	0,02	0,10	0,10	0,06	0,06	0,09	0,09	0,05	0,05
Enzimas*	0,00	0,00	0,042	0,042	0,00	0,00	0,042	0,042	0,00	0,00	0,042	0,042
Probiótico	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05
Supl. vit e min + Anti**	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

*20 ppm de fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase.**Suplemento vitamínico e mineral enriquecido por quilograma de ração: 8.000 UI vitamina A, 1.800 UI vitamina D₃, 12 mg vitamina E, 2 mg vitamina K₃, 1 mg vitamina B₁, 4 mg vitamina B₂, 1 mg vitamina B₆, 10 mcg vitamina B₁₂, 0,40 mg ácido fólico, 0,04 mg biotina, 28 mg niacina, 11 mg pantotenato de cálcio, 6 mg Cu, 0,10 mg Co, 1 mg I, 50 mg Fe, 65 mg Mn, 45 mg Zn, 0,21 mg Se, 500 mg cloreto de colina 50%, 12 mg antioxidante e agente anticoccidiano (salinomocina).

Tabela 2. Análise calculada dos níveis nutricionais das rações experimentais.

	Inicial				Crescimento				Final			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3000	3000	2960	2960	3100	3100	3060	3060	3200	3200	3160	3160
Proteína Bruta (%)	23.00	23.00	22.13	22.13	20.00	20.00	19.24	19.24	18.50	18.50	17.80	17.80
Arginina Total (%)	1.57	1.57	1.49	1.49	1.32	1.32	1.25	1.25	1.20	1.20	1.14	1.14
Arginina Digestível (%)	1.45	1.45	1.44	1.44	1.22	1.22	1.21	1.21	1.11	1.11	1.10	1.10
Lisina Total (%)	1.37	1.37	1.38	1.38	1.25	1.25	1.26	1.26	1.14	1.14	1.15	1.15
Lisina Digestível (%)	1.25	1.25	1.25	1.25	1.15	1.15	1.15	1.15	1.04	1.04	1.05	1.05
Metionina Total (%)	0.60	0.60	0.60	0.60	0.56	0.56	0.56	0.56	0.51	0.51	0.51	0.51
Metionina + Cistina Total (%)	0.98	0.98	0.94	0.94	0.90	0.90	0.86	0.86	0.83	0.83	0.80	0.80
Metionina Digestível (%)	0.57	0.57	0.56	0.56	0.54	0.54	0.52	0.52	0.49	0.49	0.47	0.47
Metionina + Cistina Digestível (%)	0.89	0.89	0.89	0.89	0.82	0.82	0.82	0.82	0.75	0.75	0.75	0.75
Treonina Total (%)	0.93	0.93	0.82	0.82	0.85	0.85	0.75	0.75	0.78	0.69	0.75	0.69
Treonina Digestível (%)	0.80	0.80	0.80	0.80	0.74	0.74	0.74	0.74	0.68	0.68	0.68	0.68
Triptofano Total (%)	0.28	0.28	0.27	0.27	0.24	0.24	0.22	0.22	0.21	0.21	0.20	0.20
Triptofano Digestível (%)	0.24	0.24	0.24	0.24	0.20	0.20	0.20	0.20	0.18	0.18	0.18	0.18
Isoleucina Total (%)	0.98	0.98	0.94	0.94	0.83	0.83	0.79	0.79	0.76	0.76	0.75	0.75
Isoleucina Digestível (%)	0.78	0.78	0.78	0.78	0.67	0.67	0.66	0.66	0.61	0.61	0.61	0.61
Leucina Total (%)	4.02	4.02	4.18	4.18	4.14	4.14	4.30	4.30	4.24	4.24	4.55	4.55
Leucina Digestível (%)	3.57	3.57	3.72	3.72	3.71	3.71	3.87	3.87	3.82	3.82	3.98	3.98
Valina Total (%)	1.08	1.08	1.04	1.04	0.93	0.93	0.89	0.89	0.86	0.86	0.85	0.85
Valina Digestível (%)	0.93	0.93	0.94	0.94	0.80	0.80	0.81	0.81	0.74	0.74	0.75	0.75
Fenilalanina Total (%)	1.15	1.15	1.11	1.11	0.99	0.99	0.95	0.95	0.91	0.91	0.88	0.88
Fenilalanina Digestível (%)	1.04	1.04	1.00	1.00	0.90	0.90	0.86	0.86	0.83	0.83	0.80	0.80
Fibra Bruta (%)	2.76	2.76	2.72	2.72	2.51	2.51	2.47	2.47	2.40	2.40	2.37	2.37
Cálcio (%)	1.00	1.00	0.88	0.88	1.00	1.00	0.88	0.88	0.85	0.85	0.73	0.73
Fósforo Total (%)	0.68	0.68	0.53	0.53	0.66	0.66	0.51	0.51	0.63	0.63	0.48	0.48
Fósforo Disponível (%)	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.42	0.42	0.42	0.42
Sódio (%)	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.18	0.18	0.18	0.18
Cloro (%)	0.32	0.32	0.33	0.33	0.35	0.35	0.36	0.36	0.33	0.33	0.34	0.34
Potássio (%)	1.07	1.07	1.03	1.03	0.91	0.91	0.86	0.86	0.83	0.83	0.79	0.79
Colina (%)	1.248	1.248	1.227	1.227	1.133	1.133	1.112	1.112	1.082	1.082	1.64	1.064

Delineamento experimental

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e nove repetições de 25 aves por unidade experimental.

Características avaliadas

Desempenho

Foram avaliados como características de desempenho, o consumo de ração por ave (CR) e diário (CRAD) (g), peso médio (PM) (g), o ganho de peso da ave (GP) e diário (GPD) (g), a conversão alimentar (CA) (kg ração/kg peso), ganho de peso diário (GPD), a viabilidade criatória (VC) e o índice de eficiência de produtividade (IEP).

O CR, PM, GP e a CA, foram avaliados durante as fases: inicial (1 a 21 dias de idade), crescimento (22 a 35) e final (36 a 42). Na fase total (1 a 42 dias de idade) também foram avaliados a VC, o GPD, o IEP e o CRAD.

As aves foram pesadas no início, 21^o, 35^o e no 42^o dias do período experimental para determinação do PM das aves, calculando-se o GP pela diferença entre as pesagens. Da mesma forma, o CR foi obtido pela diferença entre a ração fornecida e as sobras das rações nos comedouros. Posteriormente, foi calculada a conversão alimentar, pela razão entre o consumo de ração e o ganho de peso das aves.

A VC e o IEP foram determinados pelas respectivas fórmulas:

$$VC (\%) = [\text{núm. total de aves} - (\text{núm. de aves mortas} + \text{descartes}) / \text{número total de aves}] \times 100$$
$$IEP = (\text{ganho de peso médio diário (g)} \times \text{viabilidade criatória (\%)}) / (\text{conversão alimentar} \times 10).$$

Rendimento de carcaça e de partes

Aos 42 dias de idade foram separadas duas aves de cada repetição, totalizando 72 aves, de acordo com o peso médio de cada repetição, dentro de um intervalo de variação de 10% a mais e 10% a menos do peso médio de

cada parcela. As aves foram identificadas, pesadas individualmente e separadas em boxes. Após o jejum de alimento de 8 horas, as aves foram pesadas novamente, para o cálculo do rendimento de carcaça e de partes. Estas foram insensibilizadas com monóxido de carbono (CO) e abatidas por sangria mediante a secção da veia jugular, sendo posteriormente escaldadas, depenadas e evisceradas.

Em seguida foram pesadas novamente, para obtenção do peso ao abate, o qual foi utilizado de referência para o cálculo do rendimento de carcaça (sem pés, cabeça e pescoço) e o rendimento de partes (peito, coxas + sobrecoxas, asas e dorso) os quais foram obtidos através de seus respectivos pesos, sem o resfriamento em tanque com água e gelo (Chiller), de acordo com Mendes (2001).

Morfometria intestinal

Aos 21 e aos 42 dias de idade, 5 aves por tratamento foram separadas dentro de um intervalo de variação de 10% a mais e 10% a menos do peso médio de cada parcela e sacrificadas por deslocamento cervical. O intestino foi removido e o duodeno, jejuno e íleo foram coletados, para posterior análise da morfometria intestinal.

Amostras da porção média do duodeno, jejuno e íleo com dois centímetros de comprimento foram coletadas para a avaliação morfométrica das vilosidades e das criptas. As amostras foram fixadas em solução de Bouin durante 24 horas e foram processadas pelo método de rotina para microscopia de luz. As amostras foram desidratadas em série de concentração crescente de etanol (70, 80, 90 e 100%), diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Cortes histológicos semi-seriados de seis μm de espessura foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE). Imagens dos cortes com 100x de aumento foram obtidas em microscópio óptico com câmera Zeiss MC80 DX[®] e foram analisadas 30 imagens por segmento intestinal por ave, totalizando 450 imagens por tratamento, pelo programa Image J[®]. Nas imagens, foram mensuradas, altura do vilo (AV), largura do vilo (LV) e profundidade das criptas intestinais (PC) e os resultados foram expressos em μm .

Composição, área e densidade mineral óssea

Aos 21 e aos 42 dias de idade, 5 aves por tratamento foram separadas dentro de um intervalo de variação de 10% a mais e 10% a menos do peso médio de cada parcela e sacrificadas por deslocamento cervical. Os metatarsos esquerdos das aves foram retirados, dissecados e identificados.

Os metatarsos das aves dos diferentes tratamentos foram submetidos à análise da densidade mineral óssea – DMO (em g/cm²), área (cm²) e conteúdo mineral ósseo – CMO (g) medidos em todo o osso. Igualmente, a DMO foi medida na epífise proximal, diáfise e epífise distal, com o densitômetro de dupla emissão de raios-X (DXA) previamente calibrado conforme fabricante (modelo DPX-Alpha, Lunar[®]) com software especial para pequenos animais (pertencente ao Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal – FOA/UNESP). Para tal, os ossos limpos foram colocados em um recipiente de acrílico com água deionizada e escaneados usando o densitômetro com software para pequenos animais, acoplado a um computador, selecionando-se a região de interesse com posterior análise densitométrica.

Análises estatísticas

Os dados foram analisados pelo programa SAS[®] (SAS Institute, 2002) e em caso de significância estatística, as médias foram comparadas pelo teste de Tuckey ao nível de 5% de probabilidade.

4. Resultados e discussão

Desempenho

Analisando dados para as características de desempenho (Tabela 3), por ave alojada, na primeira fase de criação (1 – 21 dias), observou-se que os tratamentos influenciaram significativamente ($p < 0,05$) o consumo de ração e a conversão alimentar, mostrando que as aves que receberam a ração testemunha e a ração contendo somente o probiótico obtiveram melhor conversão alimentar e menor consumo de ração. Para as demais características estudadas não ocorreu efeito significativo ($p > 0,05$) entre os

tratamentos. O probiótico quando adicionado à dieta individualmente manteve o resultado de desempenho em relação a uma dieta controle.

Tabela 3. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com rações contendo probióticos e enzimas de 1 a 21 dias.

Tratamentos*	Características		
	CR (g)	GP (g)	CA (g/g)
T1	1226,90 B	853,62	1,44 B
T2	1210,49 B	837,40	1,45 B
T3	1282,50 A	866,07	1,48 AB
T4	1295,28 A	855,24	1,54 A
Valores de F	5,02	1,87	3,72
Valores de p	0,0063**	0,1550 ^{NS}	0,0219**
CV ¹ (%)	4,20	3,04	4,77

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Para as fases de 22 a 35 (Tabela 4) e 36 a 42 dias de idade (Tabela 5), não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos testados para nenhuma das características de desempenho analisadas.

Tabela 4. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas de 22 a 35 dias de idade.

Tratamentos*	Características		
	CR (g)	GP (g)	CA (g/g)
T1	2181,49	1334,52	1,63
T2	2129,38	1273,72	1,63
T3	2203,52	1306,90	1,66
T4	2157,07	1319,95	1,65
Valores de F	1,20	2,50	2,55
Valores de p	0,32 ^{NS}	0,079 ^{NS}	0,074 ^{NS}
CV ¹ (%)	3,78	3,68	1,46

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. ^{NS} não significativo (p>0,05).

Tabela 5. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas de 36 a 42 dias de idade.

Tratamentos*	Características		
	CR (g)	GP (g)	CA (g/g)
T1	1337,57	706,25	1,94
T2	1244,25	629,49	1,94
T3	1310,61	685,32	1,96
T4	1317,62	653,87	1,99
Valores de F	1,65	2,07	0,90
Valores de p	0,19 ^{NS}	0,13 ^{NS}	0,46 ^{NS}
CV ¹ (%)	6,99	9,95	3,83

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo (p>0,05).

Para a fase total (1 a 42 dias de idade) (Tabela 6), observou-se que apenas a conversão alimentar foi influenciada significativamente pelos tratamentos (p<0,05) demonstrando que as aves alimentadas com a ração testemunha, obtiveram melhor conversão alimentar sem diferir estatisticamente dos tratamentos contendo somente o probiótico (T2) e enzimas (T3). Para as demais características estudadas não foram observadas diferenças significativas (p>0,05) entre os tratamentos (Tabela 6).

Tabela 6. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas de 1 a 42 dias de idade.

Tratamentos*	Características		
	CR (g)	GP (g)	CA (g/g)
T1	4716,29	2876,30	1,64 B
T2	4539,29	2740,61	1,65 AB
T3	4758,03	2834,96	1,67 AB
T4	4708,65	2800,62	1,69 A
Valores de F	2,72	2,08	5,19
Valores de p	0,06 ^{NS}	0,12 ^{NS}	0,005**
CV ¹ (%)	3,69	4,23	1,68

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Na dieta com adição do probiótico (T2), observou-se melhores resultados na conversão alimentar sem diferir da dieta controle, e de T3 concordando com Couch (1978) que verificou aumento de 47 gramas no PM,

diminuição de 0,4% na mortalidade e melhoria de 0,81 pontos na conversão alimentar em aves suplementadas com probióticos. Pelicano et al. (2004) avaliando o desempenho de frangos de corte de 1 a 42 dias recebendo probiótico *Bacillus subtilis*, observaram melhor conversão alimentar no período de 22 a 35 dias, porém, este efeito não foi observado nas demais fases, concluindo que este aditivo alimentar não afetou o desempenho das aves.

A melhora no desempenho das aves observado no presente estudo, pode ser explicada pelo fato de que os probióticos promovem o equilíbrio da microbiota intestinal e melhoram a eficiência alimentar das aves, justamente por competirem com os patógenos no intestino e evitarem lesões no vilo, permitindo a regeneração da mucosa intestinal (SATO et al., 2002).

Por outro lado, a suplementação enzimática+probiótico nas dietas proporcionou efeito significativo no consumo de ração (1 a 21 dias), piorando a conversão alimentar, nas fases de 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade. Isso pode ser explicado pelo fato de os níveis nutricionais das dietas atenderem adequadamente às necessidades das aves. O aumento do consumo de ração, provocado pela suplementação enzimática, principalmente pela ação da enzima fitase, não refletiu na melhora do peso médio e do ganho de peso das aves na fase de 1 a 21 dias de idade.

Torres et al. (2003) verificaram que a conversão alimentar de frangos de corte, na fase inicial, melhorou quando foi adicionado um complexo de amilase, protease e xilanase nas dietas com maior teor protéico. No entanto, Lima et al. (2002) ao suplementarem as dietas com amilase e protease, não encontraram diferenças no consumo de ração e na conversão alimentar no período de 1 a 42 dias de idade.

Mesmo tendo a capacidade de aumentar a disponibilidade de nutrientes na dieta, a associação de um probiótico com enzimas não melhorou o desempenho das aves para nenhuma das fases estudadas. Isso pode ser explicado, talvez pelo antagonismo entre os diferentes aditivos utilizados, ou seja, o probiótico pode ter reduzido a disponibilidade dos nutrientes fornecidos pelas enzimas exógenas à microbiota intestinal, levando a uma redução na ação desses aditivos. Assim o uso somente de um aditivo na dieta, pode manter o desempenho das aves, melhorando a biota intestinal e a

disponibilidade de nutrientes, sem que um interfira negativamente na ação do outro.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 7, não houve efeito significativo ($P>0,05$) dos tratamentos sobre os parâmetros avaliados, exceto para o índice de eficiência produtiva (IEP). As aves que receberam ração testemunha obtiveram maior IEP sem diferir de T2 e T3.

Tabela 7. Consumo de ração diário por ave alojada (CRAD), ganho de peso diário (GPD) viabilidade criatória (VC) e índice de eficiência produtiva (IEP) de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas de 1 a 42 dias de idade.

Tratamentos	Características			
	CRAD	GPD	VC	IEP
T1	112,29	68,48	96,88	404,51 A
T2	109,11	65,23	96,44	379,93 AB
T3	113,28	67,49	96,50	388,15 AB
T4	113,41	66,68	94,66	373,49 B
Valores de F	1,83	2,08	0,99	4,20
Valores de P	0,16 ^{NS}	0,12 ^{NS}	0,41 ^{NS}	0,01 ^{**}
CV ¹ (%)	3,74	4,23	3,11	5,68

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. ** $p\leq 0,05$.
^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente ($p\leq 0,05$).

Rendimento de carcaça

Na Tabela 8 são apresentados os dados das características de rendimento de carcaças e partes. Apesar dos diferentes tratamentos não terem afetado significativamente o rendimento de carcaça, de coxa + sobrecoxa, de dorso e de asas, observou-se que as aves alimentadas com a dieta com probiótico + enzimas (38,78%) apresentaram maior rendimento de peito, não diferindo estatisticamente da ração contendo somente probiótico (38,39%) e enzimas (38,02%).

Tabela 8. Rendimento de carcaça (RC), rendimento de coxa + sobrecoxa (RC+SC), rendimento de peito (RP), rendimento de dorso (RD) e rendimento de asas (RA) de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas 1 a 42 dias de idade.

Tratamentos*	Características				
	RC (%)	RC+SC (%)	RP (%)	RD (%)	RA (%)
T1	73,96	28,74	37,04 B	23,43	10,17
T2	73,84	27,95	38,40 AB	22,88	10,12
T3	74,33	28,39	38,02 AB	22,99	10,13
T4	74,55	28,41	38,78 A	22,90	9,75
Valores de F	0,42	1,26	4,10	0,67	2,13
Valores de P	0,741 ^{NS}	0,295 ^{NS}	0,009 ^{**}	0,5754 ^{NS}	0,104 ^{NS}
CV ¹ (%)	2,92	4,33	4,07	5,73	5,49

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

De acordo com esses resultados, observou-se que ao se utilizar enzimas em consórcio com um probiótico ocorreu aumento na disponibilidade de nutrientes, aumentando a absorção no trato gastrointestinal e melhorando consequentemente o rendimento do peito das aves, o que não ocorreu quando se utilizou isoladamente o probiótico ou complexo enzimático. Esses resultados discordam de Zanella (1998) que não encontrou diferença significativa em nenhuma das características de rendimento de carcaça e de partes, quando testou somente à suplementação enzimática em dietas a base de milho e soja processada em relação à ração testemunha. O mesmo foi observado por Maiorka et al. (2001) e Corrêa et al. (2003) que ao adicionar isoladamente *Bacillus subtilis* à dieta de frangos de corte, observaram que não ocorreu efeito sobre o rendimento de carcaça e de partes em comparação com à ração-controle sem aditivos. Da mesma forma, Pelicano et al. (2005) observaram que a utilização de probióticos também não alterou o rendimento de carcaça e de partes em comparação com a ração controle sem aditivos.

Morfometria intestinal

Analisando os dados de morfometria intestinal de frangos de corte com 21 dias de idade, observou-se que houve diferença significativa (p<0,05) entre os tratamentos, para todas as características de morfometria intestinal do duodeno, do jejuno e do íleo (Tabelas 9 e 10).

Os frangos que receberam dieta composta por enzimas + probiótico (T4) apresentaram maior altura de vilosidades intestinais (duodeno, jejuno e íleo) em relação aos demais tratamentos. O mesmo não foi observado na largura de vilosidades (LV), onde no duodeno essa medida foi maior no tratamento contendo somente probiótico, e no jejuno e no íleo foi maior nos tratamentos que receberam as enzimas (T3 e T4).

Para profundidade de cripta (PC) e a relação AV/PC observou-se que no duodeno os maiores valores numéricos foram encontrados para o tratamento que recebeu a dieta contendo enzimas + probiótico, diferindo estatisticamente somente do tratamento contendo enzimas.

Na PC do jejuno e do íleo, observou-se que o tratamento contendo somente as enzimas apresentou maior desenvolvimento em relação aos demais tratamentos. Para a característica AV/PC no jejuno, o tratamento controle, e no íleo, o tratamento contendo somente o probiótico, obtiveram maior relação numérica quando comparado aos demais tratamentos.

Tabela 9. Altura de vilosidades (AV) e largura dos vilos (LV) dos diferentes segmentos do intestino delgado de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas aos 21 dias de idade.

Tratamentos*	Duodeno		Jejuno		Íleo	
	AV	LV	AV	LV	AV	LV
T1	669,26 C	36,30 C	479,81 B	24,90 C	239,9C	25,12 B
T2	695,67BC	43,44 A	475,64 B	27,25 B	305,86 A	20,18 D
T3	733,01 B	38,97 B	491,66 AB	29,99 A	284,33 B	27,50 A
T4	862,25 A	37,94 BC	520,75 A	26,99 B	303,91 A	22,93 C
Valores de F	24,25	17,66	4,53	17,47	84,06	45,23
Valores de P	<0,0001**	<0,0001**	0,0043**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
CV ¹ (%)	2,35	13,13	13,75	12,95	14,20	13,60

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Tabela 10. Profundidade das criptas intestinais (PC) relação entre a altura dos vilos e profundidade das criptas (AV/PC) dos diferentes segmentos do intestino delgado de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas aos 21 dias de idade.

Tratamentos*	Duodeno		Jejuno		Íleo	
	PC	AV/PC	PC	AV/PC	AV	AV/PC
T1	57,36 C	11,76 AB	46,59 D	10,39 A	66,75 B	3,55 D
T2	56,32 C	12,50 A	50,93 C	8,97 B	45,13 D	6,45 A
T3	68,58 B	10,72 B	74,70 A	6,72 D	69,47 A	4,13 C
T4	72,76 A	11,82 AB	66,94 B	7,79 C	59,32 C	5,10 B
Valores de F	108,71	6,28	219,45	56,39	281,28	209,95
Valores de P	<0,0001**	0,0004**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
CV ¹ (%)	9,70	7,25	3,70	8,83	7,35	13,59

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Na morfometria intestinal realizada aos 42 dias de idade, foram observadas diferenças entre os tratamentos para todas as características analisadas (Tabelas 11 e 12). Os tratamentos que receberam enzimas + probiótico tiveram maior desenvolvimento das vilosidades (AV), em todos os segmentos, sendo que o uso de enzimas ou sua associação promoveu maior altura de vilosidades jejunais em relação ao grupo controle, e no íleo, as vilosidades das aves alimentadas com probiótico foram estatisticamente iguais.

Para a LV, observou-se que no segmento do duodeno e do íleo, a dieta contendo somente enzimas (T3) proporcionou maior desenvolvimento intestinal em relação aos outros tratamentos, sendo que no íleo não houve diferença estatística ($p>0,05$) em relação à dieta controle, o que não foi observado no jejuno, onde o maior desenvolvimento ocorreu no tratamento que recebeu probiótico + enzimas.

Quanto à PC das vilosidades do duodeno das aves aos 42 dias de idade, observou-se que as dietas contendo enzimas proporcionaram maior desenvolvimento da PC em relação aos demais tratamentos. No entanto, no segmento do jejuno a PC foi maior para as aves que receberam a dieta contendo somente o probiótico.

Quando se avaliou a relação AV/PC, observou-se que a maior relação numérica para o duodeno e jejuno foi para os tratamentos onde as aves foram alimentadas com dietas contendo probióticos+enzimas. Para o segmento do íleo, a dieta com enzimas proporcionou maior desenvolvimento intestinal e não se diferenciou estatisticamente ($p>0,05$) da dieta contendo probiótico + enzimas.

Furlan et al. (2004) relataram que aditivos estimulam o processo mitótico na região cripta-vilo, conseqüentemente, aumenta o número de células e o tamanho das vilosidades intestinais, melhorando assim, a absorção de nutrientes concordando com os resultados desse estudo.

Sabe-se que o equilíbrio entre a proliferação e diferenciação celular, resultante das divisões mitóticas sofridas por células totipotentes (*stem cells*) localizadas na cripta e ao longo dos vilos (UNI et al., 2000) e perda de células (extrusão) que ocorre normalmente no ápice dos vilos, determinam turnover celular (síntese-migração-extrusão) constante, ou seja, a manutenção do tamanho dos vilos e, portanto, a manutenção da capacidade digestiva e de

absorção intestinal. Entretanto, quando o intestino responde a algum agente (micro-organismos, por exemplo), com desequilíbrio no “turnover” a favor de um dos processos citados acima, ocorre modificação na altura, bem como no perímetro dos vilos. Assim, se houver aumento na taxa de mitose com ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão, deverá haver aumento no número de células, e conseqüentemente, aumento na altura e no perímetro dos vilos e até pregueamento da parede dos mesmos. Se o estímulo promover maior taxa de extrusão, havendo manutenção ou diminuição na taxa de proliferação, o intestino deverá responder com redução na altura dos vilos e, conseqüentemente, diminuição em sua capacidade de digestão e absorção (PLUSKE et al., 1997).

Sato (2001) e Chiquieri et al. (2003), não observaram diferença na morfometria dos vilos entre os animais do grupo controle e os que receberam probióticos. Pedroso (1999) ao administrar probiótico na ração de galinhas poedeiras contendo *Bacillus subtilis* observou que a maior altura de vilo foi proveniente do tratamento cuja administração do probiótico foi contínua e que a menor altura foi decorrente de sua não administração.

Tabela 11. Altura de vilosidades (AV) e largura dos vilos (LV) dos diferentes segmentos do intestino delgado de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas aos 42 dias de idade.

Tratamentos*	Duodeno		Jejuno		Íleo	
	AV	LV	AV	LV	AV	LV
T1	877,54 C	73,15 AB	666,64 B	54,66 B	392,49 C	49,00 B
T2	943,55 B	57,81 B	814,44 A	48,55 C	483,20 B	51,57 B
T3	1007,72 A	68,33 A	808,38 A	50,16 C	588,63 A	58,48 A
T4	901,85 BC	59,52 B	805,61 A	67,51 A	571,07 A	50,18 B
Valores de F	12,90	5,35	33,50	56,51	125,37	18,73
Valores de P	<0,0001**	<0,0015**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
CV¹ (%)	12,03	21,49	6,77	14,46	1,85	13,18

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de prpbótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Tabela 12. Profundidade das criptas intestinais (PC) relação entre a altura dos vilos e profundidade das criptas (AV/PC) dos diferentes segmentos do intestino delgado de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas aos 42 dias de idade.

Tratamentos*	Duodeno		Jejuno		Íleo	
	PC	AV/PC	PC	AV/PC	AV	AV/PC
T1	181,39 B	4,91 B	155,76 B	4,33 C	117,19	3,39 C
T2	162,59 C	5,73 A	179,64 A	4,64 C	114,86	4,21 B
T3	193,43 A	5,20 B	148,39 B	5,59 B	119,57	4,91 A
T4	144,19 D	6,12 A	116,74 C	8,00 A	121,66	4,68 A
Valores de F	45,82	21,86	34,73	46,89	2,48	52,37
Valores de P	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	0,0621 ^{NS}	<0,0001**
CV¹ (%)	36,01	10,49	45,31	22,20	2,18	15,23

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de prpbótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Composição, área e densidade mineral óssea

Analisando os dados para as características ósseas do metatarso de frangos de corte aos 21 e 42 dias, observou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para todas as características avaliadas (Tabelas 13 e 14).

A composição mineral do metatarso de aves aos 21 dias de idade foi maior nos tratamentos com adição de probióticos e de enzimas individualmente na dieta (T2 e T3) em relação aos demais tratamentos, sendo que a densidade mineral óssea do metatarso e da diáfise também foi maior nos tratamentos T2 e T3. Nas epífises, proximal e distal do osso das aves que receberam a dieta contendo somente adição de probiótico (T2) apresentaram maior densidade mineral.

Tabela 13. Composição mineral, área, densidade mineral total da epífise proximal, diáfise e epífise distal do metatarso de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas aos 21 dias de idade.

Tratamentos*	Características do Metatarso					
	Composição Mineral (g)	Área (cm ²)	Densidade Mineral Total	Epífise Proximal***	Diáfise***	Epífise Distal***
			g/cm ²			
T1	0,05 B	3,74 B	0,013 B	0,024 B	0,014 B	0,022 B
T2	0,15 A	4,03 AB	0,039 A	0,044 A	0,047 A	0,035 A
T3	0,12 A	4,20 A	0,040 A	0,030 B	0,035 A	0,024 B
T4	0,03 B	4,13 A	0,012 B	0,015 C	0,013 B	0,010 C
Valores de F	19,42	5,14	22,59	33,48	10,88	125,73
Valores de P	<0,0001**	0,011**	<0,0001**	<0,0001**	0,0004**	<0,0001**
CV¹ (%)	33,82	4,96	27,43	17	40,58	18,34

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de prpbótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05). *** considerando uma área de 0,090 cm².

Para as aves com 42 dias de idade, os ossos do metatarso, tiveram diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos para todas as características avaliadas, com exceção da área ($p > 0,05$). A composição e densidade mineral do osso metatarso foram maiores para os tratamentos onde as aves receberam uma dieta controle (T1), sem adição de aditivos, e a dieta contendo somente probiótico (T2). Na epífise proximal e distal o tratamento controle obteve os maiores valores de densidade mineral. Para a diáfise o tratamento que recebeu somente enzimas (T3) teve a maior densidade mineral por área, não diferindo estatisticamente do tratamento controle (T1).

