UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA

AVALIAÇÃO DE FONTES PROTEÍCAS ASSOCIADAS À ENZIMA PROTEASE PARA FRANGOS DE CORTE NA FASE INICIAL

Paulo Rogério Dobre

Médico Veterinário

Ilha Solteira

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA

AVALIAÇÕES DE FONTES PROTEÍCAS ASSOCIADAS À ENZIMA PROTEASE PARA FRANGOS DE CORTE NA FASE INICIAL

Paulo Rogério Dobre

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia – Unesp, Câmpus de Ilha Solteira, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos de Laurentiz

Coorientador: Prof. Dr. Alan Peres Ferraz de Melo

Ilha Solteira

2019

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

D634a

Dobre, Paulo Rogério.
Avaliação de fontes proteícas associadas à enzima protease para frangos de corte na fase inicial / Paulo Rogério Dobre. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2019
48 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Ciência e Tecnologia Animal, 2019

Orientador: Antonio Carlos de Laurentiz
Co-orientador: Alan Peres Ferraz de Melo
Inclui bibliografia

1. Desempenho. 2.Digestibilidade. 3.Energia estimada. 4.Farinha de carne e ossos. 5.Farelo de soja.

João Josué Barbosa
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Diretor Técnico
CRB 8-5642

unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AVALIAÇÕES DE FONTES PROTEÍCAS ASSOCIADA COM ENZIMA PROTEASE PARA FRANGOS DE CORTE NA FASE INICIAL.

AUTOR: PAULO ROGÉRIO DOBRE
ORIENTADOR: ANTONIO CARLOS DE LAURENTIZ
COORIENTADOR: ALAN PERES FERRAZ DE MELO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANIMAL, área: Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ANTONIO CARLOS DE LAURENTIZ
Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Profa. Dra. ROSEMEIRE DA SILVA FILARDI
Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Prof. Dr. RICARDO DE ALBUQUERQUE
Departamento de Nutrição e Produção Animal / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, Pirassununga, SP.

Ilha Solteira, 28 de fevereiro de 2019

unesp
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliações de fontes proteicas para frangos de corte na fase inicial" registrada com o CEUA- FEIS/UNESP 16/2018 sob a responsabilidade do Prof. Dr. Alan Ferraz de Melo, que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica (ou ensino)** encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6,899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS- CEUA da Faculdade de Engenharia da UNESP, Câmpus de Ilha Solteira, em reunião de 29 de outubro de 2018.

Ilha Solteira, 29 de outubro de 2018

Cristiele S. Ribeiro

Profa. Dra. Cristiéle da Silva Ribeiro

Presidente da Comissão de Ética em Uso de Animais

Dedicatória

Aos meus pais Rubens e Neide,

Com todo meu amor e gratidão, por sempre acreditarem em mim e por terem abdicado de seus sonhos para as realizações e felicidades de seus filhos, espero ter sido merecedor do esforço dedicado por vocês em todos os aspectos.

A minha amada esposa Cibele,

Companheira desde o primeiro ano de universidade, completo em 2019 20 anos de formado e sempre me incentivando em novos desafios, obrigado por todo amor, incentivo, apoio e compreensão. Nada disso teria sentido se você não existisse na minha vida.

Aos meus filhos Matheus e Lucas,

A grandeza de um ser humano não está no quanto ele sabe, mas no quanto ele tem consciência que não sabe. O destino não é frequentemente inevitável, mas uma questão de escolha. Quem faz escolha, escreve sua própria história, constrói seus próprios caminhos, siga o exemplo de seus pais.

Com muito amor e gratidão,

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus;

A toda minha família, irmãos, sobrinhos;

Ao professor Antônio Carlos de Laurentiz, pela confiança, ensinamentos, apoio e amizade;

À professora Rosemeire da Silva Filardi, pela amizade, confiança e imprescindível contribuição nos ensinamentos prestados;

Ao professor Alan Peres Ferraz de Melo, na confiança sempre demonstrada, ensinamentos, apoio e amizade;

Aos alunos da graduação Mateus e Mikael pela ajuda na condução dos experimentos;

À Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (Unesp) pela oportunidade de aperfeiçoamento profissional;

Aos amigos de mestrado, Narah, Rodrigo, Maria José, Gilmar, Luis Graúdo, Luis Gustavo, Laicia, Luciane, Josie, Gabi e todo pessoal que passou pela turma do curso de Ciência e Tecnologia Animal;

Aos funcionários do Departamento de Biologia e Zootecnia de Ilha Solteira, em especial Sidival, pela ajuda nas análises laboratoriais;

A todos os funcionários e professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Animal (Unesp).

“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo de vencer, se queremos progredir, não devemos repetir a história, mas fazer uma história nova”.

Mahatma Gandhi

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Paulo Rogério Dobre - Nascido em 15 de setembro de 1976, na cidade de Ilha Solteira, Estado de São Paulo, filho de Rubens Dobre e Euneide Aparecida Dobre, casado com Cibele Viola Garcia Dobre, pai de dois filhos Matheus Garcia Dobre e Lucas Garcia Dobre, ingressou na Universidade de Marilia em 1995, na IX turma de Medicina Veterinária. Em 2002 ingressou na Prefeitura Municipal de Ilha Solteira – SP, onde atua até os dias de hoje no Centro de Controle de Zoonoses. Em 2003 ingressou no Frigorifico Ilha Solteira LTDA, onde também atua até os dias de hoje na área de Inspeção de Produtos de Origem Animal, e em 2017 iniciou o curso no Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Animal, na UNESP – Campus de Ilha Solteira - SP sob orientação do Prof. Dr. Antonio Carlos de Laurentiz.

AVALIAÇÂO DE FONTES PROTEÍCAS ASSOCIADAS À ENZIMA PROTEASE PARA FRANGOS DE CORTE NA FASE INICIAL

RESUMO

Dois experimentos foram conduzidos no Setor de Avicultura da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Unesp), Faculdade de Engenharia do Campus de Ilha Solteira, sendo um de desempenho zootécnico na fase de na fase inicial (1 a 14 dias de idade) e um de digestibilidade na fase de 15 a 21 dias. Os experimentos foram conduzidos com o objetivo de avaliar o uso de fontes proteicas nas rações para frangos de corte na fase inicial, avaliando características de desempenho e de digestibilidade das fontes proteicas. No experimento I 390 pintos de corte machos, com um dia de idade da linhagem Cobb® ,foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (3x2), com seis tratamentos e cinco repetições de 13 aves por parcela experimental. No experimento I avaliou-se a inclusão de três fontes proteicas (farelo de soja e duas farinhas de carnes e ossos bovina – FCOB - de diferentes fornecedores) em dietas com e sem inclusão de enzima protease. Para o experimento de digestibilidade, ensaio II, foi utilizado o mesmo delineamento do experimento de desempenho, alterando somente a inclusão de mais um tratamento, dieta referência, para determinar a digestibilidade dos alimentos testes (3x2)+1, totalizando sete tratamentos e quatro repetições de 