Tabela 14. Composição mineral, área, densidade mineral total da epífise proximal, diáfise e epífise distal do metatarso de frangos de corte alimentados com rações com probióticos e enzimas aos 42 dias de idade.

Tratamentos*	Composição Mineral (g)	Área (cm ²)	Características do Metatarso			
			Densidade Mineral Total	Epífise Proximal***	Diáfise***	Epífise Distal***
			g/cm ²			
T1	1,20 A	9,42	0,13 A	0,15 A	0,15 AB	0,14 A
T2	1,20 A	9,52	0,12 A	0,11 B	0,098 BC	0,096 B
T3	0,23 B	9,85	0,023 B	0,023 C	0,19 A	0,014 C
T4	0,23 B	9,50	0,024 B	0,0058 C	0,021 C	0,042 C
Valores de F	443,35	1,09	497,47	140,45	10,13	32,40
Valores de P	<0,0001	0,38 ^{NS}	<0,0001	<0,0001	0,0006	<0,0001
CV¹ (%)	8,29	4,31	7,98	18,18	44,76	29,54

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de prpbótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).*** considerando uma área de 0,090 cm².

Como o cálcio e o fósforo são os principais minerais constituintes dos ossos na estrutura óssea, a adição de enzimas na dieta de aves pode disponibilizar elevadas taxas desses minerais, favorecendo a composição e densidade óssea dessas aves.

A inclusão de probióticos e de enzimas isoladamente nas dietas de frangos de corte aos 21 dias de idade melhora a qualidade óssea do metatarso. Para que o osso cresça, é necessária a presença de minerais em quantidades adequadas. A utilização de alguns aditivos como enzimas exógenas, como a fitase, hidrolisa a molécula de fitato liberando o P fítico, sendo possível que tenha ocorrido aumento na absorção (TAMIM et al., 2004) e utilização de P e o Ca pelos ossos.

Nas fases de crescimento e final, os órgãos e tecidos já estão formados e o metabolismo da ave é dirigido principalmente para a deposição protéica no músculo, que é maior quando comparada com a fase inicial. Portanto, a composição e a densidade mineral do osso foram menores nas aves que receberam dietas contendo enzimas na fase final. Entretanto, foi avaliado que, independente da inclusão de fitase à dieta, não foi suficiente para manter a qualidade mineral do osso. Isso se deve à redução na quantidade de fósforo prontamente disponível na fase final das aves, quando as dietas suplementadas com enzimas, não conseguiram disponibilizar a quantidade esperada em relação aos demais tratamentos (T1 e T2).

A maioria dos estudos que correlacionam a inclusão de fitase na dieta com a disponibilidade de fósforo e deposição óssea pode expressar os seus resultados como as cinzas dos ossos e percentual de fósforo como resistência óssea (MARTINEZ-AMEZCUA et al., 2006.; OLIVEIRA et al., 2008;. PAYNE et al., 2005.; PERSIA; SAYLOR, 2006), e sugerem que a inclusão de fitase em dietas com diferentes níveis de fósforo disponíveis podem promover maior teor de cinzas ou força da tíbia. Lan et al. (2002) mostraram o aumento em cinza óssea do osso tibiotársico pela adição de fitase em dietas de frangos de corte. No entanto, Catalá-Gregori et al. (2006) observaram que aves alimentadas com dietas contendo diferentes níveis totais de fósforo e suplementadas com fitase apresentaram percentual menor no teor de cinza óssea.

Alguns autores que trabalharam com enzimas exógenas, em especial a fitase, observaram vários resultados em relação à tíbia. Viveros et al. (2002) que estudaram

dietas com níveis reduzidos de fósforo não fitico (FNF) (0,45 a 0,24%) suplementadas ou não com 500U/kg de fitase, notaram que houve redução no peso da tíbia com os menores níveis de FNF, porém, a suplementação de dietas com fitase melhorou o peso dos ossos. Abdellatif e Kamall (2003) relataram que a inclusão de 750U/kg de fitase em dietas com 0,4% de FNF melhorou o peso e o comprimento de tíbias e Jamroz et al. (2007) verificaram que menores níveis de P dietéticos resultam em menores pesos de tíbias em frangos. Já Orban et al. (1999) e Kocabagli (2001) relataram que a inclusão de 0 a 1500U/kg de fitase em dietas com níveis de P reduzidos para patos e frangos com 42 dias de idade, não afetou o peso, o comprimento e o diâmetro de tíbias.

5. Conclusões

A utilização de aditivos na dieta melhora o rendimento do peito e a composição óssea de frangos de corte aos 21 dias e piora a conversão alimentar de frangos de corte e reduz a composição mineral óssea do metatarso aos 42 dias de idade.

6. Referências

ABDELLATIF, H. A.; KAMAL, A. M. Effect of phytase supplementation on the performance of broilers grown to market weights. **Vet. Med. J. Giza**, Cairo, v. 51 n. 3, p. 343-354, 2003.

CATALÁ–GREGORI, P.; GARCÍA, V.; HERNÁNDEZ, F.; MADRID, J.; CERÓN, J. J. Response of broilers to feeding low – calcium and phosphorus diets plus phytase under different environmental conditions: body weight and tibiotarsus mineralization. **Poult. Sci.**, Champaign ,v. 85, p. 1923-1931, 2006.

CHIQUIERI, J.; SOARES, R. T. R. N.; CARVALHO, E. C. Q.; LEMOS, L. S. E.; VENTURA, B. G. Altura das vilosidades intestinais de suínos alimentados com rações contendo diferentes promotores de crescimento. In: REUNIÃO ANUAL DA

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** 1 CD-ROM.

CORRÊA, G. S. S.; GOMES, A. V. C.; CORRÊA, A. B.; SALLES, A. S.; MATTOS, E. S. Efeito de antibiótico e probióticos sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 55, n. 4, p. 467-473, 2003.

COUCH, J. R. Poultry researchers outline benefits of bacteria, fungistatic compounds, other feed additives. **Feedstuffs**, Minneapolis, v. 50, n. 14, p. 6, 1978.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO. 5., 2004, Balneário Camboriú, Santa Catarina. **Anais...** p. 6-28.

JAMROZ, D.; WERTELECKI, T.; ZYLKA, R. The retention of mineral substances, quality and chemical composition of bones of chickens fed diets containing different calcium and phosphorus levels. **Eletron. J. Pol. Agric. Univ.**, v. 10 n. 3, 2007. Disponível em <<http://www.ejpau.media.pl/volume10/issue3/art-04.html>>. Acesso em: 08 fev. 2008.

KOCABAGLI, N. The effect of dietary phytase supplementation at different levels on tibial bone characteristics and strength in broilers. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.**, Ankara, v. 25 n. 5, p. 797-802, 2001.

LAN, G. Q.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S.; HO, Y. W. Efficacy of supplementation of a phytase – producing bacterial culture on the performance and nutrient use of broiler chickens fed corn – soybean meal diets. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 81, p. 1522-1532, 2002.

LIMA, A. C. F.; HARNICH, F. A. R.; MACARI, M.; PIZAURO JÚNIOR, J. M. Avaliação do desempenho de frangos de corte alimentados com suplementação enzimática e probiótica. **Ars Vet.**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 153-157, 2002.

MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SUGETA, S. M.; ALMEIDA, J. G.; MACRAI, M. Utilização de prebióticos, probióticos ou simbióticos em dietas para frangos. **Rev. Bras. Ciên. Avíc.**, Campinas, v. 3, n.1, p. 153-157, 2001.

MARTINEZ-AMEZCUA, C.; PARSONS, C. M.; BAKER, D. H. Effect of microbial phytase and citric acid on phosphorus bioavailability, apparent metabolizable energy, and amino acid digestibility in distillers dried grains with solubles in chicks. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 85, n. 3, p. 470-475, 2006.

MENDES, A. A. Jejum pré-abate em frangos de corte. **Rev. Bras. Ciên. Avíc.**, Campinas, v. 3, n. 3, p. 199-209, 2001.

OLIVEIRA, M. L.; BACCARO, F. B.; BRAGA-NETO, R.; MAGNUSSON, W. E. **Reserva Ducke**: a biodiversidade amazônica através de uma grade. Manaus: Aterra Design Editorial, 2008. 166 p.

ORBAN, J. I.; ADEOLA, O.; STROSHINE, R. Microbial phytase in finisher diets of White Pekin ducks: effect on growth performance, plasma phosphorus concentration, and leg bone characteristics. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 78, n. 3, p. 366-377, 1999.

PAYNE, B. K., CHENG, C. M., GOVORUN, O.; STEWART, B. An inkblot for attitudes: affect misattribution as implicit measurement. **J. Pers. Soc. Psychol.**, Washington, v. 89, p. 277-293, 2005.

PEDROSO, A. A. **Efeito de probiótico dietético sobre o desempenho, qualidade dos ovos e alguns aspectos morfológicos do tracto intestinal e tecido ósseo de galinhas poedeiras.** 1999. 74 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) -

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.

PELICANO, E. R. L.; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; FIGUEIREDO, D. F.; BOIAGO, M. M.; CARVALHO, S. R.; BORDON, V. F. Performance of broilers fed diets containing natural growth promoters. **Rev. Bras. Ciên. Avíc.**, Campinas, v. 6, n. 4, p. 231-236, 2004.

PELICANO, E. R. L.; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; FIGUEIREDO, D. F.; BOIAGO, M. M.; CARVALHO, S. R.; BORDON, V. F. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. **Braz. J. Poult. Sci.**, Campinas, v. 7, n. 4, p. 221-229, 2005.

PERSIA, M. E.; SAYLOR, W. W. Effects of broiler strain, dietary nonphytate phosphorus, and phytase supplementation on chick performance and tibia ash. **J. Appl. Poult. Res.**, Champaign, v. 15, p. 72-81, 2006.

PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J.; WILLIAMS, I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livest. Prod. Sci.**, Amsterdam, v. 51, p. 215-236, 1997.

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

SAS INSTITUTE. **SAS® user' guide**: statistics. Cary, NC, 2002.

SATO, R. N. **Ação isolada e combinada de probiótico e antibiótico como promotores de crescimento em rações iniciais de frangos de corte**. 2001. 48 f. Monografia (Trabalho de graduação) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.

SATO, R. N.; LODDI, M. M.; NAKAGHI, L. S. O. Uso de antibiótico e/ou probiótico como promotores de crescimento em rações iniciais de frangos. **Rev. Bras. Ciên. Avíc.**, Campinas, v. 4, supl., p. 37, 2002.

Tamim, N.M.; Angel, R.; Christman, M. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. **Poult.Sci.**, v. 83, p. 1358–1367, 2004.

TORRES, D. M. **Valor nutricional de farelos de arroz suplementados com fitase, determinado por diferentes metodologias com aves.** 2003. 172 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

UNI, Z. Vitamin A deficiency interferes with proliferation and maturation of cells in the chickens small intestine. **Br. Poult. Sci.**, Abingdon, v. 41, n. 4, p. 410-415, 2000.

VIVEIROS, A.; BRENES, A.; ARIJA, I.; CENTENO, C. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 81, n. 8, p. 1172-1183, 2002.

ZANELLA, I. **Suplementação enzimática em dietas a base de milho e sojas processadas sobre a digestibilidade de nutrientes e desempenho de frangos de corte.** 1998. 179 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1998.

CAPÍTULO 3 - Efeito de probióticos e enzimas sobre a produção e a qualidade da cama de frangos de corte

Resumo- O objetivo do estudo foi avaliar a produção de cama das aves, coliformes totais e termotolerantes, composição química e determinação das fibras da cama de frangos de corte, criados durante o período de 1 a 42 dias de idade, que receberam dietas com probióticos e enzimas. Foram utilizados 900 pintos de corte da linhagem Cobb 500[®], distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 9 repetições com 25 aves cada. Os tratamentos consistiram em diferentes tipos de dietas: T1: controle; T2: T1 + 500 ppm do probiótico contendo *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; T3: dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase (0,15% de fósforo disponível e 0,12% de cálcio), 200 ppm de protease (3,8% de proteína bruta; 3,8% de arginina digestível; 1,2% de lisina digestível; 3,6% de metionina + cistina digestível; 7,9% de treonina digestível; e 3% de triptofano digestível) e 200 ppm de xilanase (energia metabolizável 40 kcal/kg de ração); T4: T3 + 500 ppm do probiótico. Para caracterização da produção de camas, as mesmas foram pesadas no início e no final de criação das aves (42 dias), sendo coletadas amostras representativas e significativas (10%) para análises dos teores de matéria seca (MS) utilizados nos cálculos da produção de cama na MS (kg/boxe e kg/ave) e na matéria natural (MN) (kg) e quantidade de excretas adicionadas na cama (MS) por ave alojada (QEA) (kg/ave). Para cada boxe foi determinado o coeficiente de resíduo (Cr) ($kg \text{ de cama de frango (MS)} / kg \text{ de peso vivo das aves}$). Análises de coliformes totais e termotolerantes da cama foram feitas através da metodologia dos tubos múltiplos e resultados foram expressos em número mais provável (NMP/100ml de cama diluída). Nas amostras coletadas das camas foram realizadas análises de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) e determinação das fibras em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) e lignina. Foi realizada a análise de variância dos dados, e, em caso de significância estatística, foi adotado o procedimento de comparação das médias pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. A adição de aditivos reduziu a quantidade de coliformes totais e termotolerantes nas camas de frango, o tratamento contendo somente probiótico ocasionou maior quantidade de N inserido na cama. Os tratamentos que receberam aditivos proporcionaram redução de FDA (%) e FDN (kg e kg/kg de cama MS) em relação ao controle. Isso não foi observado para a lignina onde o tratamento que acarretou o menor valor de lignina foi o consórcio de enzimas e probiótico. A adição de enzimas exógenas e seu consórcio com *Bacillus subtilis*, na dieta, mantém a produção de resíduos, reduz a carga microbiana e as fibras de difícil decomposição da cama de frango (FDA e FDN).

Palavras-chaves: produção de cama de frango, coeficiente de resíduo, coliformes totais e termotolerantes.

1. Introdução

Com o crescimento da avicultura brasileira há produção de maior volume de resíduos cujo destino gera a preocupação para o avicultor. Neste sentido, há necessidade de formular rações que reduzam o impacto ambiental e mantenham a produtividade e a qualidade da carne de frango.

A cama de frango é o material da granja, normalmente confeccionado à base de palha de arroz ou maravalha, que serve como piso para as aves e que acaba sendo enriquecida com ração que cai dos comedouros e com o próprio dejetos das aves. No final de cada ciclo do frango essa cama se torna um resíduo e sem destino correto se torna um grande problema para o ambiente.

O descarte desse resíduo no ambiente, sem que tenha sofrido algum tipo de tratamento prévio, pode levar a sérios problemas de contaminação química e microbiológica do solo e da água, o que coloca em risco a qualidade de vida da população ao redor das unidades produtoras.

No entanto nutricionistas procuram utilizar alguns aditivos que melhoram tanto o aproveitamento da dieta pelo animal como a qualidade da cama de frango. A adição das enzimas em dietas pode melhorar a utilização de nutrientes e diminuir a excreção de poluentes no ambiente (LUDKE et al., 2002).

Existem alguns probióticos, que quando adicionados na dieta e lançados na cama de frango melhoram a qualidade microbiológica do meio pela exclusão competitiva.

Os probióticos e as enzimas podem melhorar o aproveitamento dos alimentos e reduzir a excreção de nutrientes. No entanto, poucos estudos têm sido realizados visando avaliar as características da cama quando esses aditivos são utilizados nas dietas.

2. Objetivos

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de diferentes dietas de frangos de corte contendo probiótico e enzimas exógenas sobre a produção, a redução de coliformes totais e termotolerantes, a determinação da composição química e das fibras em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) e lignina de camas de frango.

3. Material e métodos

O experimento foi realizado no setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – campus de Jaboticabal – São Paulo, em um galpão de alvenaria com 36 boxes, com cobertura de telha de barro, piso de concreto, paredes laterais com 0,30 m de altura, completados com tela de arame até o telhado e cortinado externo móvel, dividido em boxes de 3,2 x 1,4m, separados por muretas de alvenaria de 1 m de altura.

Foram alojados 25 pintos de corte Cobb 500®, por boxe, provenientes de um mesmo lote de matrizes, com idade e linhagem iguais. Obteve-se uma densidade de 5,58 aves/m². Essas aves foram criadas de 1 a 42 dias de idade e foram retiradas somente no dia do abate.

As camas de frango foram adquiridas e sua matéria seca (MS) foi realizada para posterior redistribuição nos boxes. O material utilizado foi a maravalha com quantidade de 0,7 kg de MS/ave/alojada, de modo que todos os tratamentos tiveram a mesma quantidade (20 Kg de cama) adicionada em todos os boxes.

Nas primeiras duas semanas de idade das aves, foram utilizados comedouros tubulares infantis os quais foram substituídos gradativamente por comedouros tubulares com capacidade para 20 kg de ração após a primeira semana de idade. Os bebedouros foram tipo nipple desde a fase inicial até a fase final. O aquecimento inicial foi feito através de lâmpadas infra-vermelho de 250 watts, na temperatura ambiente entre 28 a 30°C, durante as duas primeiras semanas de vida. Os pintos foram vacinados contra a doença de Marek, Gumboro e Bouda no próprio incubatório, seguindo-se a vacinação no galpão de criação das aves, no 5º e 21º dias contra a Doença de Gumboro e no 7º dia contra a Doença de New castle, ambas por via ocular.

Foram registradas diariamente a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar com termômetros digitais, colocados na altura das aves. Foi usado o manejo de cortinas e de ventiladores para a garantia do conforto térmico das aves e o programa de luz de 24 horas. As aves receberam água e ração *ad libitum* durante todo o período experimental que foi dividido em três fases de criação: inicial (1a 21 dias de idade), crescimento (22 a 35 dias de idade) e final (36 a 42 dias de idade).

Para não ocorrer contaminação das camas devido à utilização de probióticos em alguns tratamentos, foram utilizados propés durante o manejo diário das aves.

Tratamentos experimentais

As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, suplementadas com minerais, vitaminas e aminoácidos, para atenderem às exigências nutricionais de cada fase de criação das aves (inicial, crescimento e final) de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2011) (Tabelas 1 e 2). Não foi utilizado promotor de crescimento.

Foi utilizada a matriz nutricional de cada enzima para a devida formulação das dietas onde, a enzima xilanase contribuiu com energia metabolizável 40 kcal/kg de ração, enzima fitase contribuiu com 0,15% de fósforo disponível e 0,12% de cálcio e a enzima protease contribuiu com 3,8% de proteína bruta; 3,8% de arginina digestível; 1,2% de lisina digestível; 3,6% de metionina + cistina digestível; 7,9% de treonina digestível; e 3% de triptofano digestível.

O probiótico adicionado às dietas está presente em um produto comercial em teste para aves, sendo adicionado no nível de 0,5kg/Ton de ração, contendo *Bacillus subtilis* (mínimo $0,735 \times 10^8$) e *Bacillus licheniformis* (mínimo $0,735 \times 10^8$).

Os tratamentos utilizados foram os seguintes:

- ✓ Tratamento 1: Dieta controle.
- ✓ Tratamento 2: Dieta T1 com adição de 500 ppm do probiótico.
- ✓ Tratamento 3: Dieta formulada com 20 ppm de fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase.
- ✓ Tratamento 4: Dieta T3 + 500 ppm de probiótico .

Tabela 1. Composição calculada das rações experimentais para a fase inicial, crescimento e final.

Macro Ingredientes	Inicial				Crescimento				Final			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Milho triturado	50,36	50,36	55,04	55,04	58,23	58,23	62,90	62,90	62,95	62,95	67,54	67,54
Farelo de soja	40,80	40,80	38,30	38,30	32,60	32,60	30,10	30,10	28,60	28,60	26,30	26,30
Óleo de soja	4,70	4,70	3,10	3,10	4,80	4,80	3,20	3,20	4,60	4,60	2,90	2,90
Fosfato bicálcico	1,86	1,86	1,05	1,05	1,90	1,90	1,09	1,09	1,75	1,75	0,94	0,94
Calcário fino	1,24	1,24	1,43	1,43	1,26	1,26	1,46	1,46	0,97	0,97	1,16	1,16
Sal comum	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,41	0,41	0,41	0,41
DL-Metionina 99%	0,22	0,22	0,20	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,18	0,18	0,16	0,16
L-Lisina HCl 78%	0,09	0,09	0,14	0,14	0,22	0,22	0,27	0,27	0,20	0,20	0,25	0,25
L-Treonina 98%	0,05	0,05	0,02	0,02	0,10	0,10	0,06	0,06	0,09	0,09	0,05	0,05
Enzimas*	0,00	0,00	0,042	0,042	0,00	0,00	0,042	0,042	0,00	0,00	0,042	0,042
Probiótico	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05
Supl. vit e min + Anti**	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

*20 ppm de fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase.**Suplemento vitamínico e mineral enriquecido por quilograma de ração: 8.000 UI vitamina A, 1.800 UI vitamina D₃, 12 mg vitamina E, 2 mg vitamina K₃, 1 mg vitamina B₁, 4 mg vitamina B₂, 1 mg vitamina B₆, 10 mcg vitamina B₁₂, 0,40 mg ácido fólico, 0,04 mg biotina, 28 mg niacina, 11 mg pantotenato de cálcio, 6 mg Cu, 0,10 mg Co, 1 mg I, 50 mg Fe, 65 mg Mn, 45 mg Zn, 0,21 mg Se, 500 mg cloreto de colina 50%, 12 mg antioxidante e agente anticoccidiano (salinomocina).

Tabela 2. Análise calculada dos níveis nutricionais das rações experimentais.

	Inicial				Crescimento				Final			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3000	3000	2960	2960	3100	3100	3060	3060	3200	3200	3160	3160
Proteína Bruta (%)	23.00	23.00	22.13	22.13	20.00	20.00	19.24	19.24	18.50	18.50	17.80	17.80
Arginina Total (%)	1.57	1.57	1.49	1.49	1.32	1.32	1.25	1.25	1.20	1.20	1.14	1.14
Arginina Digestível (%)	1.45	1.45	1.44	1.44	1.22	1.22	1.21	1.21	1.11	1.11	1.10	1.10
Lisina Total (%)	1.37	1.37	1.38	1.38	1.25	1.25	1.26	1.26	1.14	1.14	1.15	1.15
Lisina Digestível (%)	1.25	1.25	1.25	1.25	1.15	1.15	1.15	1.15	1.04	1.04	1.05	1.05
Metionina Total (%)	0.60	0.60	0.60	0.60	0.56	0.56	0.56	0.56	0.51	0.51	0.51	0.51
Metionina + Cistina Total (%)	0.98	0.98	0.94	0.94	0.90	0.90	0.86	0.86	0.83	0.83	0.80	0.80
Metionina Digestível (%)	0.57	0.57	0.56	0.56	0.54	0.54	0.52	0.52	0.49	0.49	0.47	0.47
Metionina + Cistina Digestível (%)	0.89	0.89	0.89	0.89	0.82	0.82	0.82	0.82	0.75	0.75	0.75	0.75
Treonina Total (%)	0.93	0.93	0.82	0.82	0.85	0.85	0.75	0.75	0.78	0.69	0.75	0.69
Treonina Digestível (%)	0.80	0.80	0.80	0.80	0.74	0.74	0.74	0.74	0.68	0.68	0.68	0.68
Triptofano Total (%)	0.28	0.28	0.27	0.27	0.24	0.24	0.22	0.22	0.21	0.21	0.20	0.20
Triptofano Digestível (%)	0.24	0.24	0.24	0.24	0.20	0.20	0.20	0.20	0.18	0.18	0.18	0.18
Isoleucina Total (%)	0.98	0.98	0.94	0.94	0.83	0.83	0.79	0.79	0.76	0.76	0.75	0.75
Isoleucina Digestível (%)	0.78	0.78	0.78	0.78	0.67	0.67	0.66	0.66	0.61	0.61	0.61	0.61
Leucina Total (%)	4.02	4.02	4.18	4.18	4.14	4.14	4.30	4.30	4.24	4.24	4.55	4.55
Leucina Digestível (%)	3.57	3.57	3.72	3.72	3.71	3.71	3.87	3.87	3.82	3.82	3.98	3.98
Valina Total (%)	1.08	1.08	1.04	1.04	0.93	0.93	0.89	0.89	0.86	0.86	0.85	0.85
Valina Digestível (%)	0.93	0.93	0.94	0.94	0.80	0.80	0.81	0.81	0.74	0.74	0.75	0.75
Fenilalanina Total (%)	1.15	1.15	1.11	1.11	0.99	0.99	0.95	0.95	0.91	0.91	0.88	0.88
Fenilalanina Digestível (%)	1.04	1.04	1.00	1.00	0.90	0.90	0.86	0.86	0.83	0.83	0.80	0.80
Fibra Bruta (%)	2.76	2.76	2.72	2.72	2.51	2.51	2.47	2.47	2.40	2.40	2.37	2.37
Cálcio (%)	1.00	1.00	0.88	0.88	1.00	1.00	0.88	0.88	0.85	0.85	0.73	0.73
Fósforo Total (%)	0.68	0.68	0.53	0.53	0.66	0.66	0.51	0.51	0.63	0.63	0.48	0.48
Fósforo Disponível (%)	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.42	0.42	0.42	0.42
Sódio (%)	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.18	0.18	0.18	0.18
Cloro (%)	0.32	0.32	0.33	0.33	0.35	0.35	0.36	0.36	0.33	0.33	0.34	0.34
Potássio (%)	1.07	1.07	1.03	1.03	0.91	0.91	0.86	0.86	0.83	0.83	0.79	0.79
Colina (%)	1.248	1.248	1.227	1.227	1.133	1.133	1.112	1.112	1.082	1.082	1.65	1.064

Delineamento experimental

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e nove repetições de 25 aves por unidade experimental.

Características avaliadas

Produção de cama das aves

Para caracterização da produção de camas, foram realizadas pesagens no início (20kg de cama por boxe) e no final de criação de cada lote (42 dias de criação), sendo coletadas amostras representativas e significativas (10%) para análises dos teores de matéria seca (MS) utilizados nos cálculos da produção de cama na MS (kg) e na matéria natural (MN) (kg), e por ave alojada na MS (kg/ave) e quantidade de excretas na MS por ave alojada (QEA) (kg/ave).

Para cada lote foi determinado o coeficiente de resíduo (Cr), o qual foi utilizado para se determinar o potencial de geração de resíduo em um sistema de produção. Na avicultura de corte, significa a relação entre a quantidade de cama gerada (MS) e o peso vivo dos frangos produzidos no sistema ($Cr = \text{kg de cama de frango (MS)} / \text{kg de peso vivo das aves}$), conforme adaptado de Risser (1985) e Strehler e Sutzle (1987).

Análise da composição da cama

Determinação dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais e termotolerantes

Para as análises de coliformes totais e termotolerantes da cama de frango de corte, foi utilizada a técnica de tubos múltiplos descrita por Silva et al. (1997).

Determinação da composição química da cama

Com as amostras coletadas foram realizadas análises para verificação dos teores de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K), segundo Bataglia et al. (1983).

Para quantificação do teor de N, foram utilizadas digestão sulfúrica para obtenção do extrato e a determinação analítica utilizando-se o método semi-micro Kjeldhal, cujo princípio baseia-se na transformação do nitrogênio amoniacal ((NH₄)₂SO₄) em amônia (NH₃), a qual é fixada pelo ácido bórico e

posteriormente titulada com H_2SO_4 até nova formação de $(NH_4)_2SO_4$, na presença do indicador ácido/base.

O K foi quantificado por meio da digestão nitro-perclórica para obtenção do extrato, posteriormente submetido a espectrofotômetro de absorção atômica GBC, modelo 932 AA, e o P foi determinado por método colorimétrico, utilizando-se espectrofotômetro HACH modelo DR-2000.

Determinação das fibras em detergente neutro e ácido e lignina

As determinações dos conteúdos de fibras em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA), e lignina foram efetuadas conforme metodologias propostas no AOAC (1980) de amostras de cama de frango.

Análises estatísticas

Os dados foram analisados pelo programa SAS[®] (SAS Institute, 2002) e em caso de significância estatística as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

4. Resultados e discussão

Produção de cama das aves

No presente estudo não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos para as características, de produção de cama na MS e MN total, por ave na MS, Cr e QEA. Os tratamentos que receberam aditivos tiveram semelhante produção de resíduos, quando comparados ao tratamento controle.

Silva et al. (2007), verificaram redução de 10% no coeficiente de resíduo, com o uso de enzimas na dieta de frangos de corte. Santos (2010) também encontraram declive na produção de resíduo (5,3%) quando foram adicionadas enzimas isoladas ou em combinação com um probiótico.

Em termos práticos, a suplementação enzimática em consórcio com um probiótico, faria com que aves que receberam essa dieta, tivessem incremento nutricional proporcionado pelos mesmos, aumentando o peso das aves e reduzindo a produção de resíduos. O animal teria a possibilidade de obter mais nutrientes de ingredientes vegetais e haveria menor quantidade de

material não-digerido para ser excretado, o que não foi observado nesse trabalho.

Dessa maneira, os resultados encontrados neste trabalho poderiam estar relacionados, também, ao nível de inclusão das enzimas e do probiótico, que pode não ter sido suficiente para promover melhor no aproveitamento dos nutrientes das rações e, conseqüentemente, a redução na produção de resíduos.

Tabela 3. Produção de cama na MN, e MS, e por ave na MS, coeficiente de resíduo (Cr) e quantidade de excretas na MS por ave alojada (QEA), de frangos de corte alimentados com probióticos e enzimas.

Tratamentos*	Produção de cama			Cr (kg/kg)	QEA (kg/ave)
	MN (kg)	MS (kg)	MS (kg/ave)		
T1	55,03	45,84	1,87	0,64	1,42
T2	53,90	44,53	1,82	0,66	1,38
T3	55,95	44,84	1,81	0,65	1,45
T4	55,22	45,02	1,83	0,67	1,44
Valores de F	0,48	0,22	0,24	0,29	0,34
Valores de P	0,69 ^{NS}	0,88 ^{NS}	0,86 ^{NS}	8,60 ^{NS}	0,79 ^{NS}
CV ¹ (%)	6,68	7,89	7,82	0,83	10,45

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1 + 500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 +500 ppm de probiótico. ^{NS} não significativo (p>0,05).

Análise da composição da cama

Determinação dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais e termotolerantes

Os dados para as características de coliformes estão expressos em NMP/100mL de diluição da cama de frango. Observou-se redução tanto no número de coliformes totais como termotolerantes nos tratamentos que receberam os aditivos. A maior redução ocorreu no tratamento que houve a combinação de enzimas+probiótico (T4), seguido de T3 e T2. Esses resultados demonstram que esses aditivos quando adicionados em dietas de frangos de corte melhoraram a qualidade da cama reduzindo a carga microbiológica poluidora das mesmas.

Em condições de confinamento, as enfermidades estão diretamente relacionadas à contaminação ambiental (SOBESTIANSKY, 2002). É importante salientar, que no caso de frangos de corte, ocorre elevada deposição diária de

dejetos à cama, além de ração e água, contendo alguns tipos micro-organismos patogênicos.

Segundo Kiehl (2004) a natureza da população microbiana, o número e as espécies existentes, dependem das condições favoráveis presentes no substrato. Desta forma, adição de aditivos na dieta proporciona um ambiente desfavorável para o crescimento de micro-organismos devido à competição por alimento no substrato.

Brito e Tagliari (2007) constataram que a adição de um produto comercial diretamente na cama de frango, à base de *Bacillus subtilis* e enzimas proteases, reduziu a quantidade de *E. coli* na cama a partir de 24 horas de contato e também preveniu significativamente a ocorrência de celulite em frangos expostos às cepas de *E. coli* patogênicas.

Tabela 4. Numero mais provável de coliformes totais e termotolerantes (NMP/100 ml) de cama de frango de corte criados até 42 dias de idade, que receberam dieta com probióticos e enzimas.

Tratamentos*	Características	
	Coliformes Totais (NMP/100ml)	Coliformes Termotolerantes (NMP/100ml)
T1	11,00x10 ⁷	7,80x10 ⁷
T2	7,80x10 ⁷	7,80x10 ⁷
T3	0,68x10 ⁷	0,68x10 ⁷
T4	0,14x10 ⁷	0,14x10 ⁷

*T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3+ 500 ppm de probiótico .

Determinação da composição química da cama

Ocorreu diferença significativa ($p < 0,005$), entre os tratamentos para N e P, onde o tratamento contendo somente probiótico (T2) apresentou maior quantidade de N inserido na cama, seguidos do tratamentos T3, T4 e T1 (Tabela 5).

O tratamento controle sem adição de aditivos foi o que acarretou maior redução de N na cama de frango, o que não era esperado, pois quando a dieta contém aditivos, principalmente enzimas exógenas, a ave aproveita de forma eficaz os nutrientes presentes nos ingredientes das rações reduzindo sua excreção para o ambiente. Segundo Costa et al. (2004) as enzimas exógenas, forçam a redução da eliminação de substâncias poluentes como o fósforo e o

nitrogênio, que podem ser excretados em maior ou menor quantidade, dependendo da manipulação das fórmulas das rações.

Para o P observou-se nos tratamentos controle e só com a adição de probiótico (T1 e T2), apresentaram maior concentração desse nutriente, para os tratamentos com adição de enzimas T3 e T4, obteve-se menor concentração de P na cama de frango. Isso pode ter ocorrido devido à presença da enzima fitase nas dietas T3 e T4, cuja utilização tem possibilitado maior aproveitamento de nutrientes, principalmente o fósforo, devido à hidrólise total ou parcial do ácido fítico presente em alimentos de origem vegetal. Com isso, espera-se melhorar o aproveitamento desses nutrientes, por meio da quebra de fatores antinutricionais, pela utilização de fitase microbiana nas dietas, reduzindo a excreção desse nutriente ao ambiente.

A redução do teor de fósforo de dieta suplementada com fitase nas diferentes fases de criação está relacionada à redução média de 33% do fósforo total da cama, em comparação com a média dos níveis reduzidos de fósforo disponível no tratamento controle (APPLEGATE et al., 2003). Esses resultados de quantificação de minerais são relevantes, pois com a proibição da utilização da cama de frango na alimentação animal, o destino final das mesmas é o solo (adubo), quando não há tratamento adequado. O produtor necessita de dados para realizar adubação correta, quando se utiliza a cama de frango “in natura”.

Tabela 5. Composição química (N, P e K) dos diferentes tipos de cama de frango de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas.

Tratamentos*	Composição Química								
	(%)			Kg			Kg/Kg de cama MS		
	N	P	K	N	P	K	N	P	K
T1	2,64 D	2,47 A	3,18	1,21 B	1,14 A	1,44	0,026 D	0,025 A	0,031
T2	2,99 A	2,56 A	3,20	1,34 A	1,15 A	1,42	0,030 A	0,026 A	0,032
T3	2,73 C	1,90 B	3,16	1,23 B	0,85 B	1,43	0,027 C	0,019 B	0,033
T4	2,90 B	1,87 B	3,07	1,31 A	0,84 B	1,43	0,029 B	0,018 B	0,032
Valores de F	72,4	130,07	0,72	3,14	28,07	0,04	72,43	121,90	0,72
Valores de P	<0,0001**	<0,0001**	0,5456 ^{NS}	0,039**	<0,0001**	,0,9908 ^{NS}	<0,0001**	<0,0001**	0,5456 ^{NS}
CV¹ (%)	1,96	4,41	5,27	7,86	9,53		1,96	4,49	5,52

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de prpbíótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Determinação das fibras em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) e lignina

Observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) na composição química em % de FDA, FDN e lignina, em kg e kg/kg de cama na MS para FDA e lignina somente. Os tratamentos que receberam aditivos apresentaram redução de FDA (%) e FDN (kg e kg/kg de cama MS) em relação ao tratamento controle. Semelhante comportamento não foi observado para a lignina onde o tratamento que acarretou menor valor de lignina foi o consórcio de enzimas + probiótico (Tabela 6).

Acredita-se que o uso de enzimas exógenas na ração apresente potencial para a melhoria da eficiência produtiva das aves ocasionado pela melhoria da digestão de produtos de baixa qualidade, como os polissacarídeos não amilácios (PNA's) ou mesmo por aproveitar ainda mais os nutrientes de alimentos de elevada digestibilidade (TORRES et al., 2003), reduzindo assim a quantidade de fibras de difícil degradação na cama, como exposto no trabalho.

Assim no campo pode ocorrer variabilidade na composição química da cama de frango devido ao fato de haver diferenças nos materiais utilizados como cama, no balanço nutricional, no manejo dos frangos de corte e na reutilização da cama. Daí a necessidade de se estudar a sua composição de acordo com a alimentação já que esses dados são escassos na literatura.

Tabela 6. Composição química dos diferentes tipos de cama de frango de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas.

Tratamentos*	Composição Química								
	(%)			Kg			kg/kg de cama MS		
	FDN	FDA	Lignina	FDN	FDA	Lignina	FDN	FDA	Lignina
T1	57,51 A	33,06 A	8,8 C	21,06	15,16 A	4,03 A	0,46	0,33 A	0,19 B
T2	54,95 B	30,41 B	9,38 B	19,88	13,54 B	4,18 A	0,44	0,30 B	0,21 AB
T3	55,46 B	27,18 C	9,81 A	20,38	12,18 B	4,40 A	0,45	0,27 C	0,23 A
T4	52,62 C	27,01 C	7,10 D	20,35	12,17 B	3,20 B	0,46	0,28 C	0,16 C
Valores de F	109,62	197,23	171,10	0,18	15,94	19,09	0,22	197,23	27,50
Valores de P	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	0,908**	<0,0001**	<0,0001**	0,88 ^{NS}	<0,0001**	<0,0001**
CV¹ (%)	1,04	2,10	3,10	16,42	8,06	9,11	7,89	2,09	8,09

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de prpbiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

5. Conclusões

A adição de enzimas exógenas e seu consórcio com probiótico *Bacillus sp.*, na dieta, mantém a produção de resíduos e reduz a carga microbológica, a quantidade de fósforo, e as fibras de difícil decomposição da cama de frango (FDA e FDN).

6. Referências

APPLEGATE, T. J.; ANGEL, R.; CLASSEN, H. L. Effect of dietary calcium, 25-hydroxycholecalciferol, or bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, p.1140-1148, 2003.

AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. **Official methods of analysis**. 13. ed. Washington, 1980.

BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: Instituto Agronômico, 1983. 48 p. (Boletim Técnico, 78).

BRITO, B. G.; TAGLIARI, K. C. Efeito da utilização de Impactp na ocorrência de celulite em frangos de corte. **Hora Vet.**, Porto Alegre, v. 26, n. 155, p. 13-20, 2007.

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

KIEHL, E. J. **Manual de compostagem**. 4. ed. Piracicaba: Ceres, 2004. 173 p.

LUDKE, M. C. M. M.; LOPEZ, J.; LUDKE, J. V. Fitase em dietas para suínos em crescimento: (i) impacto ambiental. **Ciênc. Rur.**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 97-102, 2002.

RISSER, P. **Resíduos agrícolas e florestais: a biomassa como fonte de energia.** Moscou: Mir, 1985. p. 25-45.

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

SANTOS, I. I. **Efeito de probiótico, óleos essenciais e enzimas em parâmetros produtivos e sanitários de frango de corte.** 2010. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SAS INSTITUTE. **SAS® user' guide:** statistics. Cary, NC, 2002.

SILVA, B.K.R.; PINHEIRO, C.C.; NARDI, V.K.; DAHLKE, Fabiano.; WARPECHOWSKI, M.B. Efeito da adição de enzimas em dietas com alto e baixo teor de fibra sobre a produção de dejetos, nitrogênio e água por frangos de corte. In: **Zootec** - Congresso Brasileiro de Zootecnia, 2007, Londrina. Anais..., 2007. v. CD-rom. p. 1-3.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** São Paulo: Varela, 1997. 295 p.

SOBESTIANSKY, J. **Sistema intensivo de produção de suínos – programa de biossegurança.** Goiânia, GO: Art 3, 2002. 130 p.

STREHLER, A.; SUTZLE, W. Biomass residues. In: HALL, D. O. (Ed.). **Biomass: regenerable energy.** Chichester: John Wiley & Sons, 1987.

TORRES, D. M. Valor nutricional de farelos de arroz suplementados com fitase, determinado por diferentes metodologias com aves. 2003. 172 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

CAPÍTULO 4 - Efeito de probióticos e enzimas sobre a cama de frango tratada em biodigestores contínuos

Resumo- O objetivo do estudo foi avaliar a utilização de biodigestores contínuos sobre o pH, os teores de sólidos totais (ST) e de sólidos voláteis (SV), a quantificação dos minerais, de fibras em detergente neutro (FDN) e de fibra em detergente ácido (FDA), de lignina, dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais e termotolerantes, dos afluentes e dos efluentes, do volume e potencial de produção e a composição química do biogás, de camas de frango tratadas com dietas suplementadas com probióticos e enzimas. Foram utilizados 900 pintos de corte da linhagem Cobb 500[®], distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 9 repetições com 25 aves cada. Os tratamentos consistiram em diferentes tipos de dietas: T1: controle; T2: T1 + 500 ppm do probiótico contendo *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; T3: dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase (0,15% de fósforo disponível e 0,12% de cálcio), 200 ppm de protease (3,8% de proteína bruta; 3,8% de arginina digestível; 1,2% de lisina digestível; 3,6% de metionina + cistina digestível; 7,9% de treonina digestível; e 3% de triptofano digestível) e 200 ppm de xilanase (energia metabolizável 40 kcal/kg de ração); T4: T3 + 500 ppm do probiótico. Ao final do período experimental (42 dias de idade) as camas provenientes de cada tratamento foram coletadas, identificadas e preparadas (4% de sólidos totais) e distribuídas em 4 biodigestores contínuos cada uma. O volume de carga diária foi de 2kg (cama + água) para todos os biodigestores. Amostras dos afluentes e dos efluentes foram coletadas semanalmente, para determinação do pH, teores de ST e SV, quantificação dos minerais (N, P e K) e FDN e FDA e lignina, assim como amostras do gás de cada biodigestor e analisados em cromatógrafo de fase gasosa Finigan GC-2001 para determinação da composição do biogás. O volume de biogás foi medido diariamente, baseando-se no deslocamento vertical dos gasômetros durante 85 dias de produção. Foi realizada a análise de variância dos dados e em caso de significância estatística foi adotado o procedimento de comparação das médias pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Observou-se redução do pH, ST, SV, nutrientes e fração fibrosa quando se comparou o afluente com o efluente tratados em biodigestores contínuos. A eficiência de tratamento em biodigestores contínuos foi superior a 90 % para coliformes fecais e termotolerantes, para o período de 85 dias para todos os tratamentos. Os biodigestores que possuíam cama que receberam dietas somente com enzimas tiveram maior produção de biogás e metano, o mesmo ocorreu para os potenciais de produção para ST e SV adicionados e reduzidos. Os aditivos não afetaram a produção de metano em %, onde todos os tratamentos obtiveram valores acima de 70%. A adição de enzimas exógenas na dieta de frangos de corte influencia a cama, e, conseqüentemente, aumentam a produção de biogás.

Palavras-chaves: biodigestor contínuo, biogás, cama de frango, metano .

1. Introdução

O aumento da demanda pela carne de frango favorece a geração de maior volume de resíduos. Estes por sua vez, preocupam os produtores pela dificuldade de tratamento dos mesmos. Além disso, a avicultura de corte consome grande quantidade de energia elétrica para manter o sistema de alimentação, ventilação e aquecimento das aves. Sendo assim, estudos visando à sustentabilidade energética da atividade tem sido desenvolvidos.

Uma alternativa é o biogás produzido a partir da biodigestão da cama de frango, pois o mesmo pode ser utilizado para gerar energia na granja, com a biodigestão anaeróbia ocorre o isolamento dos resíduos, e redução da população de moscas, de parasitos e patógenos ao homem e aos animais, assim como redução de odores, de sólidos e das demandas químicas e bioquímicas de oxigênio dos resíduos (LUCAS JUNIOR; SANTOS 2000).

A fermentação da cama de aviário resulta na geração de biogás, o qual, de acordo com Edwards e Daniel (1992), consiste de aproximadamente 60% de metano e 38% de dióxido de carbono. Os 2% restantes são vapor d'água, amônia e sulfeto de hidrogênio.

O efluente da biodigestão pode ser utilizado como biofertilizante de plantas, por ser fonte de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, cobre, manganês, e outros minerais (MAGALHÃES et al., 2001).

Pouco se sabe da influência da dieta sobre a composição da cama de frango na produção de biogás. Diante do exposto, foi desenvolvido este estudo com frangos de corte que receberam uma dieta contendo aditivos, e avaliou-se a sua influencia sobre a cama tratadas em biodigestores contínuos.

2. Objetivo

Objetivou-se avaliar, a biodigestão anaeróbia de camas de frangos de corte alimentados com probiotico e enzimas adicionados nas dietas sobre, o pH, teores de sólidos totais (ST) e voláteis (SV), quantificação dos minerais e de fibras em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) e lignina, números mais prováveis (NMP) de coliformes totais e termotolerantes, de afluentes e efluentes, volume, potências de produção e composição química do biogás.

3. Material e métodos

Aves, instalações e manejo

Foram utilizados 900 pintos de corte da linhagem Cobb 500®, provenientes de um mesmo lote de matrizes, com idade e linhagem iguais. As aves foram alojadas no Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – campus de Jaboticabal – São Paulo, em um galpão de alvenaria com 36 boxes, cobertura de telha de barro, piso de concreto, paredes laterais com 0,30 m de altura, completados com tela de arame até o telhado e cortinado externo móvel, dividido em boxes de 3,2 x 1,4m, separados por muretas de alvenaria de 0,40 m de altura e completadas com tela de arame até uma altura de 1,80 m.

Nas primeiras duas semanas de idade das aves, foram utilizados comedouros tubulares infantis, os quais foram substituídos gradativamente por comedouros tubulares com capacidade para 20 kg de ração após a primeira semana de idade. Os bebedouros foram tipo nipple desde a fase inicial até a fase final. O aquecimento inicial foi feito através de lâmpadas infra-vermelho de 250 watts, procurando manter a temperatura ambiente entre 28 a 30°C, durante as duas primeiras semanas de vida. Os pintos foram vacinados contra a doença de Marek, Gumboro e Bouda no incubatório, seguindo-se a vacinação no galpão de criação das aves, no 5º e 21º dias contra a Doença de Gumboro e no 7º dia contra a Doença de New Castle, ambas por via ocular.

A cama utilizada foi a maravalha com uma quantidade de 0,7 kg de matéria seca/ave alojada, de modo que todos os tratamentos tiveram a mesma quantidade (20 kg de cama) em todos os boxes.

Foram registradas diariamente a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar com termômetro digital, colocados na altura das aves. Foi usado o manejo de cortinas e de ventiladores para a garantia do conforto térmico das aves. O programa de luz adotado foi o de 24 horas de luz, durante todo o período experimental. As aves receberam água e ração *ad libitum* durante todo o período experimental que foi dividido em três fases de criação: inicial (1a 21 dias de idade), crescimento (22 a 35 dias de idade) e final (36 a 42 dias de idade).

Para não ocorrer contaminação das camas devido à utilização de probióticos em alguns tratamentos, foram utilizados propés durante o manejo diário das aves.

Local, cama e preparação do substrato

As aves foram criadas até 42 dias de idade, após as camas de frango foram retiradas dos boxes e identificadas por tratamento (T1: dieta controle sem aditivos; T2: T1 + 500 ppm do probiótico contendo *Bacillus subtilis* (mínimo $0,735 \times 10E8$) e *Bacillus licheniformis* (mínimo $0,735 \times 10E8$); T3: T1 + 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e xilanase); T4: T1+T2+T3). As camas foram acondicionadas em baldes plásticos e levadas ao Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal / UNESP.

A cama produzida foi armazenada e dividida em partes, para compor a carga diária dos biodigestores contínuos. Com estes procedimentos, a aquisição de dados permitiu o conhecimento dos efeitos das enzimas e probiótico sobre o potencial de produção de biogás para aproveitamento de forma contínua (biodigestores com cargas diárias). Estes dados são particularmente importantes para o dimensionamento de sistemas de biodigestão.

O substrato utilizado para o abastecimento dos biodigestores foi a cama de frango + água, e o volume da carga foi o mesmo para todos os biodigestores (2litros/dia) por um período de 85 dias (Tabela 1). Em cada abastecimento, o substrato foi preparado com teor de sólidos totais próximo a 4,0%, segundo modelo proposto por Lucas Junior (1994). Depois de preparado, foi feita a separação de sólidos em peneiras.

Tabela 1. Quantidade de substratos, em kg, adicionados aos biodigestores contínuos diariamente.

Cama	Água	Total
0,229	1,771	2,000

Biodigestores

Foram construídos biodigestores contínuos (Figura 1 e 2), para o ensaio de biodigestão anaeróbia das camas de frango.

Os biodigestores contínuos foram constituídos de duas partes distintas; sendo um deles o recipiente com o material em fermentação e o outro o gasômetro. O recipiente com o material em fermentação foi composto por um cilindro reto de PVC com diâmetro de 300 mm e com 1 m de comprimento tendo as extremidades fixadas

com duas placas de PVC com 1,5 cm de espessura de cada lado. Em uma placa foi fixado um cano de entrada por onde se fez o abastecimento e na extremidade foram fixados dois canos, sendo um destinado à saída do biofertilizante e outro a saída do gás.

O gasômetro foi constituído de dois cilindros de 250 e 300 mm de diâmetro e encontram-se inseridos, um no interior do outro, de tal forma que o espaço existente entre a parede externa do cilindro interior e a parede interna do cilindro exterior comporta um volume de água (“selo de água”), atingindo profundidade de 500 mm. O cilindro de 300 mm de diâmetro foi fixado sobre uma placa de PVC com 2,5 cm de espessura, recebendo o cilindro de 250 mm de diâmetro no seu interior. O cilindro de 250 mm diâmetro teve uma das extremidades vedadas com um cap que recebeu o gás produzido, a outra extremidade estava emborcada no selo de água para armazenar o gás produzido. Os gasômetros foram dispostos sobre uma bancada, em condições de temperatura ambiente, abrigados da luz solar e chuvas.



Figura 1. Biodigestores experimentais dispostos em uma bancada (vista frontal) e respectivos gasômetros.



Figura 2. Biodigestor contínuo (vista lateral).

Tratamentos experimentais

As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, suplementadas com minerais, vitaminas e aminoácidos, para atenderem às exigências nutricionais de cada fase de criação das aves (inicial, crescimento e final) de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2011) (Tabelas 1 e 2). Não foi utilizado promotor de crescimento.

Foi utilizada a matriz nutricional de cada enzima para a devida formulação das dietas onde, a enzima xilanase contribuiu com energia metabolizável 40 kcal/kg de ração, enzima fitase contribuiu com 0,15% de fósforo disponível e 0,12% para cálcio e a enzima protease contribuiu com 3,8% de proteína bruta; 3,8% de arginina digestível; 1,2% de lisina digestível; 3,6% de metionina + cistina digestível; 7,9% de treonina digestível; e 3% de triptofano digestível.

O probiótico adicionado às dietas está presente em um produto comercial em teste para aves, sendo adicionado no nível de 0,5kg/Ton de ração, contendo *Bacillus subtilis* (mínimo $0,735 \times 10^8$) e *Bacillus licheniformis* (mínimo $0,735 \times 10^8$).

Os tratamentos consistiram em camas de frangos de corte que receberam diferentes tipos de dietas:

- ✓ Tratamento 1: Dieta controle.

- ✓ Tratamento 2: Dieta T1 com adição de 500 ppm do probiótico.
- ✓ Tratamento 3: Dieta formulada com 20 ppm de fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase.
- ✓ Tratamento 4: Dieta T3 + 500 ppm de probiótico .

Tabela 2. Composição calculada das rações experimentais para a fase inicial, crescimento e final.

Macro Ingredientes	Inicial				Crescimento				Final			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Milho triturado	50,36	50,36	55,04	55,04	58,23	58,23	62,90	62,90	62,95	62,95	67,54	67,54
Farelo de soja	40,80	40,80	38,30	38,30	32,60	32,60	30,10	30,10	28,60	28,60	26,30	26,30
Óleo de soja	4,70	4,70	3,10	3,10	4,80	4,80	3,20	3,20	4,60	4,60	2,90	2,90
Fosfato bicálcico	1,86	1,86	1,05	1,05	1,90	1,90	1,09	1,09	1,75	1,75	0,94	0,94
Calcário fino	1,24	1,24	1,43	1,43	1,26	1,26	1,46	1,46	0,97	0,97	1,16	1,16
Sal comum	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,41	0,41	0,41	0,41
DL-Metionina 99%	0,22	0,22	0,20	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,18	0,18	0,16	0,16
L-Lisina HCl 78%	0,09	0,09	0,14	0,14	0,22	0,22	0,27	0,27	0,20	0,20	0,25	0,25
L-Treonina 98%	0,05	0,05	0,02	0,02	0,10	0,10	0,06	0,06	0,09	0,09	0,05	0,05
Enzimas*	0,00	0,00	0,042	0,042	0,00	0,00	0,042	0,042	0,00	0,00	0,042	0,042
Probiótico	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05
Supl. vit e min + Anti**	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

*20 ppm de fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase.**Suplemento vitamínico e mineral enriquecido por quilograma de ração: 8.000 UI vitamina A, 1.800 UI vitamina D₃, 12 mg vitamina E, 2 mg vitamina K₃, 1 mg vitamina B₁, 4 mg vitamina B₂, 1 mg vitamina B₆, 10 mcg vitamina B₁₂, 0,40 mg ácido fólico, 0,04 mg biotina, 28 mg niacina, 11 mg pantotenato de cálcio, 6 mg Cu, 0,10 mg Co, 1 mg I, 50 mg Fe, 65 mg Mn, 45 mg Zn, 0,21 mg Se, 500 mg cloreto de colina 50%, 12 mg antioxidante e agente anticoccidiano (salinomicina).

Tabela 3. Análise calculada dos níveis nutricionais das rações experimentais.

	Inicial				Crescimento				Final			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3000	3000	2960	2960	3100	3100	3060	3060	3200	3200	3160	3160
Proteína Bruta (%)	23.00	23.00	22.13	22.13	20.00	20.00	19.24	19.24	18.50	18.50	17.80	17.80
Arginina Total (%)	1.57	1.57	1.49	1.49	1.32	1.32	1.25	1.25	1.20	1.20	1.14	1.14
Arginina Digestível (%)	1.45	1.45	1.44	1.44	1.22	1.22	1.21	1.21	1.11	1.11	1.10	1.10
Lisina Total (%)	1.37	1.37	1.38	1.38	1.25	1.25	1.26	1.26	1.14	1.14	1.15	1.15
Lisina Digestível (%)	1.25	1.25	1.25	1.25	1.15	1.15	1.15	1.15	1.04	1.04	1.05	1.05
Metionina Total (%)	0.60	0.60	0.60	0.60	0.56	0.56	0.56	0.56	0.51	0.51	0.51	0.51
Metionina + Cistina Total (%)	0.98	0.98	0.94	0.94	0.90	0.90	0.86	0.86	0.83	0.83	0.80	0.80
Metionina Digestível (%)	0.57	0.57	0.56	0.56	0.54	0.54	0.52	0.52	0.49	0.49	0.47	0.47
Metionina + Cistina Digestível (%)	0.89	0.89	0.89	0.89	0.82	0.82	0.82	0.82	0.75	0.75	0.75	0.75
Treonina Total (%)	0.93	0.93	0.82	0.82	0.85	0.85	0.75	0.75	0.78	0.69	0.75	0.69
Treonina Digestível (%)	0.80	0.80	0.80	0.80	0.74	0.74	0.74	0.74	0.68	0.68	0.68	0.68
Triptofano Total (%)	0.28	0.28	0.27	0.27	0.24	0.24	0.22	0.22	0.21	0.21	0.20	0.20
Triptofano Digestível (%)	0.24	0.24	0.24	0.24	0.20	0.20	0.20	0.20	0.18	0.18	0.18	0.18
Isoleucina Total (%)	0.98	0.98	0.94	0.94	0.83	0.83	0.79	0.79	0.76	0.76	0.75	0.75
Isoleucina Digestível (%)	0.78	0.78	0.78	0.78	0.67	0.67	0.66	0.66	0.61	0.61	0.61	0.61
Leucina Total (%)	4.02	4.02	4.18	4.18	4.14	4.14	4.30	4.30	4.24	4.24	4.55	4.55
Leucina Digestível (%)	3.57	3.57	3.72	3.72	3.71	3.71	3.87	3.87	3.82	3.82	3.98	3.98
Valina Total (%)	1.08	1.08	1.04	1.04	0.93	0.93	0.89	0.89	0.86	0.86	0.85	0.85
Valina Digestível (%)	0.93	0.93	0.94	0.94	0.80	0.80	0.81	0.81	0.74	0.74	0.75	0.75
Fenilalanina Total (%)	1.15	1.15	1.11	1.11	0.99	0.99	0.95	0.95	0.91	0.91	0.88	0.88
Fenilalanina Digestível (%)	1.04	1.04	1.00	1.00	0.90	0.90	0.86	0.86	0.83	0.83	0.80	0.80
Fibra Bruta (%)	2.76	2.76	2.72	2.72	2.51	2.51	2.47	2.47	2.40	2.40	2.37	2.37
Cálcio (%)	1.00	1.00	0.88	0.88	1.00	1.00	0.88	0.88	0.85	0.85	0.73	0.73
Fósforo Total (%)	0.68	0.68	0.53	0.53	0.66	0.66	0.51	0.51	0.63	0.63	0.48	0.48
Fósforo Disponível (%)	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.42	0.42	0.42	0.42
Sódio (%)	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.18	0.18	0.18	0.18
Cloro (%)	0.32	0.32	0.33	0.33	0.35	0.35	0.36	0.36	0.33	0.33	0.34	0.34
Potássio (%)	1.07	1.07	1.03	1.03	0.91	0.91	0.86	0.86	0.83	0.83	0.79	0.79
Colina (%)	1.248	1.248	1.227	1.227	1.133	1.133	1.112	1.112	1.082	1.082	1.66	1.064

Delineamento experimental

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e 4 repetições de biodigestores contínuos.

Características avaliadas

Ensaio de biodigestão anaeróbia

Determinação do pH

Foram separadas amostras do afluente e efluente, dos quais com a utilização do pHmetro obteve-se o valor exato do pH de cada solução. Determinando se a solução era ácida (pH de 0 a 6,9), neutra (pH = 7) ou alcalina (pH de 7,1 a 14).

Determinação dos teores de sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV)

Os teores de ST e SV das amostras coletadas de afluente e efluente durante os ensaios de biodigestão anaeróbia foram determinados de acordo com a metodologia descrita por APHA (1995).

Quantificação de N, P e K do afluente e efluente (biofertilizante)

As amostras do afluente e do efluente foram coletadas durante o desenvolvimento do experimento de biodigestão e foram pré-secadas à 60° C, em estufa de circulação forçada de ar, por 48 horas. Em seguida foram finamente moídas, em moinho de facas, e então utilizadas para a digestão da matéria orgânica.

Para quantificação do teor de nitrogênio, foi utilizada a digestão sulfúrica para obtenção do extrato e a determinação analítica o método semi-micro Kjeldhal, cujo princípio baseia-se na transformação do nitrogênio amoniacal ((NH₄)₂SO₄) em amônia (NH₃), a qual é fixada pelo ácido bórico e posteriormente titulada com H₂SO₄ até nova formação de (NH₄)₂SO₄, na presença do indicador ácido/base.

O potássio (K) foi quantificado utilizando-se digestão nitro-perclórica para obtenção do extrato, posteriormente submetido a espectrofotômetro de

absorção atômica GBC, modelo 932 AA, sendo o fósforo determinado por método colorimétrico, utilizando-se espectrofotômetro HACH modelo DR-2000.

Determinação das fibras em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) e lignina

As determinações dos conteúdos de fibras em detergente neutro e ácido, celulose e lignina foram efetuadas conforme metodologias propostas no AOAC (1980) dos afluentes e efluentes dos biodigestores contínuos.

Determinação dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais e termotolerantes

Para as análises de coliformes totais e termotolerantes, foram coletadas amostras do afluente no início do experimento e do efluente após 30, 60 e 85 dias de tratamento em biodigestores contínuos. Foi utilizada a técnica de tubos múltiplos descritas por Silva et al. (1997). Os resultados foram expressos em NMP/100ml de afluente e efluente, e a % de eficiência do tratamento em biodigestores contínuos.

Determinação do volume de biogás e cálculo dos potenciais de produção de biogás

As camas foram separadas por tratamento e armazenadas para utilização no fornecimento diário de biodigestores contínuos. Cargas diárias foram preparadas utilizando-se como substrato as camas de frango e água, sendo que, após a diluição, passou por peneira (malha de 3 mm), separando-se as frações sólida e líquida. A fração líquida foi adicionada nos biodigestores (2 litros de carga diária/biodigestor, com tempo de retenção hidráulica de 30 dias).

Para a determinação dos volumes de biogás produzidos diariamente, foi medido o deslocamento vertical dos gasômetros e os valores foram multiplicados pela área da seção transversal interna dos gasômetros, ou seja, 0,0507 m². Após cada leitura os gasômetros foram zerados utilizando-se o registro de descarga do biogás. A correção do volume de biogás foi feita para as condições de 1 atm e 20°C, e efetuada com base no trabalho de Caetano (1985), obtendo-se o volume de biogás acumulado e diário (m³).

Os potenciais de produção de biogás foram calculados utilizando-se os dados de volume de biogás diário e as quantidades de substrato, de sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV) adicionados nos biodigestores, além das quantidades de ST e SV reduzidos durante o processo de biodigestão anaeróbia. Os valores foram expressos em m³ de biogás/kg de substrato, de ST e SV adicionados e reduzidos.

Análise da composição do biogás produzido

As análises da composição do biogás produzido em biodigestores abastecidos com cama de frango foram realizadas semanalmente para determinação dos teores de metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂) e outros gases. Através de um cromatógrafo de fase gasosa Finigan GC-2001, equipado com as colunas Porapak Q e Peneira Molecular, e detector de condutividade térmica.

Análises estatísticas

Os dados foram analisados pelo programa SAS[®] (SAS Institute, 2002) e em caso de significância estatística, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. Resultados e Discussão

Determinação do pH

Observou-se redução do pH quando se comparou o afluente com o efluente de todas as camas de frango tratadas em biodigestores contínuos com tempo de retenção hidráulica (TRH) de 30 dias (Tabela 4).

O valor de pH é um importante indicador do desenvolvimento metanogênico, ou seja, a produção ótima de biogás é conseguida quando o valor do pH do conteúdo do biodigestor está próximo a 7. No processo de biodigestão, o período inicial de fermentação produz grandes quantidades de ácidos orgânicos pelas bactérias formadoras de ácidos e, assim, o pH no interior do biodigestor pode diminuir abaixo de 5, inibindo ou até mesmo paralisando o processo de fermentação, pois as bactérias metanogênicas não crescem em valores de pH menores que 6,5. O valor de pH aumenta quando

ocorre a digestão do nitrogênio, com aumento da concentração de amônia, a qual pode levar o pH ao valor 8. Quando o nível de produção de metano atinge a estabilidade, o pH alcança valores entre 7,2 a 8,2 (FAO, 1996). Assim o pH varia em função do tempo de retenção hidráulica no processo contínuo (MATTA-ALVAREZ et al., 2000) para poder estabilizar-se.

Tabela 4. Resultados de pH para afluentes não peneirados e peneirados e efluentes de biodigestores contínuos abastecidos com cama de frangos de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas.

Tratamentos*	Características		
	pH		
	Afluente		Efluente
	Não peneirado	Peneirado	
T1	8,32	8,28	7,43
T2	8,51	8,49	7,42
T3	8,49	8,41	7,42
T4	8,41	8,41	7,41

*T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico.

Determinação dos teores de sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV)

Não foi observada diferença ($p>0,05$) em nenhuma das características avaliadas de ST. Foram constatadas reduções acentuadas nos teores de ST em todos os tratamentos (Tabela 5). No entanto, para os SV, ocorreu diferença ($p<0,05$) para todas as características. A maior redução de SV ocorreu no tratamento controle (T1) sem diferir do tratamento contendo enzimas + probiótico (T4). Todos os tratamentos apresentaram uma redução de SV acima de 50%, o que evidencia a eficiência da biodigestão anaeróbia na degradação de compostos resistentes, como a cama de frango.

Steil et al. (2001) obtiveram reduções de SV de 61,40% na biodigestão anaeróbia de dejetos de aves poedeiras, valores estes próximo ao encontrados no presente estudo. Valores inferiores de redução de SV (46,91%) foram encontrados por Santos et al. (1999) que trabalharam com biodigestão anaeróbia de dejetos de galinhas poedeiras criadas sob diferentes temperaturas.

Tabela 5. Teores de ST nos afluentes e efluentes, em % e kg e % de ST reduzidos de cama de frangos de corte que receberam dieta com probióticos e enzimas tratadas em biodigestores contínuos.

Tratamentos*	Características				
	ST				
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Reduzido
	%		Kg		%
T1	0,705	0,35	0,014	0,0070	49,00
T2	0,662	0,34	0,013	0,0067	47,74
T3	0,690	0,36	0,014	0,0072	47,86
T4	0,635	0,35	0,014	0,0069	49,70
Valores de F	0,25	1,42	0,24	1,40	0,13
Valores de p	0,863 ^{NS}	0,286 ^{NS}	0,863 ^{NS}	0,291 ^{NS}	0,94 ^{NS}
CV¹(%)	10,71	4,42	10,71	4,43	13,39

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Tabela 6. Teores de SV nos afluentes e efluentes, em % e kg e % de SV reduzido de cama de frangos de corte que receberam uma dieta com probióticos e enzimas tratadas em biodigestores contínuos.

Tratamentos*	Características				
	SV				
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Reduzido
	%		Kg		%
T1	0,44 A	0,13 B	0,0088 A	0,0026 B	69,78 A
T2	0,33 B	0,15 AB	0,0066 B	0,0029 AB	54,46 B
T3	0,34 B	0,16 A	0,0068 B	0,0031 A	54,98 B
T4	0,38 AB	0,14 AB	0,0076 AB	0,0028 AB	62,43 AB
Valores de F	6,14	4,12	6,13	4,14	7,24
Valores de p	0,0090**	0,0032**	0,0090**	0,0314**	0,0050**
CV¹(%)	10,15	6,87	10,15	6,88	8,89

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Quantificação dos minerais do afluente e efluente (biofertilizante)

As diferentes dietas dos animais interferiram (p<0,05) nas concentrações médias de N, P e K presentes nos afluentes e no N dos efluentes de cama de frangos tratadas em biodigestores contínuos (Tabela 7).

Nos afluentes compostos por cama de frangos de corte alimentados com enzimas + probiótico (T4) foram verificadas maiores concentrações médias de N, seguidos por T3, sendo que T1 e T2 apresentaram as menores concentrações. No efluente T4 observou-se menor concentração de N, sem difereir estatisticamente de T3.

Para o P no afluente observou-se que o tratamento contendo enzimas + probiótico (T4), acarretaram as menores concentrações de P sem diferir de T1 e T3. As menores concentrações de K no afluente, encontraram-se nos tratamentos com adição de enzimas (T3 e T4) e a maior degradação de K ocorreu no tratamento com adição somente de probiótico (T2) sem diferir do controle (T1).

As maiores redução de P e K dos afluentes nos tratamentos que continham enzimas deve-se a menor excreção desses nutrientes na cama, devido o complexo enzimático aumentar a digestibilidade da dieta e disponibilizar mais nutrientes para o animal, fazendo com que o animal aproveite de forma significativa esses nutrientes, reduzindo a sua excreção para o meio.

Seria esperado que ocorresse elevação nos teores de N, P e K nos biofertilizantes obtidos, em comparação com os presentes no material de abastecimento dos biodigestores, pois resíduos em geral, quando submetidos à biodigestão anaeróbia perdem principalmente carbono na forma de CH₄ e CO₂, ocasionando assim a concentração dos demais nutrientes, concordando com os dados de fósforo no presente estudo, no entanto, foi observado comportamento contrário a este para P e K, onde houve uma redução representativa destas concentrações. Este resultado pode estar associado à remoção físico-química através da precipitação destes compostos.

Vivan et al. (2010) trabalharam com efluente de suinocultura em biodigestores e lagoas de estabilização e, observaram que houve remoção de 98,6% da concentração de fósforo e 89,8% da concentração de nitrogênio total, atribuída principalmente à precipitação do primeiro e volatilização de N.

De acordo com a legislação CONAMA 357 (2005), o valor padrão estabelecido para descarte de P em ambiente lótico é de 0,1 mg/L. Dessa forma, não se recomenda o descarte do efluente dos biodigestores diretamente em corpos hídricos, sendo que isso poderia causar sérios problemas ambientais como a eutrofização. Contudo, o uso deste efluente em culturas forrageiras mostra-se como uma alternativa interessante, uma vez que a maioria dos solos brasileiros é deficiente mineral.

Tabela 7. Composição química (N, P e K) dos afluentes, efluentes e % de nutrientes degradados de cama de frangos de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas tratadas em biodigestores contínuos.

Tratamentos*	Afluente g/100g de MS			Efluente g/100g de MS			%Degradado		
	N	P	K	N	P	K	N	P	K
T1	3,72 C	5,09 AB	2,51 B	2,35 A	6,44	1,15	68,48	36,72	77,16 AB
T2	3,71 C	5,77 A	3,23 A	2,36 A	6,25	1,23	66,96	43,40	80,15 A
T3	3,86 B	5,44 AB	2,16 C	2,24 AB	5,60	1,20	69,66	46,48	70,94 C
T4	4,01 A	4,65 B	2,18 C	2,17 B	6,32	1,21	72,84	31,39	72,31 BC
Valores de F	34,95	5,62	739,81	4,82	2,45	1,76	1,98	3,10	11,11
Valores de p	<0,0001**	0,012**	<0,0001**	0,019**	0,1121 ^{NS}	0,2089 ^{NS}	0,17 ^{NS}	0,0672 ^{NS}	0,0009**
CV¹(%)	1,25	7,71	1,46	3,63	7,79	4,64	5,10	19,45	3,41

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Determinação da fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) e lignina

Houve diferença ($p < 0,05$) nos afluentes para todas as características avaliadas. As camas de frangos de corte contidas no substrato apresentaram redução nítida da fração fibrosa devido ao peneiramento, obtendo-se assim a maior quantidade de FDN nos afluentes, dos tratamentos que continham enzimas (Tabela 8). Isso pode estar relacionado à presença da enzima xilanase que atua degradando as fibras, reduzindo as partículas de difícil degradação da cama facilitando a passagem pela peneira.

A % de degradação foi alta para todos os componentes fibrosos em todos os tratamentos, que provavelmente se devem à separação de sólidos ocorrida, onde grande parte da fração fibrosa ficou retida na peneira. A principal característica destas camas é a elevada quantidade de lignina complexada com a celulose e a hemicelulose, o que acaba dificultando a biodigestão anaeróbia.

Em estudos de Orrico Junior. et al (2010) avaliando a eficiência do processo de biodigestão anaeróbia em biodigestores batelada abastecidos com dejetos de bovinos alimentados com 60% volumoso:40% concentrado e 40% volumoso:60% concentrado, submetidos a 30, 60, 90 e 120 dias de TRH, observaram que o aumento da proporção de volumoso na dieta levou a menor eficiência do processo, obtendo uma baixa degradação de FDN, FDA e celulose queda nos potenciais de produção de biogás e metano que foram de 13% em média.

Tabela 8. Composição de fibras (FDN, FDA e lignina) dos afluentes, efluentes e % de fibras degradadas de cama de frangos de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas tratadas em biodigestores contínuos.

Tratamentos*	Afluyente			Efluente			%Degradado		
	g/100g de MS			g/100g de MS					
	FDN	FDA	Lignina	FDN	FDA	Lignina	FDN	FDA	Lignina
T1	11,84 C	4,92 B	1,89 C	2,25	1,12	0,75	90,68 B	88,75	80,49
T2	18,59 B	7,65 A	1,68 D	3,41	1,76	0,76	90,55 B	88,20	76,01
T3	24,30 A	8,23 A	2,63 A	2,22	1,10	0,55	95,27 A	92,99	89,10
T4	24,98 A	8,35 A	2,03 B	2,11	0,97	0,40	95,67 A	93,97	88,46
Valores de F	793,93	74,94	178,18	1,14	1,38	0,61	3,65	2,17	0,374
Valores de p	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	0,372 ^{NS}	0,2969 ^{NS}	0,623 ^{NS}	0,044**	0,144 ^{NS}	1,13 ^{NS}
CV¹(%)	1,25	2,18	2,97	45,82	48,55	60,13	3,15	4,36	14,28

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Determinação dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais e termotolerantes

Os resultados das análises de NMP/100mL de bactérias do grupo coliformes estão apresentados na Tabela 9, 10 e 11. Nos afluentes e efluentes de cama de frango que receberam aditivos na dieta (T2, T3 e T4) verificam-se menores quantidades de coliformes fecais e termotolerantes em relação ao tratamento controle para todos os períodos de análises (30, 60 e 85 dias).

A eficiência de tratamento em biodigestores contínuos foi superior a 90 % para coliformes fecais e termotolerantes, para todos os tratamentos somente no ultimo período de coleta (85 dias).

Recomenda-se uma melhor investigação dos potenciais de contaminação com patógenos dos efluentes anaeróbios sobre o solo e a água, em virtude dos níveis de coliformes fecais presentes nos afluentes adicionados aos biodigestores dependerem de um tempo de retenção hidráulica (TRH) maior para obter uma eficiência de tratamento, sendo que em biodigestores contínuos esse tratamento é mais restrito do que em biodigestores bateladas.

Estudos realizados por Coté et al. (2006) mostraram a eficiência de 97,94 a 100% nas reduções de coliformes termotolerantes e totais em sistemas de biodigestão anaeróbia, mesmo quando esses foram submetidos à condição de baixa temperatura (20°C). Segundo os mesmos autores, a eficiência na redução dos micro-organismos patogênicos está associada à temperatura de fermentação e ao TRH utilizado, sendo que, quanto maiores forem os seus valores, mais eficiente será a redução de patógenos. Na literatura, existem vários autores, entre os quais Amorim et al. (2004), Mentz et al. (2004) e Amaral et al. (2004), que comprovaram a eficiência do processo de biodigestão anaeróbia, na redução de diversas espécies de organismos patogênicos.

Segundo a Resolução do Conama 357 (2005) que classifica as águas destinadas para irrigação como classe 2, tendo como limite máximo 1000 coliformes termotolerantes (fecais) em 100 mL de amostra, o efluente produzido pelo biodigestor contínuo no período experimental estaria fora do padrão e não poderia ser utilizado em fertirrigação. A eliminação total dos coliformes, tanto fecal quanto termotolerantes, evidencia a importância e eficiência do processo de biodigestão anaeróbia na redução de micro-organismos indicadores da poluição fecal.

Tabela 9. Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes (NMP/100 mL) e eficiência do tratamento de cama de frangos de corte que receberam dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores contínuos em 30, 60 e 85 dias.

30 Dias						
Tratamentos*	Coliformes Totais		Eficiência (%)	Coliformes termotolerantes		Eficiência (%)
	Afluyente	Efluyente		Afluyente	Efluyente	
T1	9,3x10 ⁷	7,8x10 ⁶	92,04	9,3x10 ⁷	7,8x10 ⁶	91,61
T2	0,17x10 ⁷	0,68x10 ⁶	60,00	0,17x10 ⁷	0,68x10 ⁶	60,00
T3	0,14x10 ⁷	1,1x10 ⁶	21,43	0,093x10 ⁷	1,1x10 ⁶	88,17
T4	0,78x10 ⁷	6,8x10 ⁶	12,82	0,45x10 ⁷	2,0x10 ⁶	55,55

60 Dias						
Tratamentos*	Coliformes Totais		Eficiência (%)	Coliformes Termotolerantes		Eficiência (%)
	Afluyente	Efluyente		Afluyente	Efluyente	
T1	9,3x10 ⁷	0,93x10 ⁵	99,90	9,3x10 ⁷	0,93x10 ⁵	99,90
T2	0,17x10 ⁷	4,0x10 ⁵	76,47	0,17x10 ⁷	4,0x10 ⁵	76,47
T3	0,14x10 ⁷	1,4x10 ⁵	90,00	0,093x10 ⁷	0,78x10 ⁵	91,61
T4	0,78x10 ⁷	20x10 ⁵	74,36	0,45x10 ⁷	20x10 ⁵	55,56

85 Dias						
Tratamentos*	Coliformes Totais		Eficiência (%)	Coliformes termotolerantes		Eficiência (%)
	Afluyente	Efluyente		Afluyente	Efluyente	
T1	9,3x10 ⁷	5,0x10 ³	99,99	9,3x10 ⁷	5,0x10 ³	99,99
T2	0,17x10 ⁷	2,0x10 ³	99,88	0,17x10 ⁷	2,0x10 ³	99,88
T3	0,14x10 ⁷	1,8x10 ³	99,87	0,093x10 ⁷	1,8x10 ³	99,81
T4	0,78x10 ⁷	2,0x10 ³	99,97	0,45x10 ⁷	2,0x10 ³	99,96

*T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico.

Determinação do volume de biogás e cálculo dos potenciais de produção

Houve efeito significativo ($p < 0,05$) para todas as características analisadas de produção e potencial de produção de biogás por kg de ST e SV adicionados e reduzidos. Assim os biodigestores que possuíam camas provenientes de aves que receberam dietas contendo somente enzimas (T3) tiveram maior produção de biogás diária e acumulada sem diferir do tratamento controle (T1). O mesmo ocorreu para os potenciais de produção de biogás por kg de ST e SV adicionados e reduzidos, em relação aos demais tratamentos (Tabela 10).

Os menores potenciais (m^3/kg de ST adicionados) encontrados foram nos tratamentos que as camas eram de frangos que receberam dietas contendo probiótico do gênero *Bacillus*. Segundo Jack et al. (1995), a maioria,

senão todas as bactérias, são capazes de produzir várias substâncias no curso de seu crescimento, que podem ser inibitórias tanto para si quanto para outras bactérias. Essas substâncias poderão exercer efeito bactericida ou bacteriostático. Ou seja, essas bactérias do gênero *Bacillus*, produzem bacteriocinas que são proteínas antimicrobianas ou complexos protéicos ativos contra espécies bacterianas, o que pode ter causado inibição dos microorganismos presentes no processo de biodigestão, reduzindo a produção de biogás nos tratamentos que continham esse probiótico.

Outra explicação para a redução de produção de biogás pode ser devido a essas bactérias adicionadas à ração, aumentar a degradação do substrato, utilizando os nutrientes presentes na cama de frango durante o período em que estas foram armazenadas. Assim, o uso de bactérias do gênero *Bacillus* em dietas de frangos de corte e sua influência sobre a produção de biogás irá depender do tempo de armazenagem da cama e da produção de antimicrobianos.

A maior produção de biogás foi encontrada nas camas que as aves receberam uma dieta contendo um complexo enzimático. Segundo Soto-Salanova et al. (1996), as enzimas alimentares provocam a ruptura das paredes celulares das fibras, degradam as proteínas e diminuem os efeitos dos fatores antinutritivos, tornando os nutrientes mais disponíveis, tanto para o animal como para as bactérias anaeróbias presentes nos biodigestores. Isso faz com que tenha maior disponibilidade de nutrientes e conseqüentemente aumente a produção de biogás.

Segundo Orrico et al. (2007), o melhor parâmetro para refletir o potencial de determinada biomassa e, portanto, mais indicado para se utilizar em projetos de biodigestores, é aquele que expressa a produção de biogás por kg de ST adicionado nos biodigestores, pois elimina a interferência do teor de água presente na biomassa. Costa (2009), trabalhando com cama de frango diluída em biofertilizante de dejetos de suíno encontrou valores de 0,303 m³ de biogás/kg de sólidos totais adicionado, valor esse inferior ao encontrado no presente estudo.

Tabela 10. Volume diário e acumulado, potencial de produção de biogás por ST e SV adicionados e reduzidos, de cama de frangos de corte que reberam dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores contínuos.

Tratamentos*	Volume		Potencial			
	Diário (m ³)	Acumulado (m ³)	ST		SV	
			Adicionado (m ³ /kg)	Reduzido (m ³ /kg)	Adicionado (m ³ /kg)	Reduzido (m ³ /kg)
T1	0,0063 A	0,53 A	0,44 A	0,88 B	0,72 B	1,02 C
T2	0,0055 B	0,47 B	0,38 B	0,80 B	0,76 B	1,40 B
T3	0,0064 A	0,55 A	0,46 A	1,00 A	0,94 A	1,74 A
T4	0,0058 B	0,48 B	0,41 B	0,88 B	0,75 B	1,25 B
Valores de F	6,96	6,99	10,17	11,92	21,25	65,48
Valores de p	0,0058**	0,0056**	0,0013**	0,0007**	<0,0001**	<0,0001**
CV¹(%)	5,28	5,26	5,26	5,28	5,35	5,50

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Na Figura 3, estão apresentadas as variações de produção de biogás durante 85 dias (divididos em semanas) do período experimental em biodigestores contínuos. Observa-se que a produção diária entre os tratamentos foi semelhante, porém os tratamentos contendo probiótico (T2 e T4) apresentaram declínio em relação aos demais tratamentos. Observou-se também que quando se utiliza enzimas (T3) em dietas para frangos de corte aumenta-se a produção de biogás e a produção de metano.

Poucas pesquisas foram conduzidas no sentido de se utilizar aditivos em dietas de frangos de corte, que interfiram na biodigestão anaeróbia. O desenvolvimento dessa pesquisa permitiu observar-se que quando se adiciona o complexo enzimático na ração obtém-se resultados positivos na produção de biogás.

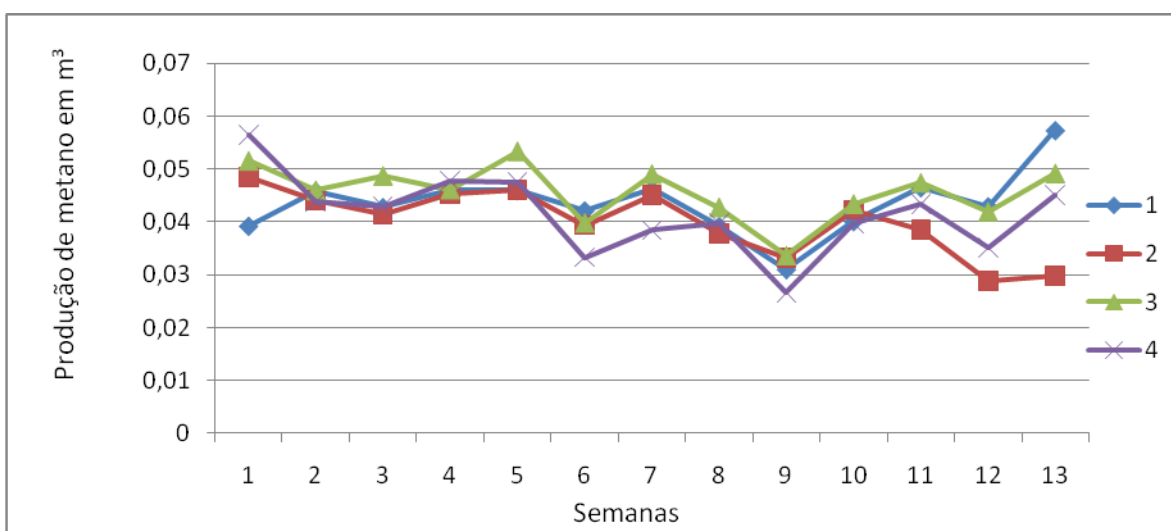


Figura 3. Produção semanal do biogás em m³.

Análise da composição do biogás produzido

Na análise de composição de gases foi observado que não houve diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos para produção de CH₄ e CO₂ em %, mostrando que os tratamentos que continham adição de aditivos (probióticos, enzimas exógenas e enzimas exógenas + probiótico) tiveram a mesma proporção desses gases quando comparada às camas de aves que receberam a dieta controle (Tabela 11).

Quando se avaliou o volume de CH₄ e CO₂ produzido em m³, obteve-se diferença entre os tratamentos ($p < 0,05$), observando-se maior volume no

tratamento contendo somente enzimas, sem contudo diferir do tratamento controle.

A biodigestão anaeróbia é um sistema de tratamento no qual a matéria orgânica é degradada até a forma de metano e dióxido de carbono em condições anaeróbias (DEMIRER; CHEN, 2005). O metano produzido pode ser utilizado como fonte de energia, na substituição de combustíveis fósseis e, deste modo, agrega valor à produção e diminui a emissão de dióxido de carbono (SILVA et al., 2005; ORRICO et al., 2007; SANTOS et al., 2007). Quanto maior a proporção de metano mais eficiente é o biogás para produção de energia, demonstrado que a cama de frango que sofreu separação de sólidos do presente estudo é eficiente com produção acima de 70% de metano em todos os tratamentos.

Aires (2009) trabalhou com cama de frango composta por casca de amendoim de diferentes lotes, com e sem separação de sólidos, observou que a produção de metano foi de 81,35 e 78,92 % para cama de 1º lote e 85,98 e 81,98 % para cama de 3º lote.

Tabela 11. Volume total e composição do biogás produzido de camas de frangos de corte que receberam uma dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores contínuos.

Tratamentos*	Volume (m ³)			Proporção (%)		
	Biogás	CH ₄	CO ₂	CH ₄	CO ₂	Outros gases
T1	0,0063 A	0,0044 A	0,0017 AB	71,25	27,56	1,18
T2	0,0055 B	0,0040 B	0,0015 B	71,78	26,93	1,28
T3	0,0064 A	0,0045 A	0,0018 A	70,66	28,23	1,11
T4	0,0058 B	0,0041B	0,0016 AB	71,22	27,71	1,08
Valores de F	6,96	7,77	5,25	0,83	1,89	0,17
Valores de p	0,0058**	0,0038**	0,0149**	0,504 ^{NS}	0,186 ^{NS}	0,916 ^{NS}
CV¹(%)	5,28	4,64	7,40	1,41	2,81	38,66

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

De acordo com a Figura 4 observou-se que a distribuição de produção de CH₄ entre os tratamentos variou, ou seja, no T2 se obteve menor variação de produção de gás seguido de T1 e T4. No entanto, no tratamento T3 se obteve maior variação de produção de gás durante o período experimental.

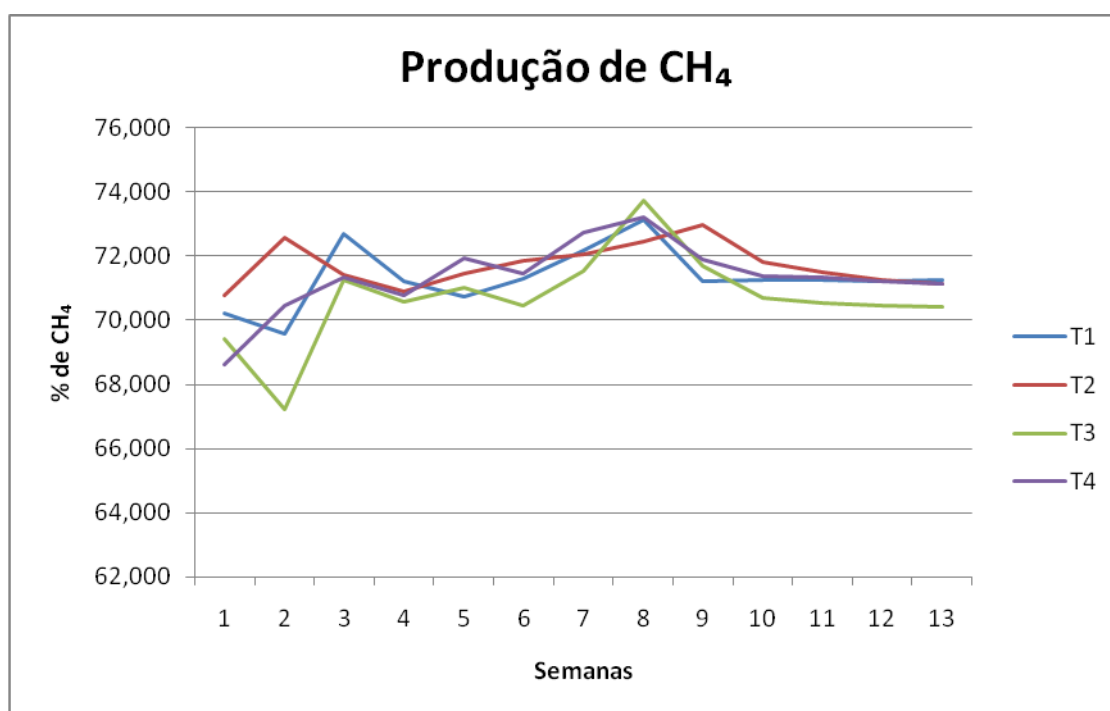


Figura 4. Distribuição do metano em 13 semanas de produção (%).

5. Conclusões

Enzimas quando adicionados às dietas de frangos de corte, aumentam a quantidade de matéria orgânica e de nutrientes da cama de frango e influenciam a da produção de biogás e metano.

O tratamento de camas de frangos de corte em biodigestores contínuos reduz o pH, os sólidos totais (ST), os sólidos voláteis (SV), o nitrogênio (N), fosforo (P), potássio (K), as fibras de difícil degradação e coliformes fecais e termotolerantes, presentes no afluente dos mesmos, reduzindo assim, a carga poluidora dos resíduos advindos do sistema avícola.

6. Referências

AIRES, A. M. Biodigestão anaeróbia da cama de frangos de corte com ou sem separação das frações sólida e líquida. 2009. 160 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

AMARAL, C.M.C.; AMARAL, L.A.; LUCAS JÚNIOR, J.; NASCIMENTO, A.A.; FERREIRA, D.S.; MACHADO, M.R.F. Biodigestão anaeróbia de dejetos de bovinos leiteiros submetidos a diferentes tempos de retenção hidráulica. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.34, n.6, p.1.897-1.902, 2004.

AMORIM, A.C.; LUCAS JÚNIOR, J.; RESENDE, K.T. Biodigestão anaeróbia de dejetos de caprinos obtidos nas diferentes estações do ano. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal, v.24, n.1, p.16-24, 2004.

APHA. American Public Health Association. **Standard methods**. 19. ed. Washington, D.C., 1995.

AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. **Official methods of analysis**. 13. ed. Washington, 1980.

CAETANO, L. **Proposição de um sistema modificado para quantificação de biogás**. 1985. 75 f. Dissertação (Mestrado em Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1985.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. CONAMA. Resolução nº 357, de março de 2005. Estabelece classificação para as águas doces, salobras e salinas do Território Nacional. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, v. 53, p. 58, mar. 2005 Seção 1.

COSTA, L. V. C. Biodigestão anaeróbia da cama de frango associada ou não ao biofertilizante obtido com dejetos de suínos: produção de biogás e qualidade do biofertilizante. 2009. 89 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2009.

CÔTE, C.; MASSE, D.I.; QUESSY, S. Reduction of indicator and pathogenic microorganisms by psychrophilic anaerobic digestion in swine slurries. *Bioresource Technology*, Oxford, v.97, n.1, p.686-691, 2006.

DEMIRER, G.N.; CHEN, S. Two-phase anaerobic digestion of unscreened dairy manure. *Process Biochemistry*, Irlanda, v.40, n.4, p.3.542-3.549, 2005.

EDWARDS, D. R.; DANIEL, T. C. Environmental impacts of on-farm poultry waste disposal: a review. **Biores. Technol.**, Oxford, v. 41, p. 9-33, 1992.

FAO. Food and Agriculture Organization United of the Nations. A system approach to biogas technology. In: _____. **Biogás technology: a training manual for extension**. Kathmandu, 1996.

JACK, R. W.; TAGG, J. R.; RAY, B. Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Microbiol. Rev.*, v. 39, n. 2, p. 171-200, 1995.

LUCAS JR, J. **Algumas considerações sobre o uso do estrume de suínos como substrato para três sistemas de biodigestores anaeróbios**. 1994. 137 f. Tese (Livre-Docência Construções Rurais) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1994.

LUCAS JR., J.; SANTOS, T. M. B. Aproveitamento de resíduos da indústria avícola para produção de biogás. In: *Proceedings do SIMPÓSIO SOBRE RESÍDUOS DA PRODUÇÃO AVÍCOLA*, 2000, Concórdia, SC., Brasil. **Proceedings...** p. 27-43.

MAGALHÃES, E. A.; et al. Análise da viabilidade na utilização do biogás numa

agroindústria. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 30., 2001, Foz do Iguaçu/PR. **Anais...** Foz do Iguaçu/PR: SBEA, 2001. 1 CD-ROM.

MATTA-ALVAREZ, J.; MACÉ, S. LABRÉS, P. Anaerobic digestion of organic solid waste: an overview of research achievements and perspectives. **Biores. Technol.**, Oxford, v. 74, n. 1, p. 3-16, 2000.

MENTZ, M.B.; WIEST, J.M.; GONÇALVES, P.C. Viabilidade de ovos de *Fasciola hepatica* de bovinos em sistema de biodigestão anaeróbia. *Arquivos Brasileiros Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.56, n.4, p.550-553, 2004.

ORRICO, A. C. A.; LUCAS JÚNIOR, J.; ORRICO JÚNIOR, M. A. P. Caracterização e biodigestão anaeróbia dos dejetos de caprinos. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 639-647, set./dez. 2007.

ORRICO JUNIOR, M.A.P.; ORRICO, A.C.A.; LUCAS JUNIOR, J. Influência da relação volumoso: concentrado e do tempo de retenção hidráulica sob a biodigestão anaeróbia de dejetos de bovinos. *Engenharia Agrícola*, v.30, n.3, p.386-394, 2010.

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

SANTOS, T. M. B.; BASAGLIA, R.; SAKOMURA, N.; FURLAN, R. L.; LUCAS JR., J. Manure and biogas production from laying hens submitted to different ambient temperatures. In: AGENERGY'99 CONFERENCE, 1999, Athens. **Proceedings...** Athens: Agricultural University of Athens, 1999. v. 1, p. 275-281.

SANTOS, T.M.B.; LUCAS JÚNIOR, J.; SILVA, F.M. Avaliação do desempenho de um aquecedor para aves adaptado para utilizar biogás como combustível. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal, v.27, n.3, p.658-664, 2007.

SAS INSTITUTE. **SAS**® **user' guide**: statistics. Cary, NC, 2002.

SILVA, F.M.; LUCAS JÚNIOR, J.; BENINCASA, M.; OLIVEIRA, E. Desempenho de um aquecedor de água a biogás. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal, v.25, n.3, p.608-614, 2005.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varala, 1997. 295 p.

SOTO-SALANOVA, M.F.; GARCIA, O.; GRAHAM, H. et al. Uso de enzimas em dietas de milho e soja para frangos de corte. *CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVICOLA*, 1996, Campinas, Anais FACTA, 1996, p.71-76.

STEIL, L. **Avaliação do uso de inoculos na biodigestão anaeróbia de resíduos de aves de postura, frango de corte e suínos**. 2001. 127 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia – Área de Concentração em Biotecnologia) - Instituto de Química do Campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.

VIVAN, M.; KUNZ, A.; STOLBERG, J.; PERDOMO, C.; TECHIO, V. H.. Eficiência da interação biodigestor e lagoas de estabilização na remoção de poluentes em dejetos de suínos. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.** v.14, n.3. Campina Grande, Mar., 2010.

CAPÍTULO 5 – Efeito de probióticos e enzimas sobre a cama de frango tratadas em biodigestores bateladas

Resumo- O objetivo do estudo foi avaliar a utilização de biodigestores bateladas sobre o pH, os teores de sólidos totais (ST) e de sólidos voláteis (SV), a quantificação dos minerais, de fibras em detergente neutro (FDN) e de fibra em detergente ácido (FDA), de lignina, dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais e termotolerantes, dos afluentes e dos efluentes, do volume e potencial de produção e a composição química do biogás, de camas de frango tratadas com dietas suplementadas com probióticos e enzimas. Foram utilizados 900 pintos de corte da linhagem Cobb 500®, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 9 repetições com 25 aves cada. Os tratamentos consistiram de diferentes tipos de dietas: T1: controle; T2: T1 + 500 ppm do probióticos contendo *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; T3: dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase (0,15% de fósforo disponível e 0,12% de cálcio), 200 ppm de protease (3,8% de proteína bruta; 3,8% de arginina digestível; 1,2% de lisina digestível; 3,6% de metionina + cistina digestível; 7,9% de treonina digestível; e 3% de triptofano digestível) e 200 ppm de xilanase (energia metabolizável 40 kcal/kg de ração); T4: T3 + 500 ppm do probiótico. Ao final do período experimental (42 dias de idade) as camas provenientes de cada tratamento foram coletadas, identificadas e preparadas (4% de sólidos totais) e distribuídas em 4 biodigestores do tipo batelada cada uma. O volume de carga diária foi de 1,8kg (cama + água) para todos os biodigestores. Amostras dos afluentes e dos efluentes foram coletadas semanalmente, para determinação do pH, teores de ST e SV, quantificação dos minerais (N, P e K), FDN e FDA e lignina, assim como amostras do gás de cada biodigestor e analisados em cromatografo de fase gasosa Finigan GC-2001 para determinação da composição do biogás. O volume de biogás foi medido diariamente, baseando-se no deslocamento vertical dos gasômetros durante 162 dias de produção. Foi realizada a análise de variância dos dados e em caso de significância estatística foi adotado o procedimento de comparação das médias pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Ocorreu redução no pH, ST, SV, nutrientes e fração fibrosa quando se tratou as camas de frango em biodigestores do tipo batelada e obteve-se redução de 100% nos NMP de coliformes totais e termotolerantes. As camas de frango que receberam a dieta controle e só com adição de probiótico acarretaram maior produção, potencial de produção de biogás por ST e SV adicionados e composição de CH₄. Para os potenciais de produção de biogás por ST e SV reduzidos. Foi observado maior potencial de produção de biogás para o tratamento contendo somente probiótico. A adição de probiótico na dieta de aves beneficia a biodigestão de cama de frango proporcionando produção de biogás.

Palavras-chaves: biodigestão, sólidos totais, sólidos voláteis, coliformes.

1. Introdução

A expansão da atividade avícola no país e o incremento tecnológico nos sistemas de produção, têm resultado em grandes gerações de resíduos avícolas que são, muitas vezes, lançados ao ambiente. Os altos índices de contaminação dos recursos naturais e a redução da qualidade de vida nos grandes centros produtores são indicativos de que boa parte dos efluentes da produção das aves está aportando direta ou indiretamente no solo e nos recursos d'água, sem receber tratamento adequado. Quando bem escolhido e conduzido, o manejo adotado permite o aproveitamento integral dos dejetos, dentro das condições estabelecidas em cada propriedade (ANGONESE et al., 2006).

A redução do impacto ambiental das atividades pecuárias tem sido tema altamente discutido no cenário mundial. Devido à sua grande importância na produção de alimentos, vêm buscando-se alternativas, em várias áreas do conhecimento, que garantam a produção com menor impacto ambiental possível.

Uma maneira de se reduzir o impacto ambiental, causado pelos dejetos das granjas é pela manipulação da dieta, fornecendo dietas melhor balanceadas e utilizando aditivos e ingredientes de alta biodisponibilidade com intuito de melhorar a eficiência de utilização pelos animais dos nutrientes contidos nos alimentos. Evita-se assim, o impacto ambiental da excreção em excesso, principalmente de nitrogênio, fósforo, cobre e zinco, além de outros elementos.

O destino adequado desses resíduos avícolas, como a cama de frango é uma preocupação geral dos pesquisadores, pois, além do grande volume produzido, as excretas das aves comerciais podem contaminar o meio ambiente em decorrência da má utilização dessas. Um dos principais destinos deste material era seu uso como fonte de nutrientes em rações animais, mais especificamente para bovinos. Com a proibição desta atividade, a principal utilização dos dejetos avícolas se faz como fertilizantes na agricultura, o que pode levar à contaminação dos lençóis freáticos pela lixiviação dos minerais presentes nas excretas. Assim, os profissionais da área devem unir esforços para buscar práticas adequadas de manejo dos resíduos gerados na avicultura, afim de que a indústria avícola cresça e se desenvolva dentro das condições de restrições legais existentes.

A biodigestão anaeróbia é uma alternativa eficaz que pode ser usada no tratamento de resíduos sólidos ou líquidos, promovendo a redução do poder poluente dos dejetos, tendo como subproduto, além do biogás, o biofertilizante com várias aplicações práticas na propriedade rural. O processo tem demonstrado resultados na redução do impacto ambiental de dejetos animais, não somente pela diminuição dos sólidos presentes, mas também pela redução de micro-organismos indesejáveis nos efluentes.

Pouco se sabe da influência de aditivos adicionados à dieta de frango de corte sobre a cama de frango no processo de biodigestão.

2. Objetivos

Objetivou-se avaliar a eficiência do biodigestor anaeróbio tipo batelada no tratamento de cama de frangos de corte que receberam dietas contendo probiótico e enzimas exógenas durante o período de 1 a 42 dias de idade. Foram determinados, o pH, teores de sólidos totais (ST) e voláteis (SV), quantificação dos minerais e de fibras em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) e lignina, números mais prováveis (NMP) de coliformes totais e termotolerantes, de afluentes e efluentes, volume, potenciais de produção e composição química do biogás das camas de frango de corte.

3. Material e métodos

Instalações, preparação do substrato e biodigestores utilizados

Foi realizado um experimento, no Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - campus de Jaboticabal - São Paulo, utilizando-se 900 pintos de corte (Cobb 500[®]), provenientes de um mesmo lote de matrizes, com idade e linhagem iguais, alojados em um galpão de alvenaria com 36 boxes, com cobertura de telha de barro, piso de concreto, paredes laterais com 0,30 m de altura, completados com tela de arame até o telhado e cortinado externo móvel, dividido em boxes de 3,2 x 1,4m, separados por muretas de alvenaria de 0,40 m de altura e completadas com tela de arame até uma altura de 1,80 m.

Cada boxe recebeu 25 aves, sendo que a densidade foi a mesma em todos os boxes (5,58 aves/m²). A cama utilizada foi a maravalha com uma quantidade de 0,7 kg de matéria seca/ave alojada, de modo que todos os tratamentos tiveram a mesma quantidade adicionada em todos os boxes (20 kg de MN e 17,5 de MS). Antes de sua distribuição foi realizada a análise de matéria seca da cama (87,5%).

Durante o período de criação, todas as aves receberam água e ração *ad libitum*. O manejo adotado foi o mesmo para todas as aves.

Após a coleta das camas de frango, as mesmas foram identificadas por tratamento e levadas para o Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal / UNESP, realizando-se o abastecimento de biodigestores do tipo batelada de bancada experimentais. Com estes procedimentos, a aquisição de dados permitiu o conhecimento dos efeitos do probiótico e das enzimas sobre o potencial de produção de biogás para aproveitamento em forma de pico de produção (biodigestores batelada).

Os substratos utilizados para o abastecimento dos biodigestores foram as camas de frango advindas de aves criadas de 1 a 42 dias de idade, alimentadas com probiótico e enzimas. O volume da carga (1,8 kg) foi o mesmo para todos os biodigestores. Em cada abastecimento o substrato foi preparado com teor de sólidos totais próximo a 4,0%, segundo modelo proposto por Lucas Junior (1994). Na Tabela 1 encontram-se as quantidades de substrato adicionado (cama+água) ao biodigestor do tipo batelada.

Tabela 1. Quantidade de substratos, em kg, adicionados aos biodigestores bateladas.

Tratamento	Cama	Água	Total
T1	0,090	1710	1800
T2	0,095	1705	1800
T3	0,082	1718	1800
T4	0,080	1720	1800

Os biodigestores do tipo batelada (Figura 1) foram constituídos por três cilindros retos de PVC com diâmetros de 7,5, 10 e 15 cm, acoplados sobre um cap de PVC com capacidade operacional de 2 litros de substrato em fermentação, cada. Os cilindros de 10 e 15 cm foram inseridos um no interior do outro, de tal forma que

o espaço existente entre a parede externa do cilindro interior e a parede interna do cilindro exterior comportasse um volume de água (“selo de água”), atingindo profundidade de 50 cm. O cilindro de diâmetro intermediário teve uma das extremidades vedadas, conservando-se apenas uma abertura para descarga do biogás, e emborcado no selo de água, para propiciar condições anaeróbias e armazenar o gás produzido.

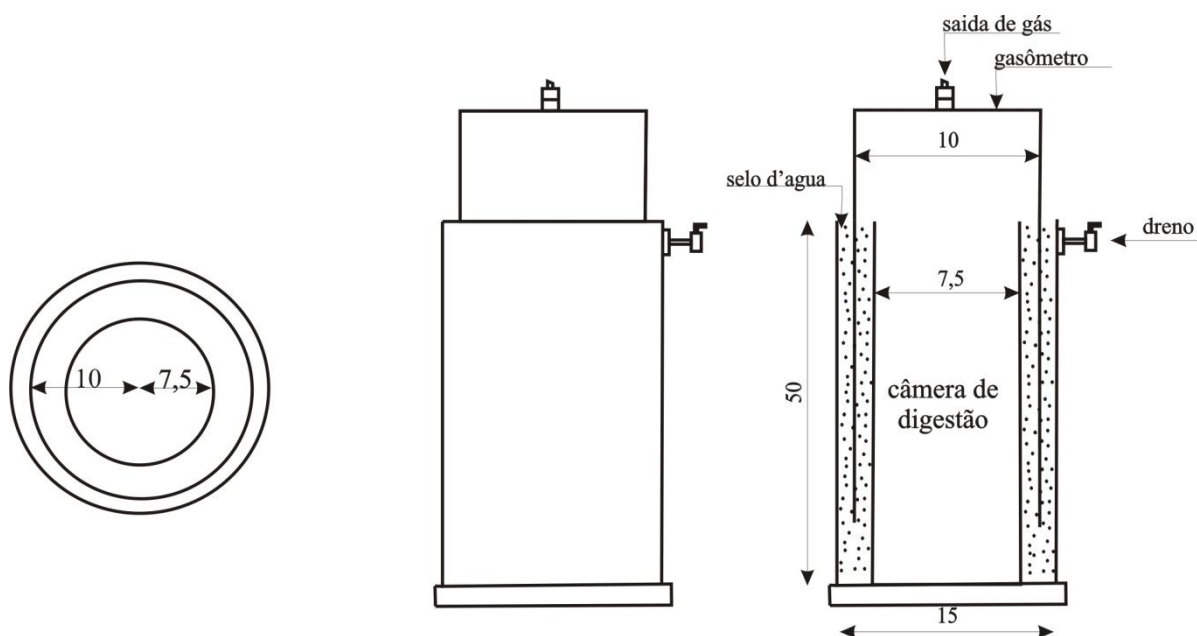


Figura 1. Digestor tipo batelada de bancada.

Tratamentos experimentais

As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, suplementadas com minerais, vitaminas e aminoácidos, para atenderem às exigências nutricionais de cada fase de criação das aves (inicial, crescimento e final) de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2011) (Tabelas 1 e 2). Não foi utilizado promotor de crescimento.

Foi utilizada a matriz nutricional de cada enzima para a devida formulação das dietas onde, a enzima xilanase contribuiu com energia metabolizável 40 kcal/kg de ração, enzima fitase contribuiu com 0,15% de fósforo disponível e 0,12% de cálcio e a enzima protease contribuiu com 3,8% de proteína bruta; 3,8% de arginina

digestível; 1,2% de lisina digestível; 3,6% de metionina + cistina digestível; 7,9% de treonina digestível; e 3% de triptofano digestível.

O probiótico adicionado às dietas está presente em um produto comercial em teste para aves, sendo adicionado no nível de 0,5kg/Ton de ração, contendo *Bacillus subtilis* (mínimo $0,735 \times 10^8$) e *Bacillus licheniformis* (mínimo $0,735 \times 10^8$).

Os tratamentos consistiram em camas de frangos de corte que receberam diferentes tipos de dietas:

- ✓ Tratamento 1: Dieta controle.
- ✓ Tratamento 2: Dieta T1 com adição de 500 ppm do probiótico.
- ✓ Tratamento 3: Dieta formulada com 20 ppm de fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase.
- ✓ Tratamento 4: Dieta T3 + 500 ppm de probiótico .

Tabela 2. Composição calculada das rações experimentais para a fase inicial, crescimento e final.

Macro Ingredientes	Inicial				Crescimento				Final			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Milho triturado	50,36	50,36	55,04	55,04	58,23	58,23	62,90	62,90	62,95	62,95	67,54	67,54
Farelo de soja	40,80	40,80	38,30	38,30	32,60	32,60	30,10	30,10	28,60	28,60	26,30	26,30
Óleo de soja	4,70	4,70	3,10	3,10	4,80	4,80	3,20	3,20	4,60	4,60	2,90	2,90
Fosfato bicálcico	1,86	1,86	1,05	1,05	1,90	1,90	1,09	1,09	1,75	1,75	0,94	0,94
Calcário fino	1,24	1,24	1,43	1,43	1,26	1,26	1,46	1,46	0,97	0,97	1,16	1,16
Sal comum	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,41	0,41	0,41	0,41
DL-Metionina 99%	0,22	0,22	0,20	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,18	0,18	0,16	0,16
L-Lisina HCl 78%	0,09	0,09	0,14	0,14	0,22	0,22	0,27	0,27	0,20	0,20	0,25	0,25
L-Treonina 98%	0,05	0,05	0,02	0,02	0,10	0,10	0,06	0,06	0,09	0,09	0,05	0,05
Enzimas*	0,00	0,00	0,042	0,042	0,00	0,00	0,042	0,042	0,00	0,00	0,042	0,042
Probiótico	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05
Supl. vit e min + Anti**	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

*20 ppm de fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase.**Suplemento vitamínico e mineral enriquecido por quilograma de ração: 8.000 UI vitamina A, 1.800 UI vitamina D₃, 12 mg vitamina E, 2 mg vitamina K₃, 1 mg vitamina B₁, 4 mg vitamina B₂, 1 mg vitamina B₆, 10 mcg vitamina B₁₂, 0,40 mg ácido fólico, 0,04 mg biotina, 28 mg niacina, 11 mg pantotenato de cálcio, 6 mg Cu, 0,10 mg Co, 1 mg I, 50 mg Fe, 65 mg Mn, 45 mg Zn, 0,21 mg Se, 500 mg cloreto de colina 50%, 12 mg antioxidante e agente anticoccidiano (salinomicina).

Tabela 3. Análise calculada dos níveis nutricionais das rações experimentais.

	Inicial				Crescimento				Final			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3000	3000	2960	2960	3100	3100	3060	3060	3200	3200	3160	3160
Proteína Bruta (%)	23.00	23.00	22.13	22.13	20.00	20.00	19.24	19.24	18.50	18.50	17.80	17.80
Arginina Total (%)	1.57	1.57	1.49	1.49	1.32	1.32	1.25	1.25	1.20	1.20	1.14	1.14
Arginina Digestível (%)	1.45	1.45	1.44	1.44	1.22	1.22	1.21	1.21	1.11	1.11	1.10	1.10
Lisina Total (%)	1.37	1.37	1.38	1.38	1.25	1.25	1.26	1.26	1.14	1.14	1.15	1.15
Lisina Digestível (%)	1.25	1.25	1.25	1.25	1.15	1.15	1.15	1.15	1.04	1.04	1.05	1.05
Metionina Total (%)	0.60	0.60	0.60	0.60	0.56	0.56	0.56	0.56	0.51	0.51	0.51	0.51
Metionina + Cistina Total (%)	0.98	0.98	0.94	0.94	0.90	0.90	0.86	0.86	0.83	0.83	0.80	0.80
Metionina Digestível (%)	0.57	0.57	0.56	0.56	0.54	0.54	0.52	0.52	0.49	0.49	0.47	0.47
Metionina + Cistina Digestível (%)	0.89	0.89	0.89	0.89	0.82	0.82	0.82	0.82	0.75	0.75	0.75	0.75
Treonina Total (%)	0.93	0.93	0.82	0.82	0.85	0.85	0.75	0.75	0.78	0.69	0.75	0.69
Treonina Digestível (%)	0.80	0.80	0.80	0.80	0.74	0.74	0.74	0.74	0.68	0.68	0.68	0.68
Triptofano Total (%)	0.28	0.28	0.27	0.27	0.24	0.24	0.22	0.22	0.21	0.21	0.20	0.20
Triptofano Digestível (%)	0.24	0.24	0.24	0.24	0.20	0.20	0.20	0.20	0.18	0.18	0.18	0.18
Isoleucina Total (%)	0.98	0.98	0.94	0.94	0.83	0.83	0.79	0.79	0.76	0.76	0.75	0.75
Isoleucina Digestível (%)	0.78	0.78	0.78	0.78	0.67	0.67	0.66	0.66	0.61	0.61	0.61	0.61
Leucina Total (%)	4.02	4.02	4.18	4.18	4.14	4.14	4.30	4.30	4.24	4.24	4.55	4.55
Leucina Digestível (%)	3.57	3.57	3.72	3.72	3.71	3.71	3.87	3.87	3.82	3.82	3.98	3.98
Valina Total (%)	1.08	1.08	1.04	1.04	0.93	0.93	0.89	0.89	0.86	0.86	0.85	0.85
Valina Digestível (%)	0.93	0.93	0.94	0.94	0.80	0.80	0.81	0.81	0.74	0.74	0.75	0.75
Fenilalanina Total (%)	1.15	1.15	1.11	1.11	0.99	0.99	0.95	0.95	0.91	0.91	0.88	0.88
Fenilalanina Digestível (%)	1.04	1.04	1.00	1.00	0.90	0.90	0.86	0.86	0.83	0.83	0.80	0.80
Fibra Bruta (%)	2.76	2.76	2.72	2.72	2.51	2.51	2.47	2.47	2.40	2.40	2.37	2.37
Cálcio (%)	1.00	1.00	0.88	0.88	1.00	1.00	0.88	0.88	0.85	0.85	0.73	0.73
Fósforo Total (%)	0.68	0.68	0.53	0.53	0.66	0.66	0.51	0.51	0.63	0.63	0.48	0.48
Fósforo Disponível (%)	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.42	0.42	0.42	0.42
Sódio (%)	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.18	0.18	0.18	0.18
Cloro (%)	0.32	0.32	0.33	0.33	0.35	0.35	0.36	0.36	0.33	0.33	0.34	0.34
Potássio (%)	1.07	1.07	1.03	1.03	0.91	0.91	0.86	0.86	0.83	0.83	0.79	0.79
Colina (%)	1.248	1.248	1.227	1.227	1.133	1.133	1.112	1.112	1.082	1.082	1.67	1.064

Delineamento experimental

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e 4 repetições de biodigestores do tipo batelada.

Características avaliadas

Ensaio de biodigestão anaeróbia

Determinação do pH

Foram separadas amostras do afluente e efluente, dos quais com a utilização do pHmetro obteve-se o valor exato do pH de cada solução. Determinando se a solução era ácida (pH de 0 a 6,9), neutra (pH = 7) ou alcalina (pH de 7,1 a 14).

Determinação dos teores de sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV)

Os teores de ST e SV das amostras coletadas de afluente e efluente durante os ensaios de biodigestão anaeróbia foram determinados de acordo com a metodologia descrita por APHA (1995).

Quantificação de N, P e K do afluente e efluente (biofertilizante)

As amostras do afluente e efluente foram coletadas durante o desenvolvimento do experimento de biodigestão. Foram pré-secadas à 60° C, em estufa de circulação forçada de ar, por 48 horas. A seguir foram finamente moídas, em moinho de facas, e então utilizadas para a digestão da matéria orgânica.

Para quantificação do teor de nitrogênio, foi utilizada a digestão sulfúrica para obtenção do extrato e a determinação analítica o método semi-micro Kjeldhal, cujo princípio baseia-se na transformação do nitrogênio amoniacal ((NH₄)₂SO₄) em amônia (NH₃), a qual é fixada pelo ácido bórico e posteriormente titulada com H₂SO₄ até nova formação de (NH₄)₂SO₄, na presença do indicador ácido/base.

O potássio (K) foi quantificado utilizando-se digestão nitro-perclórica para obtenção do extrato, posteriormente submetido a espectrofotômetro de absorção atômica GBC, modelo 932 AA, sendo o fósforo determinados por método colorimétrico, utilizando-se espectrofotômetro HACH modelo DR-2000.

Determinação das fibras em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) e lignina

As determinações dos conteúdos de fibras em detergente neutro e ácido, celulose e lignina foram efetuadas conforme metodologias propostas no AOAC (1980) dos afluentes e efluentes dos biodigestores bateladas.

Determinação dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais e termotolerantes

Para as análises de coliformes totais e termotolerantes, foram coletadas amostras do afluente no início e do efluente no final do experimento, de cada tratamento. Foi utilizada a técnica de tubos múltiplos descrita por Silva et al. (1997). Os resultados foram expressos em NMP/100ml de afluente e efluente, e a % de eficiência do tratamento em biodigestores bateladas.

Teste de queima

No início do processo de biodigestão foram feitos os testes de queima para análise superficial do gás. Através de uma mangueira conectou-se o bico de saída do gás a um bico de Bunsen, onde o biogás foi liberado e acendeu-se o bico com um fósforo, se o fogo apaga-se, significava que ainda tinha dióxido de carbono (CO_2) no interior do biodigestor, porém se o fogo acende-se e permanece-se constante significava que o teor de metano (CH_4) estava alto e o biodigestor estava produzindo biogás. A partir deste teste, avaliou-se quanto tempo o processo de biodigestão levou para produzir energia.

Determinação do volume de biogás e cálculo dos potenciais de produção de biogás

As camas foram separadas por tratamento e armazenadas para utilização no abastecimento único dos biodigestores do tipo batelada. As cargas foram únicas e preparadas, utilizando-se como substrato as camas de frango, diluídas em água. O substrato foi adicionado nos biodigestores (1,8 litros de carga/biodigestor), com o tempo de retenção hidráulica de 162 dias.

Para a determinação dos volumes de biogás produzidos, foi medido deslocamento vertical dos gasômetros semanalmente e os valores foram

multiplicados pela área da seção transversal interna dos gasômetros (0,00785 m²). Após cada leitura os gasômetros foram zerados utilizando-se o registro de descarga do biogás. A correção do volume de biogás foi feita para as condições de 1 atm e 20°C e efetuada com base no trabalho de Caetano (1985). Obtendo o volume de biogás acumulado (m³) durante 162 dias.

Os potenciais de produção de biogás foram calculados utilizando-se os dados de produção de biogás acumulado e as quantidades de substrato, de ST e SV adicionados nos biodigestores, além das quantidades de ST e SV reduzidos durante o processo de biodigestão anaeróbia. Os valores foram expressos em m³ de biogás/kg de ST e SV adicionados e reduzidos.

Análise da composição do biogás produzido

As análises da composição do biogás foram realizadas semanalmente para determinação dos teores de metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂) e de outros gases, através de um cromatógrafo de fase gasosa Finigan GC-2001, equipado com as colunas Porapak Q e Peneira Molecular, e um detector de condutividade térmica.

Análises estatísticas

Os dados foram analisados pelo programa SAS[®] (SAS Institute, 2002) e em caso de significância estatística, as médias foram comparadas pelo teste de Tuckey a um nível de 5% de probabilidade.

4. Resultados e discussão

Análise do pH

Na análise de pH, observou-se que ocorreu redução do mesmo, quando se comparou o afluente com o efluente. O tratamento dos afluentes de camas de frangos, quando submetidos ao processo de biodigestão anaeróbia em biodigestores do tipo batelada, reduziu o pH de uma fase alcalina (afluentes) para próximo do neutro (efluentes) (Tabela 4).

A variação de pH ideal está em torno de 6,5 a 8,5 (SPEECE, 1996; citado por OGEJO & LI, 2010), sendo que os valores registrados neste trabalho se enquadraram dentro do intervalo recomendado, o que provavelmente não foi

fator de interferência sobre as condições de desenvolvimento da biodigestão anaeróbia para nenhum dos tratamentos.

Os resultados obtidos nesse experimento foram semelhantes aos de outros autores (RIGO, 2004; SCHOENHALS, 2006; GANNOUN et al., 2009; OGEJO & LI, 2010) que, ao realizarem a biodigestão anaeróbia de efluentes de abatedouros obtiveram valores médios que oscilaram entre 6,7 a 7,9.

Tabela 4. Resultados de pH para afluentes e efluentes de camas de frangos de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas.

Tratamentos*	pH Afluente	pH Efluente
T1	9,25	7,53
T2	9,09	7,50
T3	8,02	7,42
T4	8,91	7,35

*T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico.

Determinação dos teores de sólidos totais (ST) e de sólidos voláteis (SV).

Foram observadas diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) para as características de ST dos efluentes (% e kg) e para % reduzido, onde se obteve uma menor quantidade (% e kg) de ST no tratamento contendo probiótico + enzimas (T4) sem diferir do tratamento controle (T1). Conseqüentemente, ocorreu maior redução de ST nesses tratamentos quando essas camas foram tratadas em biodigestores do tipo batelada (Tabela 5).

Para SV, observaram-se diferenças ($p < 0,05$) para todas as características avaliadas. Os afluentes apresentaram a maior quantidade de SV (% e Kg), para os tratamentos que continham enzimas (T3 e T4) e controle (T1). Assim para o efluente ocorreu uma redução nas quantidades de SV (% e Kg), para o tratamento contendo probiótico + enzimas (T4), sem diferir do tratamento controle. Isso fez com que ocorresse uma maior % de SV reduzidos nesses tratamentos (T4 e T1) (Tabela 6). Estes valores representam a capacidade deste efluente em ser degradado e conseqüentemente apresentar rendimento de biogás, o que caracteriza a eficiência do processo de degradação de matéria orgânica através da utilização de biodigestores.

Estudos realizados com biodigestão anaeróbia, Orrico (2010), também observou reduções acentuadas nos teores de SV, em média 44,05%, o que representa a eficiência da biodigestão anaeróbia na degradação de compostos

resistentes, como a cama de frangos. Steil (2001) avaliou três níveis de inóculo na biodigestão anaeróbia da cama de frangos e observou que as porcentagens de redução de sólidos voláteis obtidas nas três condições foram de 53,45% sem inóculo adicional, 44,64% e 42,00% para as condições com 10 e 15% de inóculo, respectivamente.

Tabela 5. Teores de ST nos afluentes e efluentes, e % de ST reduzido de camas de frangos de corte que receberam uma dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas.

Tratamentos*	ST				
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Reduzido
	%		Kg		%
T1	3,55	2,22 B	0,064	0,037 BC	41,301 AB
T2	3,54	2,55 A	0,063	0,045 A	29,87 C
T3	3,45	2,38 AB	0,063	0,041 AB	34,96 BC
T4	3,54	2,01 C	0,062	0,034 C	46,38 A
Valores de F	2,46	26,19	2,46	16,51	17,67
Valores de p	0,1127 ^{NS}	<0,0001**	0,112 ^{NS}	0,0001**	0,0001**
CV¹ (%)	1,53	3,91	1,53	5,64	9,00

¹coeficiente de variação; *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Tabela 6. Teores de SV nos afluentes e efluentes, e % de SV reduzido de camas de frangos de corte que receberam uma dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas.

Tratamentos*	SV				
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Reduzido
	%		Kg		%
T1	2,98 A	1,79 B	0,054 A	0,030 BC	43,80 AB
T2	2,82 B	2,05 A	0,051 B	0,036 A	29,25 C
T3	3,06 A	1,95 A	0,055 A	0,033 AB	39,67 B
T4	2,99 A	1,60 C	0,054 A	0,027 C	49,52 A
Valores de F	10	28,06	11,07	20,23	31,62
Valores de p	0,0014**	<0,0001 ^{NS}	0,0009 ^{NS}	0,0001**	<0,0001**
CV¹ (%)	2,10	4,05	2,11	5,34	7,50

¹coeficiente de variação; *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Quantificação dos minerais do afluente e do efluente (biofertilizante).

Foram observadas diferenças ($p < 0,05$) entre os tratamentos para a quantidade de N, P e K presente nos afluentes e N e P nos efluentes. O tratamento que recebeu probiótico + enzima (T4), apresentou maior quantidade de N, nos afluentes e nos efluentes. Para % de nutrientes reduzidos não observaram-se diferenças significativas ($p > 0,5$) entre os tratamentos. No entanto, quando se tratou a cama de frango em biodigestores do tipo batelada durante 162 dias, obteve-se uma redução nos teores de N superior a 50 % para todos os tratamentos (Tabela 7). Isso demonstra a eficiência do tratamento de camas de frango em biodigestores bateladas, tornando o resíduo de aviário menos poluente, reduzindo assim o impacto ao ambiente, quando lançados à natureza.

Para o P no afluente observou-se as maiores reduções nos tratamentos que continham enzimas (T3 e T4) e para o K do afluente as maiores reduções foram nos tratamentos que continham somente probiótico (T2) e enzimas (T3). No efluente o P obteve os menores valores no tratamento contendo somente enzimas (T3), seguido de T4, T1 e T2. A degradação maior dos nutrientes (P e K) encontrou-se na associação de aditivos (T4). Para o K todos os tratamentos tiveram degradação acima de 96%.

Orrico Junior (2005) trabalhando com biodigestão anaeróbia de cama de frango durante as estações de inverno e verão observou valores médios de 2,29, 1,28 e 18,33g/ 100g de N, P, K, no efluente dos biodigestores abastecidos no verão e 1,49, 1,88 e 53,87, de N, P, K, Ca, no efluente de biodigestores abastecidos no inverno. O autor explica que os valores apresentaram-se mais altos que os esperados devido à presença de bicos, ossos e penas na cama de frango. Caso semelhante pode ocorrer com dejetos de galinhas poedeiras uma vez que as penas, ovos quebrados e cascas de ovos que caem das aves permanecem no mesmo local que os dejetos, aumentando o teor de alguns nutrientes nos dejetos.

Tabela 7. Composição química (N, P e K) dos afluentes, efluentes % de nutrientes degradados de camas de frangos de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores batelada.

Tratamentos*	Afluente g/100g de MS			Efluente g/100g de MS			% Degradado		
	N	P	K	N	P	K	N	P	K
T1	3,04 D	5,47 B	7,46 B	2,18 B	6,01 B	0,42	58,09	55,50 AB	96,72 B
T2	3,50 B	6,45 A	6,98 C	2,14 B	6,66 A	0,39	59,44	38,49 B	96,12 B
T3	3,14 C	4,91 C	6,77 C	1,83 C	5,06 D	0,40	61,97	49,42 AB	96,12 B
T4	3,67 A	4,94 C	8,58 A	2,81 A	5,57 C	0,38	59,05	66,17 A	97,64 A
Valores de F	638,53	420,24	98,77	51,52	70,32	0,56	1,20	4,55	13,58
Valores de p	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	0,6495 ^{NS}	0,3508 ^{NS}	0,0238**	0,0004**
CV¹ (%)	0,709	1,30	2,19	5,08	2,77	11,77	5,06	20,70	0,40

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Determinação das fibras em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) e lignina

Observou-se que houve diferença ($p < 0,05$) para as características de composição de fibras da cama de frango. Para os afluentes, as camas que tiveram a maior quantidade de FDN foram os tratamentos contendo somente probióticos (T2) e enzimas (T3), para FDA foi somente o T3 e lignina foi T1 e T2 sem diferir de T3. Para composição de efluente o FDN do T3, o FDA do T1 e a lignina do T1 e T2, obtiveram os maiores quantidades (Tabela 8). As maiores % de degradação dessas fibras para FDN e FDA, foram nos tratamentos suplementados com o probiótico (T2), sem diferir do tratamento contendo probiótico + enzimas (T4). Para lignina não observou-se diferença entre os tratamentos na degradação, no entanto todos tiveram degradação acima de 70%.

As camas de frangos adicionadas aos biodigestores do tipo batelada não sofreram separação de sólidos. No entanto, as mesmas ficaram estocadas, o que pode ter interferido na composição das mesmas e na produção de biogás. Os afluentes que continham camas com enzimas + probióticos apresentaram as menores composições dos componentes fibrosos. Isso foi devido ao tempo de estocagem que permitiu ação conjunta das enzimas (degradando a matéria) e das bactérias (degradando e utilizando a matéria). As mudanças na composição das camas influenciaram o processo de biodigestão anaeróbia, principalmente quanto a produção de biogás e sua composição.

Os menores teores de constituintes fibrosos (celulose, hemicelulose e lignina) conforme dados apresentados na Tabela 8, podem ter favorecido as maiores reduções de sólidos totais, sólidos voláteis após o processo de biodigestão (Tabela 5 e 6). Franco et al. (2008) chegaram à conclusão de que a lignina é a principal responsável por retardar a decomposição da matéria orgânica, sendo que a velocidade da biodegradação de um material orgânico depende do seu conteúdo de lignina. As enzimas carboidrases, entre elas a xilanase, que também são produzidas por bactérias, hidrolisam os polissacarídeos não amiláceo, e aumentou a degradação dos materiais da cama de frango.

Resultado semelhante ao obtido no experimento foi encontrado por Orrico et al. (2007) em estudo sobre a interferência da relação volumoso e

concentrado no processo de biodigestão anaeróbia dos dejetos de cabritas Saanen. Esses autores encontraram alta correlação entre a redução da quantidade de volumoso na dieta e a eficiência de degradação do material nos biodigestores.

Tabela 8. Composição química (FDN, FDA e lignina) dos afluentes, efluentes % de nutrientes degradados de cama de frangos de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores batelada.

Tratamentos*	Afluente g/100g de MS			Efluente g/100g de MS			% Degradada		
	FDN	FDA	Lignina	FDN	FDA	Lignina	FDN	FDA	Lignina
T1	54,85 B	46,18 B	16,51 A	42,37 B	23,22 A	6,50 A	54,74 BC	70,61 B	76,99
T2	59,44 A	48,12 B	16,65 A	31,15 D	14,85 D	6,40 A	65,32 A	79,52 A	73,87
T3	61,41 A	53,37 A	15,31 AB	45,00 A	22,77 B	6,24 B	52,09 C	72,04 B	73,23
T4	48,90 C	36,06 C	11,96 B	36,15 C	16,67 C	4,40 C	60,36 AB	75,05 AB	80,02
Valores de F	40,36	46,49	7,38	7526,35	1693,73	1141,68	18,49	11,45	2,97
Valores de p	<0,0001**	<0,0001**	0,0046**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	0,0008**	0,0744 ^{NS}
CV¹ (%)	3,11	4,63	10,63	0,37	1,06	1,002	4,72	3,13	4,77

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Determinação dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais e termotolerantes

Durante a etapa do tratamento em biodigestores do tipo batelada (162 dias de TRH) observou-se redução dos NMP de coliformes totais e termotolerantes, alcançando a eliminação de 100% em tais grupos de bactérias ao final do experimento (Tabela 9). Esse resultado pode estar associado ao processo de biodigestão anaeróbia, e, principalmente, ao tipo de biodigestor utilizado, visto que o biodigestor tubular batelada se caracteriza por apresentar elevada produção de ácido no interior do biodigestor, tendo a ação do pH no processo, reduzindo, assim, a população de coliformes no material de entrada.

O biofertilizante obtido a partir da biodigestão anaeróbia de afluente de cama de frango apresenta características microbiológicas favoráveis ao seu uso na irrigação de hortaliças e de frutas que se desenvolvem rente ao solo, pois, de acordo com resolução CONAMA 357 (2005), admitem-se como concentração permissível para a irrigação dessas culturas, quantidades inferiores a 200 coliformes 100 mL⁻¹ de biofertilizante.

Em estudos para avaliar a eficiência de remoção de coliformes totais e termotolerantes em biodigestores, realizados por Gannoun et al. (2009), que avaliaram diferentes tempos de retenção hidráulica (TRH) e níveis de material orgânico, observaram redução média de coliformes totais e termotolerantes de 99,9%.

Tabela 9. Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes (NMP/100 ml) e eficiência do tratamento de camas de frango de corte que receberam uma dieta com probióticos e enzimas, em biodigestores bateladas.

Tratamentos*	Coliformes Totais		Eficiência %	Coliformes termotolerantes		Eficiência %
	Afluente	Efluente		Afluente	Efluente	
T1	17,00x10 ⁸	0	100	17,00x10 ⁸	0	100
T2	0,68x10 ⁸	0	100	0,45x10 ⁸	0	100
T3	0,83x10 ⁸	0	100	0,83x10 ⁸	0	100
T4	0,004x10 ⁸	0	100	0,004x10 ⁸	0	100

*T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico.

Determinação do volume de biogás e cálculo dos potenciais de produção de biogás

Analisando os dados de volume total de biogás (162 dias) e os potenciais de produção de biogás por ST e SV adicionados e reduzidos, foram observadas diferenças entre os tratamentos ($p < 0,05$). As camas provenientes das aves que receberam a dieta controle (T1) e a dieta contendo somente adição do probiótico (T2) acarretaram maior volume acumulado de biogás e maior potencial de produção de biogás por ST e SV adicionados. Quando se avaliou os potenciais de produção de biogás por ST e SV reduzidos, foi observado maior potencial de produção de biogás para o tratamento contendo somente o probiótico (T2) (Tabela 10).

A cama de aviário é heterogênea e tem seus componentes agrupados em substâncias de rápida degradação, como por exemplo, amido e carboidratos, que são responsáveis pela rápida liberação de gás carbônico e substâncias de degradação lenta, como lignina, celulose e hemicelulose. Em função disso sugerimos que os tratamentos que continham enzimas, apresentaram baixa produção de biogás, e sofreram pequena degradação de suas fibras devido à presença de enzimas e ao esgotamento da matéria orgânica responsável pela produção de biogás. Os tratamentos que não continham a ação das enzimas não obtiveram degradação alta dos seus componentes, apesar de ter o mesmo tempo de estocagem, disponibilizando para o sistema de biodigestão mais nutrientes para produção de biogás.

Fukayama (2008) trabalhou com camas de frango reutilizadas de 1º, 2º, 3º e 4º lote obteve 0,325; 0,342; 0,326 e 0,418 m³ de biogás/kg ST e 0,401; 0,410; 0,400 e 0,520 m³ de biogás/kg SV adicionados, valores esses superiores ao encontrado neste trabalho.

Moller et al. (2004) estudaram potenciais de produção de metano de bovinos submetidos a diferentes dietas e encontraram potencial de 100 litros/kg de sólidos voláteis adicionados para uma dieta 100% de volumoso, valores estes próximo aos encontrados por Alvarez et al. (2006).

Tabela 10. Volume total de biogás produzido e potencial de produção de biogás para ST e SV adicionados e reduzidos de camas de frango de corte, que receberam uma dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas.

Tratamento	Volume total (m ³)	Potencial			
		ST		SV	
		Adicionados (m ³ /kg)	Reduzidos (m ³ /kg)	Adicionados (m ³ /kg)	Reduzidos (m ³ /kg)
T1	0,0130 A	0,201 A	0,490 B	0,240 A	0,550 B
T2	0,0130 A	0,204 A	0,690 A	0,260 A	0,880 A
T3	0,0069 B	0,112 B	0,320 C	0,130 B	0,320 C
T4	0,0062 B	0,098 B	0,210 D	0,120 B	0,230 C
Valores de F	112,28	93,48	75,36	87,67	69,33
Valores de p	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
CV ¹ (%)	7,10	7,64	11,19	8,51	14,04

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Na Figura 2 estão apresentados os dados de produção de biogás em 162 dias nos diferentes tratamentos, para biodigestores do tipo batelada contendo camas de frangos de corte. Ao analisar o gráfico pode-se observar que a maior produção de biogás ocorreu no tratamento controle sem diferir do tratamento contendo somente probiótico. No entanto, o tratamento com adição do probiótico apresentou pico de produção mais rápido que o tratamento controle, que obteve o pico em maior tempo, porém mais constante e com maior tempo de permanência.

Para o tratamento controle o pico de produção ocorreu no 49º dia (0,00038 m³), no tratamento contendo somente probiótico o pico ocorreu no 42º dia (0,00070 m³), no tratamento contendo somente enzimas foi no 36º dia (0,00029 m³) e no tratamento contendo probiótico + enzima ocorreu no 78º dia (0,00016 m³).

Aires (2009), em seu trabalho encontrou que a produção de biogás nos tratamentos sem a separação de sólido da cama de aviário, ou seja, o não peneirado, obteve produção maior em sua fase inicial logo após entrando em declínio e novamente voltando a subir, do mesmo modo como aconteceu nos tratamentos 1 e 2 deste experimento. Já o tratamento com separação de sólidos peneirados possui um início de produção de biogás mais demorado, mas se mantém em crescimento mais estável.

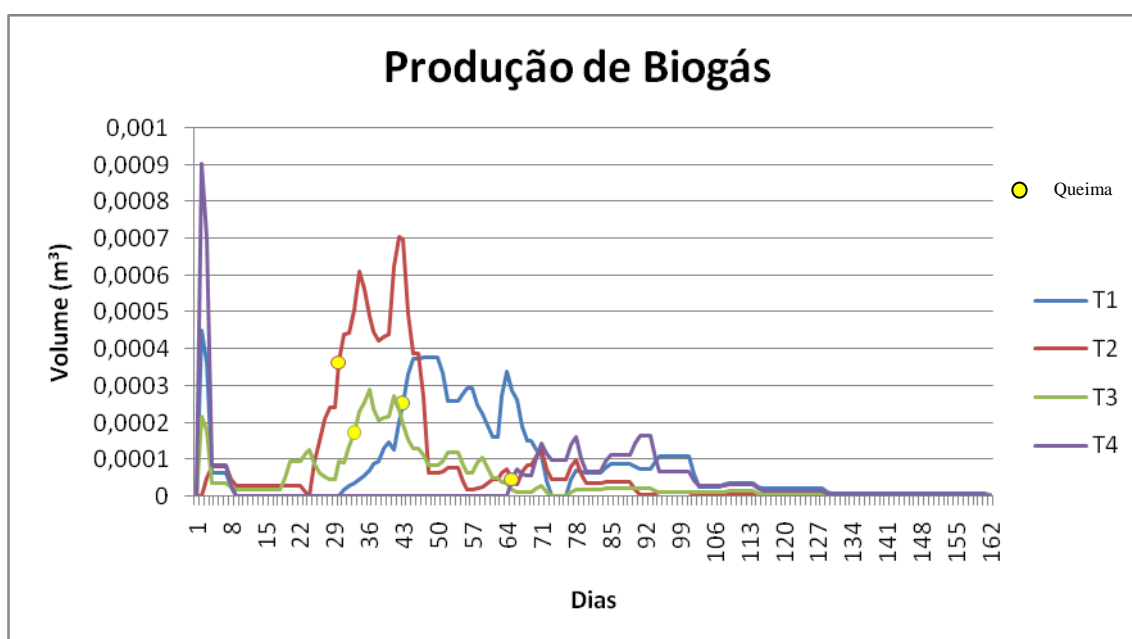


Figura 2. Produção de biogás (m³) em 162 dias.

Análise da composição do biogás produzido

Na análise de composição de gases foram realizadas as médias de quantidade de metano produzida a partir do momento do teste de queima do biogás. Foi observado que houve diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos para todas as características de composição do biogás produzido. Os tratamentos que continham probióticos (T2) apresentaram a produção de metano (m^3 e %) estatisticamente igual às camas que receberam a dieta controle (T1), e para composição em %, o tratamento contendo somente enzimas (T3) também foi estatisticamente igual a T1 e T2 (Tabela 11).

Para as características da composição, em m^3 de CO_2 , os tratamentos T1, T2 e T4 mostraram os maiores valores, sendo que para % de CO_2 somente o T4 foi maior. Quando se avaliou os outros gases observou-se maiores valores em T1, T2 e T3 (Tabela 11).

O excesso de carbono, o que ocorre quando se usa muito material celulósico, principalmente serragem, o biogás tende a possuir elevado teor de CO_2 e pouco metano, o que não ocorreu no presente experimento, onde foram observados níveis elevados de metano, demonstrando que a cama de frango é eficiente na captação de gases para produção de energia, pois o biogás de alta qualidade possui níveis de metano superiores a 50% em relação a outros gases produzidos.

Como observado, o tratamento com probiótico + enzimas, acarretou a pior percentagem de metano em relação aos demais tratamentos, estando relacionado à estocagem da cama que sofreu degradação devida à ação desses aditivos, como demonstrado nos componentes fibrosos dos afluentes que obtiveram a menor quantidade desses compostos (Tabela 8).

Costa (2009) encontrou valores de entre 70 e 90 % de metano, em camas de frango, sem separação de sólidos, diluídas em biofertilizante+água e biofertilizante. Quando analisou também camas de frango composta com casca de amendoim diluída em água e sem separação de sólidos Fukayama (2008), encontrou em média valores de 82,5 % de metano.

Tabela 11. Volume total e composição do biogás produzido de cama de frangos de corte que receberam uma dieta com probióticos e enzimas tratadas em biodigestores bateladas.

Tratamentos*	Características					
	Biogás	Volume (m ³)		Proporção (%)		
		CH ₄	CO ₂	CH ₄	CO ₂	Outros gases
T1	0,0130 A	0,0103 A	0,0020 A	80,39 A	15,49 B	4,12 A
T2	0,0130 A	0,0108 A	0,0017 A	83,35 A	12,88 B	3,77 A
T3	0,0069 B	0,0056 B	0,0011 B	80,30 A	16,59 B	4,17 A
T4	0,0062 B	0,0046 B	0,0016 A	72,98 B	25,99 A	1,16 B
Valores de F	112,28	102,85	8,25	20,77	39,42	7,27
Valores de p	0,0001**	<0,0001**	0,0037**	<0,0001**	<0,0001**	0,0071**
CV¹ (%)	7,10	8,10	14,38	2,45	10,21	27,73

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Na Figura 3 foi demonstrada a produção de metano (%) durante todo o período experimental (161 dias), desde o primeiro dia de coleta dos gases (antes e após a queima do biogás).

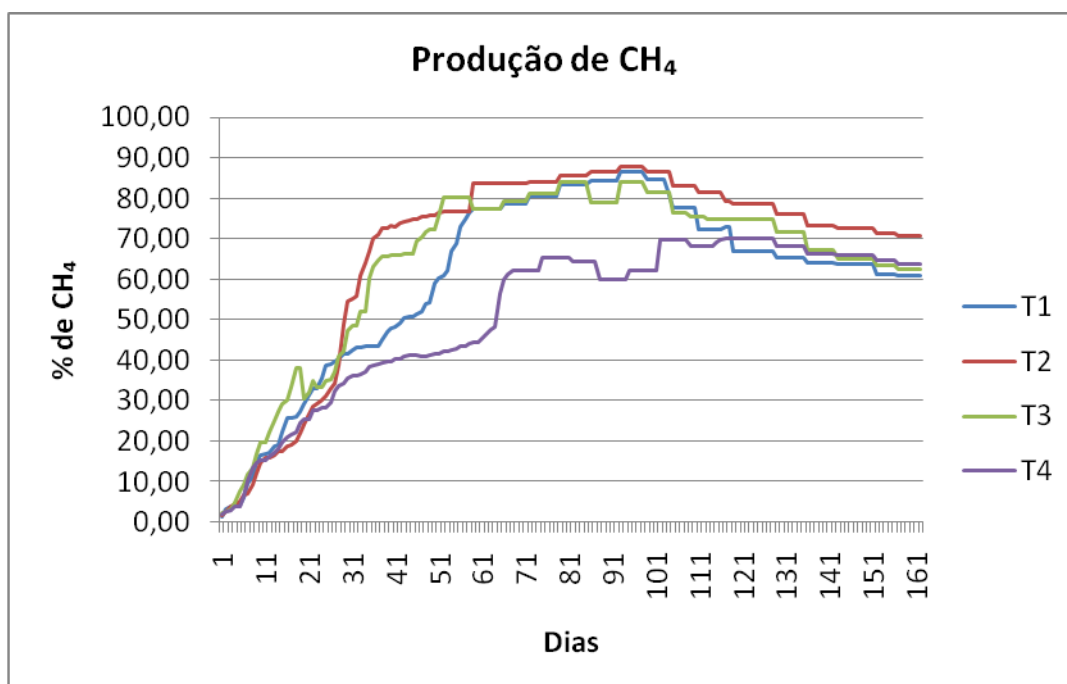


Figura 3. Distribuição do metano (%) em 162 dias.

5. Conclusões

A utilização de probiótico na dieta de frangos de corte melhora a qualidade da cama aumenta a produção de biogás. A utilização de probiótico e enzimas isoladamente mantém a produção de metano do biogás.

O tratamento de cama de frango em biodigestores bateladas é eficiente na redução do pH para próximo do neutro, de ST e SV, degrada o FDN, FDA e lignina, sendo maior nos tratamentos que com probiótico e associação do mesmo com enzimas, e os nutrientes presentes nos afluentes (N, P e K), e elimina 100% dos coliformes.

6. Referências

AIRES, A. M. **Biodigestão anaeróbia da cama de frangos de corte com ou sem separação das frações sólida e líquida**. 2009. 160 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

ALVAREZ, R.; VILLCA, S.; LIDÉN, G. Biogas production from llama and cow manure at high altitude. **Biomass and Bioenergy**, v.30, n.3, p.66-75, 2006.

AMARAL, C. M. C.; AMARAL, L. A.; LUCAS JÚNIOR, J.; NASCIMENTO, A. A.; FERREIRA, D. S.; MACHADO, M. R. F. Biodigestão anaeróbia de dejetos de bovinos leiteiros submetidos a diferentes tempos de retenção hidráulica. **Ciênc. Rur.**, Santa Maria, v. 34, n. 6, p. 1897-1902, 2004.

AMORIM, A. C.; LUCAS JÚNIOR, J.; RESENDE, K. T. Biodigestão anaeróbia de dejetos de caprinos obtidos nas diferentes estações do ano. **Eng. Agríc.**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 16-24, 2004.

ANGONESE, A. R.; CAMPOS, A. T.; ZACARKIM, C. E.; MATSUO, M. S.; CUNHA, F. Eficiência energética de sistema de produção de suínos com tratamento de resíduos em biodigestor. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.**, Campina Grande, v. 10, n. 3, p. 745-750, 2006.

APHA. American Public Health Association. **Standard methods**. 19. ed. Washington, D. C., 1995.

AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. **Official methods of analysis**. 13. ed. Washington, 1980.

CAETANO, L. **Proposição de um sistema modificado para quantificação de biogás**. 1985. 75 f. Dissertação (Mestrado em Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1985.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. CONAMA. Resolução nº 357, de março de 2005. Estabelece classificação para as águas doces, salobras e salinas do Território Nacional. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, v. 53, p. 58, mar. 2005 Seção 1.

CÔTE, C.; MASSE, D. I.; QUESSY, S. Reduction of indicator and pathogenic microorganisms by psychrophilic anaerobic digestion in swine slurries. **Biores. Technol.**, Oxford, v. 97, n. 1, p. 686-691, 2006.

FRANCOU, C.; LINERES, M.; DERENE, S. et al. Influence of green waste, biowest and paper-cardboard initial rations on organic matter transformation during composting. **Bioresource Technology**, v.99, n.18, p.8926-8934, 2008.

FUKAYAMA, E. H. **Características quantitativas e qualitativas da cama de frango sob diferentes reutilizações: efeitos na produção de biogás e biofertilizante**. 2008. 96 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal. 2008.

GANNOUN, H.; BOUALLAGUI, H.; OKBI, A.; SAYADI, S.; HAMDY, M. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of biologically pretreated abattoir wastewaters in an upflow anaerobic filter. **J. Hazard. Mater.**, Amsterdam, v. 170, n. 1, p. 263-271, 2009.

LUCAS JR, J. **Algumas Considerações sobre o uso do estrume de suínos como substrato para três sistemas de biodigestores anaeróbios**. 1994. 137 f. Tese (Livre-Docência Construções Rurais) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1994.

MOLLER, H.B.; SOMMER, S.G.; AHRING, B.K. Methane productivity of manure, straw and solid fractions of manure. *Biomass Bioenergy*, v.26, n.3, p.485-495, 2004.

OGEJO, J. A.; LI, L. Enhancing biomethane production from flush dairy manure with turkey processing wastewater. **Appl. Energy**, Oxford, v. 87, n. 10, p. 3171-3177, 2010.

ORRICO JR., M. A. P. **Avaliação dos sistemas de compostagem e biodigestão anaeróbia na reciclagem e tratamento dos resíduos aves mortas e cama de frangos**. 2005. 57 f. Monografia (Trabalho de graduação em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

ORRICO, A. C. A.; LUCAS JÚNIOR, J.; ORRICO JÚNIOR, M. A. P. Caracterização e biodigestão anaeróbia dos dejetos de caprinos. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 639-647, set./dez. 2007.

ORRICO JUNIOR, M.A.P.; ORRICO, A.C.A.; LUCAS JUNIOR, J. Influência da relação volumoso: concentrado e do tempo de retenção hidráulica sob a biodigestão anaeróbia de dejetos de bovinos. *Engenharia Agrícola*, v.30, n.3, p.386-394, 2010.

RIGO, E. **Aplicação de lipaselipases como auxiliar no pré-tratamento de efluentes de frigoríficos de suínos e bovinos**. 2004. 84 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2004.

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

SAS INSTITUTE. **SAS ® user' guide**: statistics. Cary, NC, 2002.

SCHOENHALS, M. **Avaliação da eficiência do processo de flotação aplicado ao tratamento primário de efluentes de abatedouro avícola** 2006. 87 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295 p.

SPEECE, R. E. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters**. Tennessee: Vanderbilt University, 1996. 394 p.

STEIL, L. **Avaliação do uso de inoculos na biodigestão anaeróbia de resíduos de aves de postura, frango de corte e suínos**. 2001. 127 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia – Área de Concentração em Biotecnologia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.

CAPÍTULO 6 – Produção de biogás a partir de excretas de frangos de corte alimentados com probióticos e enzimas

Resumo- O objetivo do estudo foi avaliar, a produção de excretas, a disponibilidade de nitrogênio e fósforo, o pH, teores de sólidos totais (ST) e voláteis (SV), quantificação dos minerais e de fibras em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) e lignina, número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes, de afluentes e efluentes, volume e potências de produção e composição química do biogás, de excretas de frango de corte criados em gaiolas, que receberam dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas. Foram utilizados 80 frangos de corte da linhagem Cobb 500[®], distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 5 repetições com 4 aves cada. Os tratamentos consistiram de diferentes tipos de dietas: T1: controle; T2: T1 + 500 ppm do probiótico contendo *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; T3: dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase (0,15% de fósforo disponível e 0,12% de cálcio), 200 ppm de protease (3,8% de proteína bruta; 3,8% de arginina digestível; 1,2% de lisina digestível; 3,6% de metionina + cistina digestível; 7,9% de treonina digestível; e 3% de triptofano digestível) e 200 ppm de xilanase (energia metabolizável 40 kcal/kg de ração); T4: T3 + 500 ppm do probiótico. As excretas foram coletadas, pesadas, identificadas e analisadas, para determinação da produção de excretas e disponibilidade de N e P, foram preparadas (4% de sólidos totais) e distribuídas em 4 biodigestores do tipo batelada cada uma. O volume de carga foi o mesmo para todos os biodigestores (1,8 kg) contendo excreta + água. Coletaram-se amostras dos afluentes e efluentes para determinação do pH, teores de ST e SV, quantificação dos minerais (N, P e K) e FDN e FDA e lignina. O volume e potenciais de produção de biogás foram calculados com base nos deslocamentos dos gasômetros durante 142 dias. Amostras do gás foram coletadas semanalmente de cada biodigestor e analisados em cromatográficos de fase gasosa Finigan GC-2001. Foi realizada a análise de variância dos dados e em caso de significância estatística foi adotado o procedimento de comparação das médias pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. A adição de aditivos não interferiu na produção de excretas na MN e MS, % de MS e disponibilidade de N e P. No ensaio de biodigestão ocorreu uma redução de pH, ST, SV, nutrientes e fração fibrosa dos efluentes. Para coliformes totais e termotolerantes observou-se uma redução de 100% nos efluentes. Os aditivos não interferiram na produção de biogás e metano, no entanto influenciaram o potencial de produção de biogás por kg/ST e SV adicionados e reduzidos. A utilização de aditivos aumenta o potencial de produção de biogás.

Palavras-chave: biogás, biodigestor batelada, coliformes totais, metabolismo.

1. Introdução

A preocupação com a escassez dos recursos naturais disponíveis, associada ao aumento da demanda por alimentos, tem ocasionado a procura por modelos de produção sustentáveis. No entanto, os modelos empregados na produção de proteína animal em forma de carne, leite e ovos, principalmente, estão na maioria das vezes, focados aos produtos nobres, restando os produtos classificados como resíduos.

Sendo a avicultura brasileira referência mundial no fomento de tecnologia e produção, pois é a terceira produtora mundial de carne de frango, os nutricionistas buscam alternativas para melhorar a eficiência de utilização dos nutrientes das rações e, conseqüentemente, reduzir a excreção de elementos poluentes pelas aves. Essas medidas atuam diretamente na qualidade das rações, como a suplementação com aditivos.

As pesquisas são em grande número na área de nutrição, no entanto poucas são as pesquisas destinadas ao tratamento desses resíduos com a produção de energia, visando a redução nos custos de produção, com a utilização de energia alternativa, buscando o conceito de sustentabilidade.

O aspecto ambiental atualmente passa a ser parte integrante do manejo cotidiano do setor avícola. Assim, algumas exigências devem ser contempladas para que a criação não seja uma fonte geradora de poluição. A digestão anaeróbia da matéria orgânica é uma alternativa para o setor, representando uma fonte renovável de energia cada vez mais utilizada em todo o mundo.

A biodigestão leva a geração de produtos que devem ser aproveitados a fim de viabilizar ambientalmente a criação. Os produtos são o biofertilizante, utilizados como fonte de nutrientes para as culturas, e o biogás utilizado como fonte de energia térmica para iluminação, aquecimento e movimentação de equipamentos e máquinas.

A alimentação é a maior parcela do custo de produção de aves, por isso a necessidade de melhorar a eficiência das rações, através da utilização de matérias-primas de melhor qualidade e junto a isso técnicas de fabricação mais modernas como a utilização de aditivos na dieta. Atualmente há grande variedade de rações no

setor avícola, que interferem diretamente na excreta das aves, e podem influenciar no tratamento anaeróbio dos resíduos avícolas e na produção de biogás.

Para o tratamento ser eficiente, deve ser estabelecido um padrão máximo de rendimento. Por ser um processo biológico, a biodigestão pode ocasionar variações nos seus subprodutos (biogás e biofertilizante), levando à baixa qualidade ou até perda de produção do biogás, sem remoção de matéria orgânica do efluente. No entanto, o presente trabalho busca respostas sobre a influencia de aditivos nas excretas das aves e na produção de biogás.

2. Objetivos

Objetivou-se com o desenvolvimento do estudo avaliar a produção de excretas “in natura” e na matéria seca e a disponibilidade de nitrogênio e fósforo de excretas de frangos de corte que receberem dietas contendo probiótico e enzimas exógenas.

Na biodigestão em biodigestores do tipo batelada dessas excretas foram analisados o pH, teores de sólidos totais (ST) e voláteis (SV), quantificação dos minerais, de fibras em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) e lignina número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes, de afluentes e efluentes e volume, potências de produção e composição química do biogás gerado.

3. Material e métodos

Instalações, aves, manejo, preparação do substrato e biodigestores utilizados

Foi realizado um experimento, no Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – campus de Jaboticabal – São Paulo, onde 80 frangos de corte (Cobb 500[®]) com 43 dias de idade, provenientes de um mesmo lote de matrizes, foram alojadas em um galpão de alvenaria contendo 20 gaiolas de metabolismo (4aves/gaiola). Durante o período de criação, todas as aves receberam água e ração *ad libitum*.

Foram colocadas bandejas de alumínio abaixo das gaiolas para a coleta das excretas das aves por um período de cinco dias. Após a coleta, as mesmas foram levadas para o Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal / UNESP, onde foi realizado o

abastecimento de biodigestores do tipo batelada de bancada experimentais. Com estes procedimentos, a aquisição de dados permitiu o conhecimento dos efeitos do probiótico e das enzimas sobre o potencial de produção de biogás para o aproveitamento em forma de pico de produção.

Os substratos utilizados para o abastecimento dos biodigestores foram as excretas provenientes de aves criadas em gaiolas de metabolismo e alimentadas com rações suplementadas com probiótico e/ou enzimas, cujo volume da carga (1,8 kg) foi o mesmo para todos os biodigestores. Em cada abastecimento o substrato foi preparado com teor de sólidos totais próximo a 4,0%, segundo o modelo proposto por Lucas Junior (1994) (Tabela 1).

Tabela 1. Quantidade de substratos adicionados aos biodigestores bateladas.

Excreta	Água	Total
0,301 kg	1,499 kg	1,800 kg

Os biodigestores do tipo batelada (Figura 1) foram constituídos por três cilindros retos de PVC com diâmetros de 7,5, 10 e 15 cm, acoplados sobre um cap de PVC com capacidade operacional de 2 litros de substrato em fermentação cada. Os cilindros de 10 e 15 cm foram inseridos um no interior do outro, de tal forma que o espaço existente entre a parede externa do cilindro interior e a parede interna do cilindro exterior comportasse um volume de água (“selo de água”), atingindo profundidade de 50 cm. O cilindro de diâmetro intermediário teve as extremidades vedadas, conservando-se apenas uma abertura para descarga do biogás, e emborcado no selo de água, para propiciar condições anaeróbias e armazenar o gás produzido.

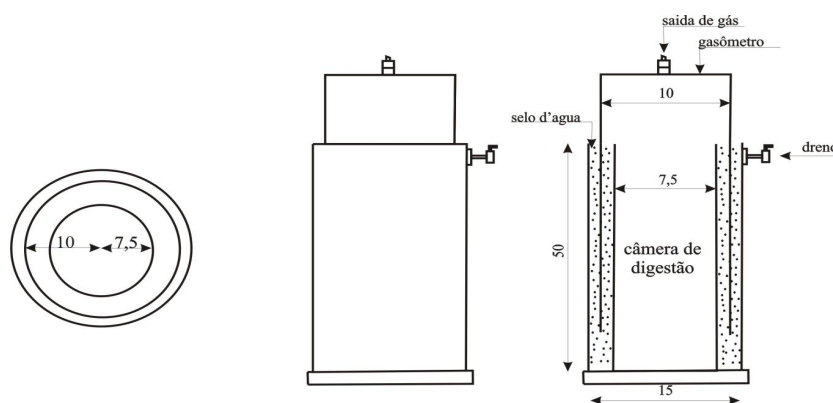


Figura 1. Biodigestor tipo batelada de bancada.

Tratamentos experimentais

As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, suplementadas com minerais, vitaminas e aminoácidos, para atenderem às exigências nutricionais de cada fase de criação das aves (inicial, crescimento e final) de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2011) (Tabelas 1 e 2). Não foi utilizado promotor de crescimento.

Foi utilizada a matriz nutricional de cada enzima para a devida formulação das dietas onde, a enzima xilanase contribuiu com energia metabolizável 40 kcal/kg de ração, enzima fitase contribuiu com 0,15% de fósforo disponível e 0,12% de cálcio e a enzima protease contribuiu com 3,8% de proteína bruta; 3,8% de arginina digestível; 1,2% de lisina digestível; 3,6% de metionina + cistina digestível; 7,9% de treonina digestível; e 3% de triptofano digestível.

O probiótico adicionado às dietas está presente em um produto comercial em teste para aves, sendo adicionado no nível de 0,5kg/Ton de ração, contendo *Bacillus subtilis* (mínimo $0,735 \times 10^8$) e *Bacillus licheniformis* (mínimo $0,735 \times 10^8$).

Os tratamentos utilizados foram os seguintes:

- ✓ Tratamento 1: Dieta controle.
- ✓ Tratamento 2: Dieta T1 com adição de 500 ppm do probiótico.
- ✓ Tratamento 3: Dieta formulada com 20 ppm de fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase.
- ✓ Tratamento 4: Dieta T3 + 500 ppm de probiótico .

Para os biodigestores os tratamentos consistiram em excretas de frango de aves coletadas em gaiolas de metabolismo, que receberam os diferentes tipos de dietas citadas.

Tabela 2. Composição calculada das rações experimentais para a fase inicial, crescimento e final.

Macro Ingredientes	Inicial				Crescimento				Final			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Milho triturado	50,36	50,36	55,04	55,04	58,23	58,23	62,90	62,90	62,95	62,95	67,54	67,54
Farelo de soja	40,80	40,80	38,30	38,30	32,60	32,60	30,10	30,10	28,60	28,60	26,30	26,30
Óleo de soja	4,70	4,70	3,10	3,10	4,80	4,80	3,20	3,20	4,60	4,60	2,90	2,90
Fosfato bicálcico	1,86	1,86	1,05	1,05	1,90	1,90	1,09	1,09	1,75	1,75	0,94	0,94
Calcário fino	1,24	1,24	1,43	1,43	1,26	1,26	1,46	1,46	0,97	0,97	1,16	1,16
Sal comum	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,41	0,41	0,41	0,41
DL-Metionina 99%	0,22	0,22	0,20	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,18	0,18	0,16	0,16
L-Lisina HCl 78%	0,09	0,09	0,14	0,14	0,22	0,22	0,27	0,27	0,20	0,20	0,25	0,25
L-Treonina 98%	0,05	0,05	0,02	0,02	0,10	0,10	0,06	0,06	0,09	0,09	0,05	0,05
Enzimas*	0,00	0,00	0,042	0,042	0,00	0,00	0,042	0,042	0,00	0,00	0,042	0,042
Probiótico	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05
Supl. vit e min + Anti**	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20	0,25	0,20
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

*20 ppm de fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase.**Suplemento vitamínico e mineral enriquecido por quilograma de ração: 8.000 UI vitamina A, 1.800 UI vitamina D₃, 12 mg vitamina E, 2 mg vitamina K₃, 1 mg vitamina B₁, 4 mg vitamina B₂, 1 mg vitamina B₆, 10 mcg vitamina B₁₂, 0,40 mg ácido fólico, 0,04 mg biotina, 28 mg niacina, 11 mg pantotenato de cálcio, 6 mg Cu, 0,10 mg Co, 1 mg I, 50 mg Fe, 65 mg Mn, 45 mg Zn, 0,21 mg Se, 500 mg cloreto de colina 50%, 12 mg antioxidante e agente anticoccidiano (salinomicina).

Tabela 3. Análise calculada dos níveis nutricionais das rações experimentais.

	Inicial				Crescimento				Final			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3000	3000	2960	2960	3100	3100	3060	3060	3200	3200	3160	3160
Proteína Bruta (%)	23.00	23.00	22.13	22.13	20.00	20.00	19.24	19.24	18.50	18.50	17.80	17.80
Arginina Total (%)	1.57	1.57	1.49	1.49	1.32	1.32	1.25	1.25	1.20	1.20	1.14	1.14
Arginina Digestível (%)	1.45	1.45	1.44	1.44	1.22	1.22	1.21	1.21	1.11	1.11	1.10	1.10
Lisina Total (%)	1.37	1.37	1.38	1.38	1.25	1.25	1.26	1.26	1.14	1.14	1.15	1.15
Lisina Digestível (%)	1.25	1.25	1.25	1.25	1.15	1.15	1.15	1.15	1.04	1.04	1.05	1.05
Metionina Total (%)	0.60	0.60	0.60	0.60	0.56	0.56	0.56	0.56	0.51	0.51	0.51	0.51
Metionina + Cistina Total (%)	0.98	0.98	0.94	0.94	0.90	0.90	0.86	0.86	0.83	0.83	0.80	0.80
Metionina Digestível (%)	0.57	0.57	0.56	0.56	0.54	0.54	0.52	0.52	0.49	0.49	0.47	0.47
Metionina + Cistina Digestível (%)	0.89	0.89	0.89	0.89	0.82	0.82	0.82	0.82	0.75	0.75	0.75	0.75
Treonina Total (%)	0.93	0.93	0.82	0.82	0.85	0.85	0.75	0.75	0.78	0.69	0.75	0.69
Treonina Digestível (%)	0.80	0.80	0.80	0.80	0.74	0.74	0.74	0.74	0.68	0.68	0.68	0.68
Triptofano Total (%)	0.28	0.28	0.27	0.27	0.24	0.24	0.22	0.22	0.21	0.21	0.20	0.20
Triptofano Digestível (%)	0.24	0.24	0.24	0.24	0.20	0.20	0.20	0.20	0.18	0.18	0.18	0.18
Isoleucina Total (%)	0.98	0.98	0.94	0.94	0.83	0.83	0.79	0.79	0.76	0.76	0.75	0.75
Isoleucina Digestível (%)	0.78	0.78	0.78	0.78	0.67	0.67	0.66	0.66	0.61	0.61	0.61	0.61
Leucina Total (%)	4.02	4.02	4.18	4.18	4.14	4.14	4.30	4.30	4.24	4.24	4.55	4.55
Leucina Digestível (%)	3.57	3.57	3.72	3.72	3.71	3.71	3.87	3.87	3.82	3.82	3.98	3.98
Valina Total (%)	1.08	1.08	1.04	1.04	0.93	0.93	0.89	0.89	0.86	0.86	0.85	0.85
Valina Digestível (%)	0.93	0.93	0.94	0.94	0.80	0.80	0.81	0.81	0.74	0.74	0.75	0.75
Fenilalanina Total (%)	1.15	1.15	1.11	1.11	0.99	0.99	0.95	0.95	0.91	0.91	0.88	0.88
Fenilalanina Digestível (%)	1.04	1.04	1.00	1.00	0.90	0.90	0.86	0.86	0.83	0.83	0.80	0.80
Fibra Bruta (%)	2.76	2.76	2.72	2.72	2.51	2.51	2.47	2.47	2.40	2.40	2.37	2.37
Cálcio (%)	1.00	1.00	0.88	0.88	1.00	1.00	0.88	0.88	0.85	0.85	0.73	0.73
Fósforo Total (%)	0.68	0.68	0.53	0.53	0.66	0.66	0.51	0.51	0.63	0.63	0.48	0.48
Fósforo Disponível (%)	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.42	0.42	0.42	0.42
Sódio (%)	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.18	0.18	0.18	0.18
Cloro (%)	0.32	0.32	0.33	0.33	0.35	0.35	0.36	0.36	0.33	0.33	0.34	0.34
Potássio (%)	1.07	1.07	1.03	1.03	0.91	0.91	0.86	0.86	0.83	0.83	0.79	0.79
Colina (%)	1.248	1.248	1.227	1.227	1.133	1.133	1.112	1.112	1.082	1.082	1.68	1.064

Delineamento experimental

Para a coleta de excretas o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e 5 repetições de gaiolas com 4 aves cada. O delineamento utilizado para biodigestão anaeróbia foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e 4 repetições de biodigestores do tipo batelada.

Características avaliadas

Determinação da produção de excretas

Foram alojados 80 frangos de corte com 43 dias de idade em gaiolas de metabolismo (4 aves/gaiola) para realização da coleta das excretas “in natura”. Uma vez coletadas, as mesmas foram pesadas e calculou-se a produção diária de excretas (kg/ ave/ dia), dividindo-se a quantidade coletada (kg) pelo número de aves alojadas e pelo número de dias de coleta.

As amostras representativas das excretas foram acondicionadas em recipientes de alumínio previamente tarados e pesados para se obter o peso úmido (P_U) do material, levados à estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 65°C até atingirem peso constante. Foram resfriados e pesados em balança de precisão de 0,01g, obtendo-se o peso seco (P_S). O teor de matéria seca (MS) foi determinado segundo metodologia descrita pela APHA (1998).

A produção de MS/ ave/ dia foi calculada com os dados de pesagem dos dejetos (kg), número de aves alojadas e teor de MS encontrado nos dejetos.

Disponibilidade de nitrogênio e de fósforo

Foi realizado um ensaio de metabolismo para verificar a disponibilidade de nitrogênio e de fósforo nas excretas das aves, utilizando-se as aves do período anterior. Foram utilizadas 4/aves/parcela, com 5 repetições, totalizando 20 gaiolas e 80 aves. O óxido férrico foi adicionado às rações como marcador, na proporção de 1% da ração, no primeiro e último dia de coleta.

Sob as gaiolas foram instaladas bandejas de alumínio, previamente revestidas com plástico para evitar a perda de excretas. As excretas foram coletadas cuidadosamente duas vezes ao dia, pelo período de cinco dias, no

início da manhã e no final da tarde e, nesse período, os comedouros foram supridos de ração três vezes ao dia para evitar o desperdício e contaminação das bandejas. Depois de coletadas, as excretas foram acondicionadas em sacos plásticos, identificados por repetição e congeladas.

No ensaio, foi determinada a quantidade de ração consumida, bem como a quantidade total de excretas produzidas, após o descongelamento à temperatura ambiente. As excretas foram homogeneizadas por repetição, sendo retirada uma amostra de aproximadamente 500 g que foi seca em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 72 horas, a fim de proceder a pré-secagem, para a determinação da amostra seca ao ar.

A seguir, as amostras de excretas foram moídas em moinho de bola e as amostras das dietas experimentais foram utilizadas para a determinação da MS, nitrogênio (N) e fósforo (P), seguindo metodologia descrita por Silva (1990).

Ensaio de biodigestão anaeróbia

Determinação do pH

Para a determinação do pH foram separadas amostras do afluente e efluente, dos quais com a utilização do pHmetro obteve-se o valor exato do pH de cada solução. Determinando se a solução era ácida (pH de 0 a 6,9), neutra (pH = 7) ou alcalina (pH de 7,1 a 14).

Determinação dos teores de sólidos totais (ST) e de sólidos voláteis (SV)

Os teores de ST e SV das amostras coletadas para afluente e efluente durante os ensaios de biodigestão anaeróbia foram determinados de acordo com a metodologia descrita por APHA (1995).

Quantificação dos minerais (N, P e K) do afluente e do efluente (biofertilizante)

As amostras do afluente e do efluente foram coletadas durante o desenvolvimento do experimento de biodigestão. As mesmas foram pré-secadas à 60° C, em estufa de circulação forçada de ar, durante 48 horas. A

seguir foram finamente moídas, em moinho de facas, e então utilizadas para a digestão da matéria orgânica.

Para quantificação do teor de nitrogênio, foi utilizada a digestão sulfúrica para obtenção do extrato e a determinação analítica o método semi-micro Kjeldhal, cujo princípio baseia-se na transformação do nitrogênio amoniacal ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) em amônia (NH_3), a qual é fixada pelo ácido bórico e posteriormente titulada com H_2SO_4 até nova formação de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, na presença do indicador ácido/base.

O potássio (K) foi quantificado utilizando-se digestão nitro-perclórica para obtenção do extrato, posteriormente submetido a espectrofotômetro de absorção atômica GBC, modelo 932 AA, sendo o fósforo determinados por método colorimétrico, utilizando-se espectrofotômetro HACH modelo DR-2000.

Determinação das fibras em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) e lignina

As determinações dos conteúdos de fibras em detergente neutro, fibra em detergente ácido, celulose e lignina foram efetuadas conforme as metodologias propostas no AOAC (1980) dos afluentes e dos efluentes dos biodigestores do tipo batelada.

Determinação dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais e termotolerantes

Para as análises de coliformes totais e termotolerantes, foram coletadas amostras do afluente no início e do efluente no final do experimento, de cada tratamento. Foi utilizada a técnica de tubos múltiplos descrita por Silva et al. (1997). Os resultados foram expressos em NMP/100ml de afluente e efluente, e a % de eficiência do tratamento em biodigestores bateladas.

Teste de queima

No início do processo de biodigestão foram feitos os testes de queima para análise superficial do gás. Através de uma mangueira conectou-se o bico de saída do gás a um bico de Bunsen, onde biogás foi liberado e acendeu-se o bico com um fósforo, se o fogo apaga-se, significava que ainda existia dióxido

de carbono (CO_2) no interior do biodigestor, porém se o fogo acendesse e permanecesse constante significava que o teor de metano (CH_4) estava alto e o biodigestor estava produzindo biogás. A partir deste teste avaliou-se quanto tempo o processo de biodigestão levou para produzir energia.

Determinação do volume de biogás e cálculo dos potenciais de produção de biogás

As excretas foram separadas por tratamento e armazenadas para utilização no abastecimento único dos biodigestores do tipo batelada. As cargas foram únicas e preparadas, utilizando-se como substrato as excretas de frango, diluídas em água. O substrato foi adicionado nos biodigestores (1,8 litros de carga/biodigestor), tendo o tempo de retenção hidráulica de 142 dias.

Para a determinação dos volumes de biogás produzidos, foi medido deslocamento vertical dos gasômetros semanalmente e os valores foram multiplicados pela área da seção transversal interna dos gasômetros ($0,00785 \text{ m}^2$). Após cada leitura os gasômetros foram zerados utilizando-se o registro de descarga do biogás. A correção do volume de biogás foi feita para as condições de 1 atm e 20°C e efetuada com base no trabalho de Caetano (1985). Obtendo o volume de biogás acumulado (m^3) durante 142 dias.

Os potenciais de produção de biogás foram calculados utilizando-se os dados de produção de biogás acumulado e as quantidades de substrato, de ST e SV adicionados nos biodigestores, além das quantidades de ST e SV reduzidos durante o processo de biodigestão anaeróbia. Os valores foram expressos em m^3 de biogás/kg de ST e SV adicionados e reduzidos.

Análise da composição do biogás produzido

As análises da composição do biogás foram realizadas semanalmente para determinação dos teores de metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2) e de outros gases, através de um cromatógrafo de fase gasosa Finigan GC-2001, equipado com as colunas Porapack Q e Peneira Molecular, e um detector de condutividade térmica.

Análises estatísticas

Os dados foram analisados pelo programa SAS[®] (SAS Institute, 2002) e em caso de significância estatística, as médias foram comparadas pelo teste de Tuckey a um nível de 5% de probabilidade.

4. Resultados e discussão

Determinação da produção de excreta

Para as excretas coletadas de aves com 43 dias de idade que receberam diferentes tipos de dietas, observou-se que não ocorreram diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos para produção de excretas na MN, MS e % de MS (Tabela 4). Segundo Garcia et al. (2008), a adição de enzimas às dietas diminui significativamente a quantidade de água na excreta, porém, neste trabalho, os aditivos não promoveram esse efeito quando comparado ao tratamento controle, ou seja, nenhum dos aditivos utilizados proporcionou redução na quantidade das excretas das aves.

Moreng e Evans (1990), citam médias entre 70 a 80% de água nos dejetos das aves, ou seja, cerca de 20 a 30% de MS. Esses dados corroboram com os de Gelmini (1987) os quais destacaram uma média de 75% de água e 25% de ST nos dejetos de aves poedeiras, assim como os dados de El Boushy (1994) de 25 a 28% de MS nos dejetos de aves. Leeson et al. (2000) apresentaram valores médios de 30% de MS para dejetos de aves poedeiras e 70% de MS para dejetos de aves poedeiras acumulados por um ano, devido a perda de água.

Tabela 4. Produção de excretas na matéria natural e matéria seca (g/ave/dia) de frangos de corte com 43 dias (criados em gaiolas por cinco dias) que receberam uma dieta com probióticos e enzimas.

Tratamentos*	% matéria seca	Quantidade (g/ave/dia)	
		Materia natural	Materia seca
T1	25,13	110	27
T2	23,78	109	26
T3	24,42	100	24
T4	23,88	100	23
Valores de F	0,70	0,35	0,39
Valores de P	0,565 ^{NS}	0,79 ^{NS}	0,76 ^{NS}
CV ¹	6,83	24,25	25,23

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. ^{NS} não significativo (p>0,05).

Disponibilidade de N e P

Observou-se que houve diferenças (p<0,05) da dieta para consumo de P, os tratamentos que receberam enzimas (T3 e T4) proporcionaram menor ingestão de P. Para as demais características avaliadas não ocorreu diferenças (p>0,05) entre os tratamentos, demonstrando que a presença de aditivos não reduziu a excreção de N e P quando comparadas ao tratamento sem adição dos mesmos (Tabelas 5 e 6). Esses dados estão em desacordo com Rutherford et al. (2002), onde os mesmos dizem que a adição de fitase melhora a retenção de minerais.

As enzimas, supostamente, não contribuíram para o aumento da retenção de N e P, pois não houve diferença significativa entre as duas rações com e sem enzimas. Os resultados estão em desacordo com os relatos de Wu et al.(2006) e Plumstead et al. (2007) de que a suplementação das dietas com fitase permite reduzir os níveis de fósforo total das dietas, aumenta o fósforo retido e reduz sua excreção para o meio ambiente. No entanto, diversos pesquisadores relataram o efeito da fitase aumentando a disponibilidade do fósforo fítico de ingredientes vegetais para aves (VIVEROS et al., 2002; SANTOS et al., 2008; SILVA et al., 2008), o que não foi observado no presente estudo.

A redução nos níveis de P e N das excretas e a maior utilização desses dos alimentos de origem vegetal são extremamente benéficas para o meio ambiente, principalmente em regiões com intensa atividade avícola. Assim são

necessárias mais pesquisas sobre a matriz nutricional das enzimas disponíveis no mercado.

Tabela 5. Metabolismo do nitrogênio, de frangos de corte, alimentados com probióticos e enzimas exógenas.

Tratamentos*	Consumo (g/ave/dia)	Excreção (g/ave/dia)	% Retido
T1	3,50	1,17	66,59
T2	3,23	1,12	64,50
T3	3,02	1,05	67,27
T4	2,96	0,98	66,69
Valores de F	2,61	0,47	0,09
Valores de P	0,087 ^{NS}	0,712 ^{NS}	0,966 ^{NS}
CV ¹	9,60	27,28	13,95

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. ^{NS} não significativo (p>0,05).

Tabela 6. Metabolismo do fósforo, de frangos de corte, alimentados com probióticos e enzimas exógenas.

Tratamentos*	Consumo (g/ave/dia)	Excreção (g/ave/dia)	% Retido
T1	0,783 A	0,322	58,90
T2	0,765 A	0,315	58,83
T3	0,666 B	0,301	59,66
T4	0,654 B	0,298	60,42
Valores de F	3,02	4,25	0,528
Valores de P	0,034**	0,111 ^{NS}	0,102 ^{NS}
CV ¹	10,29	25,25	14,02

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. ^{NS} não significativo (p>0,05).

Ensaio de biodigestão Análise de pH

A análise de pH é de extrema importância para os tratamentos de afluentes, onde os mesmos atingem a redução do pH, levando-o perto do neutro. Verificou-se durante o processo de biodigestão, redução do pH dos efluentes líquidos, que variaram de 9,25 nos afluentes a 7,45 nos efluentes líquidos coletados na saída do biodigestor (Tabela 7). Tais valores estão dentro da faixa considerada ideal de pH para a decomposição adequada dos dejetos de animais, especialmente durante a biodigestão anaeróbia que varia de 6,0 a 8,0, tendo como ponto ideal o pH 7,0 (QUADROS et al., 2010).

Essa redução de pH se deve ao processo de decomposição anaeróbia da matéria orgânica, que devido às reações de hidrólise levam a uma grande produção de ácidos, promovendo redução de pH.

Tabela 7. Resultados de pH para afluentes e efluentes de excretas de frangos de corte, que receberam dietas com probióticos e enzimas exógenas, tratadas em biodigestores bateladas.

Tratamentos*	pH Afluente	pH Efluente
T1	9,25	7,59
T2	9,09	7,45
T3	8,02	7,60
T4	8,91	7,51

*T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico.

Determinação dos teores de sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV)

Observou-se acentuadas reduções nos tratamentos, onde ocorreu maior redução de ST e SV no tratamento controle (T1), diferindo estatisticamente somente do tratamento onde as aves receberam a dieta contendo probiótico em consórcio com enzimas (T4). Esta diferença pode ser explicada pela quantidade de ST e SV que compuseram as excretas das aves, nos afluentes, onde se obteve alta deposição de ST e SV nos afluentes desses tratamentos sem ocorrer diferenças significativas nos efluentes (Tabela 8 e 9).

Orrico Junior (2008) avaliou o desempenho de biodigestores de bancada abastecidos com dejetos de suínos operando com TRH de 29 dias, e obteve valores de 66,77% de redução de ST e 70,82% de redução de SV. Em biodigestores abastecidos com dejetos de aves de postura, estudados por Primiano (2002), foram encontradas médias de redução de SV de 53,0% quando não utilizou inóculo e de 77,0% utilizando inóculo.

A redução de ST e SV no tratamento em biodigestores se dá durante o processo de biodigestão anaeróbia devido à conversão da matéria orgânica presente em biogás. Esse processo é de extrema importância para redução da carga poluidora da matéria orgânica, além de produzir o biogás utilizado na produção de energia limpa.

Tabela 8. Teores de ST nos afluentes e efluentes, e % de ST reduzido de excreta de frangos de corte, que receberam uma dieta com probióticos e enzimas tratadas em biodigestores bateladas.

Tratamentos*	ST				
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Reduzido
	%		Kg		%
T1	3,63 A	1,29	0,065 A	0,022	66,85 A
T2	2,91 B	1,17	0,052 B	0,020	62,12 AB
T3	3,23 AB	1,27	0,058AB	0,022	62,33 AB
T4	2,85 B	1,35	0,051 B	0,023	54,90 B
Valores de F	7,03	1,15	7,03	1,20	5,16
Valores de P	0,0055**	0,37 ^{NS}	0,0055**	0,35 ^{NS}	0,016**
CV¹	8,53	11,17	8,53	11,50	7,07

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Tabela 9. Teores de SV nos afluentes e efluentes, e % de SV reduzido de excreta de frangos de corte, que receberam uma dieta com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas.

Tratamentos*	SV				
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Reduzido
	%		Kg		%
T1	3,00 A	0,71	0,054 A	0,012	77,85 A
T2	2,41 B	0,64	0,043 B	0,011	75,13 AB
T3	2,72 AB	0,72	0,049 AB	0,013	74,74 AB
T4	2,37 B	0,79	0,043 B	0,014	68,58 B
Valores de F	7,01	1,14	7,01	1,08	3,67
Valores de P	0,0056**	0,37 ^{NS}	0,0056**	0,39 ^{NS}	0,044**
CV¹	8,52	16,13	8,52	16,33	5,51

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Quantificação dos minerais do afluente e efluente (biofertilizante)

Observou-se diferença (p<0,05), nos teores de P e K presente nos afluentes e efluentes dos biodigestores, demonstrando que o consórcio de aditivos (T4), apresentou a maior concentração de K nos afluentes das excretas das aves e as menores concentrações de P nos afluentes dos tratamentos que continham enzimas. Nos efluentes as menores concentrações de P e K foram no tratamento que continha enzimas+probióticos (T4) na dieta, sendo que para o K foi estatisticamente igual ao tratamento T2 sem diferir de T1. As degradações foram elevadas para todos os tratamentos, mas não houve diferença entre os tratamentos.

Observou-se que não obteve interferência dos aditivos para a quantidade de N contido nas excretas dos afluentes, no entanto as excretas de aves que receberam enzimas (T3 e T4), reduziram significativamente a quantidade de P.

As concentrações médias de N, P e K dos afluentes e efluentes na literatura têm muita variação, estando este relacionado à espécie e principalmente a dieta recebida durante o período de criação. Em estudos com biodigestores abatecidos com dejetos de suínos com TRH de 29 dias, Orrico Junior (2008), observou concentrações médias (% da matéria seca) de 3,74 (N), 2,05 (P), 2,32 (K), nos afluentes e 3,84 (N); 4,61 (P); 6,61 (K) nos efluentes dos biodigestores, valores numericamente menores que os encontrados no referido estudo.

A utilização de biodigestores do tipo batelada degradou eficientemente os nutrientes das excretas contidas na matéria seca dos substratos adicionados com valores acima de 55%.

Tabela 10. Composição química dos afluentes, efluentes % de nutrientes degradados de excretas de frangos de corte que receberam dietas com probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas.

Tratamentos*	Afluente			Efluente			%Degradado		
	N	P	K	N	P	K	N	P	K
T1	5,49	6,82 A	5,47 D	3,13	6,73 A	1,04 AB	80,92	67,10	93,67
T2	5,24	6,77 A	5,92 B	3,31	6,80 A	0,92 B	75,98	62,02	94,08
T3	5,48	6,24 B	5,72 C	3,26	6,57 A	1,15 A	77,53	59,60	92,35
T4	5,59	6,10 B	6,19 A	3,35	6,07 B	0,92 B	72,96	55,23	91,88
Valores de F	100,37	15,26	48,44	0,38	9,28	3,48	3,03	2,38	3,18
Valores de P	<0,067 ^{NS}	0,0002**	<0,0001**	0,7679 ^{NS}	0,0019**	0,050**	0,0713 ^{NS}	0,1203 ^{NS}	0,0630 ^{NS}
CV¹	0,55	2,84	1,52	9,43	3,28	10,38	4,95	10,51	1,26

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Determinação da fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina

Para os afluentes obtiveram-se diferenças ($p < 0,05$) nos teores de FDN e FDA. No tratamento contendo somente enzimas verificou-se maior composição de FDN, seguidos de T1 e T4 e a menor composição foi no T2. Para FDA a composição foi maior em T2, seguidos de T1 e T3, onde a menor composição foi em T4.

Para os efluentes e % de degradação observou-se diferenças ($p < 0,05$) somente para a lignina. Ocorreu menor quantidade de lignina nos efluentes dos tratamentos T1, T3 e T4, observando-se maior porcentagem de degradação para T1 sem diferir de T3 e T4.

Escassos são os resultados encontrados na literatura estudando o efeito da inclusão de enzimas a rações sobre a redução de fibras nas excretas das aves. Moeser e Van Kempem (2002) avaliaram a excreção de fezes de suínos em crescimento, consumindo dietas compostas por milho e farelo de soja e com níveis crescentes de FDN, atingidos pela inclusão de casca de soja. As rações com o maior teor de fibra (22,2%) foram suplementadas ou não com xilanase. A adição da enzima proporcionou redução de 10,3% na excreção de fezes dos suínos, em relação ao observado para os animais que consumiram ração com mesmo teor de fibra e sem enzimas. No entanto, a excreção de fezes foi menor para os animais alimentados com dietas com menores teores de fibra, 6,6% ou 12,1%, e sem suplementação enzimática.

Resultados de pesquisas indicam que a inclusão de enzimas exógenas em rações para aves pode melhorar o aproveitamento dos nutrientes da fibra da dieta e, em certos casos, promover melhorias no desempenho e redução na produção de excretas, sendo que isso não foi observado no presente estudo. Os resultados podem estar relacionados com a matriz nutricional das enzimas que não disponibilizaram a quantidade referida no produto comercial ou com a atividade enzimática que pode ter sido prejudicada por algum fator fisiológico ou baixo nível de inclusão das enzimas às dietas. No entanto, a utilização de biodigestores reduziu a fração fibrosa dos efluentes, sendo eficiente na degradação das fibras.

Tabela 11. Composição química dos afluentes, efluentes % de nutrientes degradados de excretas de frangos de corte que receberam dietas contendo probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores bateladas.

Tratamentos*	Afluente			Efluente			%Degradado		
	FDN	FDA	Lignina	FDN	FDA	Lignina	FDN	FDA	Lignina
T1	35,39 B	13,59 B	6,12	21,86	7,85	1,26 B	79,96	81,25	93,13 A
T2	32,99 C	15,64 A	5,13	18,80	7,61	2,41 A	78,39	81,52	79,71 B
T3	38,17 A	13,55 B	7,93	20,17	8,66	1,40 B	78,39	73,32	90,49 AB
T4	34,97 B	12,63 C	3,04	17,27	7,29	1,14 B	76,81	73,91	82,58 AB
Valores de F	278,71	46,06	1,71	0,27	0,18	78,06	0,06	0,58	4,62
Valores de P	<0,0001**	<0,0001**	0,2175 ^{NS}	0,8452 ^{NS}	0,907 ^{NS}	<0,0001**	0,981 ^{NS}	0,642 ^{NS}	0,023**
CV¹	0,72	2,71	56,09	38,50	35,12	8,48	13,92	15,29	6,85

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Determinação dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais e termotolerantes

Durante a etapa do tratamento em biodigestores do tipo batelada (142 dias de TRH) observou-se redução dos NMP de coliformes totais e termotolerantes, alcançando a eliminação de tais grupos de bactérias ao final do experimento (Tabela 12).

Os NMP de coliformes totais e termotolerantes, nos materiais orgânicos, no início do processo de biodigestão anaeróbia para todos os tratamentos, alcançaram valores que representam alto risco de poluição se dispostos no meio ambiente sem tratamento. Após o tratamento a relação entre afluente e efluente foi redução de 100% de NMP dos coliformes totais e termotolerantes dos efluentes, eliminando todo o poder poluente desses substratos.

Augusto (2007) avaliou o comportamento do NMP de coliformes na biodigestão anaeróbia de dejetos frescos e armazenados de galinhas poedeiras e observou que também ocorreu a eliminação total de coliformes, a partir da 12ª e 13ª semana de tratamento, contrariando os achados de Orrico Júnior et al. (2010) que em ensaio de biodigestão anaeróbia de cama de frango, encontraram $3,6 \times 10^5$ NMP de coliformes totais no abastecimento dos biodigestores e $1,1 \times 10^3$ NMP. 100mL⁻¹ no desabastecimento, ou seja, reduções de 99,7%, porém que não eliminaram o poder poluente do efluente.

Tabela 12. Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes (NMP/100 ml) e eficiência do tratamento de excretas de frangos de corte, que receberam uma dieta com probióticos e enzimas em biodigestores bateladas.

Tratamentos*	Coliformes Totais		Eficiência	Coliformes termotolerantes		Eficiência
	Afluente	Efluente		Afluente	Efluente	
T1	14x10 ³	0	100	11x10 ³	0	100
T2	7,8x10 ³	0	100	7,8x10 ³	0	100
T3	0,045x10 ³	0	100	0,045x10 ³	0	100
T4	14x10 ³	0	100	14x10 ³	0	100

*T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico.

Determinação do volume de biogás e cálculo dos potenciais de produção de biogás

Analisando os dados de produção de biogás total durante 142 dias, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$), porém quando se avaliou o potencial de produção de biogás, notou-se diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos para todas as características avaliadas de ST e SV, demonstrando que as excretas de aves que receberam a dieta contendo probiótico em consórcio com enzimas exógenas tratadas em biodigestores do tipo batelada, obtiveram maior potencial de produção de biogás por kg de ST e SV adicionados e reduzidos. No entanto para ST e SV adicionados, este tratamento só diferiu do tratamento controle. Para ST e SV reduzidos o mesmo diferiu dos tratamentos contendo somente a adição de enzima e o tratamento controle (Tabela 13).

A adição de aditivos na dieta de aves proporcionou alta produção de biogás, podendo estar relacionada a benefícios no processo de biodigestão, o que provoca um ambiente artificialmente induzido para que isso aconteça. Seria com uma etapa de pré-tratamento, fazendo hidrólise das substâncias presentes nas excretas, permitindo melhor atuação da população microbiana em uma etapa posterior de tratamento biológico.

Caetano (1991) ao trabalhar com dejetos de poedeiras verificou potencial energético de 0,28 m³/kg de ST adicionados, 0,42m³/kg de SV adicionados e 0,52 m³/kg de SV reduzidos quando se fez o tratamento em biodigestores do tipo batelada. Steil (2001) encontrou potenciais de produção de biogás em m³ por kg de ST adicionados, obtidos a partir de resíduos de aves de postura sem a utilização de inóculo, de 0,3828 m³/kg de ST. Ainda no mesmo trabalho, o autor verificou-se o potencial de produção de biogás de 0,5495 m³/kg de SV adicionado, 0,0243 m³/kg de substrato e 0,9087 m³/ kg de SV reduzidos.

O potencial de produção de biogás encontrado por Primiano (2002), quando abasteceu biodigestores com dejetos de poedeiras, com e sem inóculo, foi de respectivamente, 0,019 m³ e 0,024 m³/kg do substrato 0,315 m³ e 0,377 m³/kg ST adicionado, 0,460m³ e 0,560m³/kg SV adicionado, 0,590m³ e 1,060m³/kg SV reduzido e 0,12m³ e 0,10m³/kg de dejetos.

Tabela 13. Volume total de biogás produzido e potencial de produção de biogás para ST e SV adicionados e reduzidos de excretas de frangos de corte que receberam uma dieta contendo probióticos e enzimas, tratadas em biodigestores do tipo batelada.

Tratamento*	Volume total (m ³)	Potencial			
		ST		SV	
		Adicionados (m ³ /kg)	Reduzidos (m ³ /kg)	Adicionados (m ³ /kg)	Reduzidos (m ³ /kg)
T1	0,022	0,33 B	0,50 C	0,40 B	0,51 C
T2	0,024	0,45 A	0,72 AB	0,54 A	0,72 AB
T3	0,023	0,40 AB	0,64 BC	0,47 AB	0,63 B
T4	0,023	0,45 A	0,82 A	0,54 A	0,78 A
Valores de F	0,42	6,74	15,83	6,76	19,42
Valores de P	0,74 ^{NS}	0,0065**	0,0002**	0,0064**	<0,0001**
CV ¹	10,44	10,35	10,22	10,37	7,94

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Na Figura 2 estão apresentados os dados para a produção de biogás em 142 dias nos diferentes tratamentos, para biodigestores do tipo batelada contendo excreta de frangos de corte.

Para o tratamento controle o pico de produção ocorreu no 33º dia (0,00097 m³), no tratamento contendo somente probiótico o pico ocorreu no 26º (0,000779 m³), no tratamento contendo somente enzimas foi no 27º dia (0,000964 m³) e no tratamento contendo probiótico + enzima ocorreu no 33º dia (0,000776 m³).

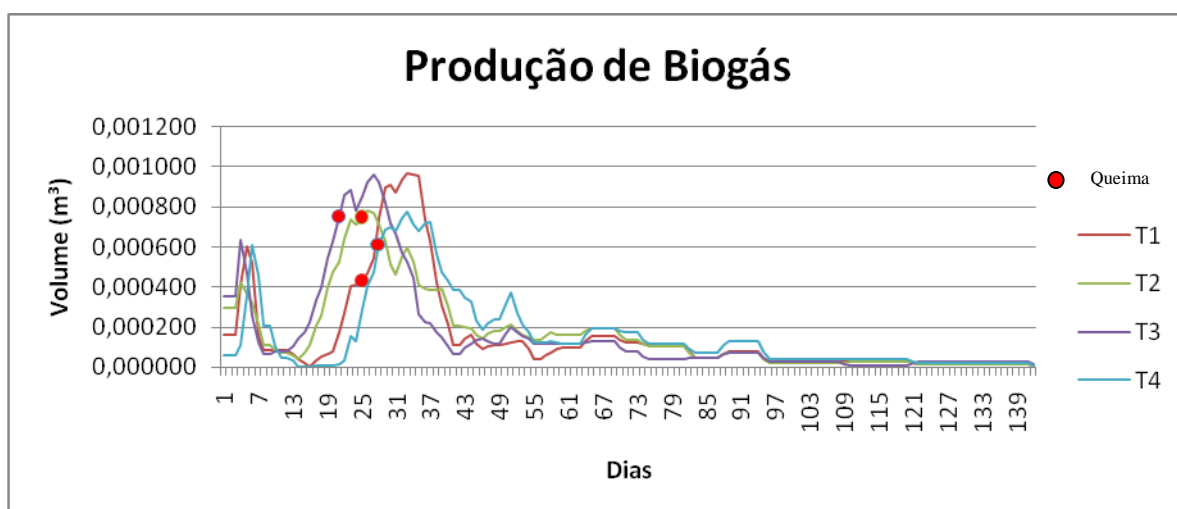


Figura 2. Produção de biogás (m³) em 142 dias.

Análise da composição do biogás produzido

Na análise de composição de gases foram feitas as médias de quantidade de metano produzida a partir do momento do teste de queima do biogás. Foi observado que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos para a produção de metano, mostrando que os tratamentos contendo adição de aditivos (probióticos, enzimas exógenas e enzimas exógenas + probiótico) tiveram a produção de metano (m³ e %) estatisticamente igual às excretas de aves que receberam a dieta controle (Tabela 14). As excretas das aves produziram quantidade satisfatório de metano em relação aos outros gases produzidos (T1-80,04; T2-80,79; T3-81,30;T4-79,29). Esses dados são de extrema importância quando se pensa em captação de gases para a produção de energia.

Silva (1998) descreve que a composição do biogás varia de 60 a 70% de metano. Vários autores verificaram valores neste intervalo, dentre eles, Miranda

(2005) observou biogás com 65,73% de metano em biodigestores de bancada operados a 35°C e tempo de retenção hidráulica de 30 dias; Orrico Junior (2008) obteve 66,55% de metano em biogás gerado em biodigestores de bancada operados com tempo de retenção hidráulica de 29 dias.

Tabela 14. Volume total de biogás e composição do biogás produzido de excretas de frangos de corte que receberam uma dieta com probiótico e enzimas tratadas em biodigestores do tipo batelada.

Tratamentos*	Volume (m ³)			Proporção (%)		
	Biogás	CH ₄	CO ₂	CH ₄	CO ₂	Outros gases
T1	0,022	0,017	0,0040	79,99	18,51	1,49
T2	0,024	0,019	0,0042	80,52	17,93	1,55
T3	0,023	0,019	0,0040	81,36	17,22	1,42
T4	0,023	0,018	0,0043	79,24	18,61	2,11
F Values	0,42	0,62	0,29	1,52	1,10	2,79
P values	0,74 ^{NS}	0,61 ^{NS}	0,83 ^{NS}	0,26 ^{NS}	0,39 ^{NS}	0,08 ^{NS}
CV¹	10,44	10,17	13,69	1,80	6,88	22,97

¹coeficiente de variação;. *T1= controle; T2= T1+500 ppm do probiótico; T3= dieta formulada com 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease e 200 ppm de xilanase; T4= T3 + 500 ppm de probiótico. **p≤0,05. ^{NS} não significativo. A-B: médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente (p≤0,05).

Na Figura 3 demonstra-se a produção de metano (m³) durante todo o período experimental (142 dias), desde o primeiro dia de coleta dos gases (antes e após a queima do biogás). Os tratamentos não apresentaram grandes variações no teor de metano presente no biogás, porém o tratamento contendo apenas enzimas exógenas apresentou produção um pouco maior de metano.

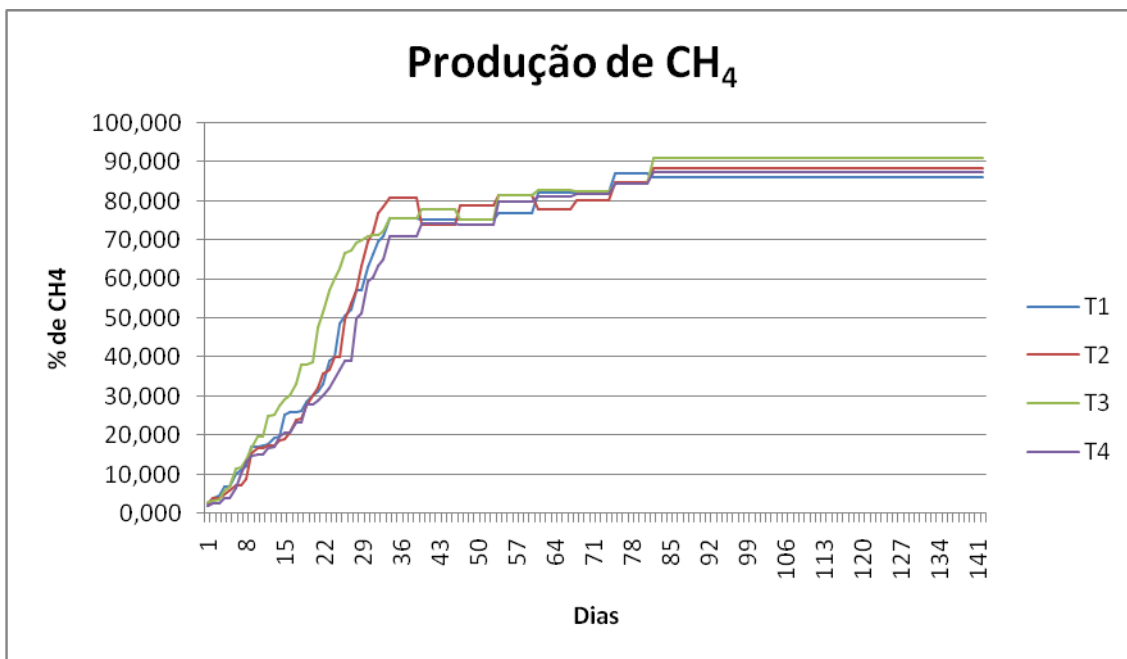


Figura 3. Distribuição do metano em 142 dias de produção em %.

5. Conclusão

A utilização de um complexo enzimático reduz a quantidade de ST e SV das excretas, e a combinação de um complexo enzimático com um probiótico aumenta o potencial de produção de biogás.

Os biodigestores bateladas são uma ótima opção para o tratamento de resíduos devido à redução do pH do substrato perto da neutralidade, redução da carga de ST, SV, N, P e K e eliminação total da carga microbológica.

6. Referências

AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C. **Official methods of analysis**. 13. ed. Washington, 1980.

APHA. American Public Health Association. **Standard methods**. 19. ed. Washington, D. C., 1995.

AUGUSTO, K. V. Z. **Caracterização quantitativa e qualitativa dos resíduos da produção de ovos: compostagem e biodigestão anaeróbia**. 2007. 131 f.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

CAETANO, L. **Proposição de um sistema modificado para quantificação de biogás.** 1985. 75 f. Dissertação (Mestrado em Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1985.

CAETANO, L. **Metodologia para estimativa da produção contínua de biogás em biodigestores modelo indiano.** 1991. 112 f. Tese (Doutorado em Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1991.

EL BOUSHY, A. R. Y.; VAN DER POEL, A. F. B. **Poultry feed from waste: processing and use.** London: Chapman & Hall, 1994. p. 438.

GARCIA, M.; LÁZARO, R.; LATORRE, M. A.; GRACIA, M. I.; MATEOS, G. G. Influence of enzyme supplementation and heat processing of Barley on digestive traits and productive performance of broilers. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 87, n. 5, p. 940-948, 2008.

GELMINI, G. A. **Defensivos agrícolas:** informações básicas e legislação. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 577 p.

LESSON, S.; SUMMERS, J. D.; DIAS, G. J. **Nutricion aviar comercial.** Bogotá: Universidad Nacional de Colômbia, 2000. 359 p.

LUCAS JR, J. **Algumas Considerações sobre o uso do estrume de suínos como substrato para três sistemas de biodigestores anaeróbios.** 1994. 137 f. Tese (Livre-Docência - Construções Rurais) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1994.

MIRANDA, A. P. **Influência da temperatura e do tempo de retenção hidráulica em biodigestores alimentados com dejetos de bovinos e suínos.** 2005. 113 f.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia/Produção Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

MOESER, A.J.; van KEMPEN, T.A.T.G. Dietary fibre level and enzyme inclusion affect nutrient digestibility and excreta characteristics in grower pigs. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 82, p. 1606-1613, 2002.

MORENG, R. E.; EVANS, J. S. **Ciência e produção de aves**: aquecimento, criação, alojamento, equipamentos e produção de aves. São Paulo: Roca, 1990. p. 143-178.

ORRICO JUNIOR, M. A. P. **Biodigestão anaeróbia e compostagem de dejetos de suínos, com e sem separação de sólidos**. 2008. 93 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

ORRICO JUNIOR, M. A. P.; ORRICO, A. C. A; LUCAS JUNIOR, J. Biodigestão anaeróbia dos resíduos da produção avícola: cama de frango e carcaças. **Eng. Agríc.**, Jaboticabal, v. 30, n. 3, p. 546-554, 2010.

PLUMSTEAD, P.W.; ROMERO-SANCHEZ, H.; MAGUIRE, R.O. Effects of phosphorus level and phytase in broiler breeder rearing and laying diets on live performance and phosphorus excretion. **Poultry Science**, v.86, p.225-231, 2007.

PRIMIANO, I. P. **Biodigestão anaeróbia de dejetos da avicultura de postura**: uso de inóculo em biodigestores batelada. 2002. 51 f. Monografia (Trabalho de graduação em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

QUADROS, D. G.; OLIVER, A. P. M.; REGIS, U.; VALLADARES, R.; SOUZA, P. H. F.; FERREIRA, E. J. Biodigestão anaeróbia de dejetos de carpinos e ovinos em

reator contínuo de PVC flexível. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 3, p. 326-332, 2010.

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

RUTHERFURD, S. M.; CHUNG, T. K.; MOUGH, P. J. The effect of microbial phytase on ileal phosphorus and amino acid digestibility in the broiler chicken. **Br. Poult. Sci.**, Abingdon, v. 43, n. 4, p. 598-606, 2002.

SANTOS, F.R.; HURBY, M.; PIERSON, E.E.M. Effect of phytase supplementation in diets on nutrient digestibility and performance in broiler chicks. **Journal of Applied Poultry Research**, v.17, n.2, p.191-201, 2008.

SAS INSTITUTE. **SAS ® user' guide**: statistics. Cary, NC, 2002.

SILVA, F. M. **Utilização do biogás como combustível**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 27., 1998, Lavras. Anais... Lavras: UFLA/SBEA, 1998. p. 96-125.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa, UFV: Imprensa Universitária, 1990. 165 p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295 p.

SILVA, Y.L.; RODRIGUES, P.B; FREITAS, R.T.F. Níveis de proteína e fósforo em rações com fitase para frangos de corte, na fase de 14 a 21 dias de idade: 2. Valores energéticos e digestibilidade de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.469-477, 2008

STEIL, L. **Avaliação do uso de inoculos na biodigestão anaeróbia de resíduos de aves de postura, frango de corte e suínos.** 2001. 127 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia – Área de Concentração em Biotecnologia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.

VIVEIROS, A.; BRENES, A.; ARIJA, I.; CENTENO, C. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 81, n. 8, p. 1172-1183, 2002.

WU, G.; LIU, Z.; BRYANT, M. M.; ROLAND D. A. Comparison of nathuphos and phyzyme as phytase sources for commercial layers fed corn-soy diet. **Poult. Sci.**, Champaign, v. 85, p. 64-69, 2006.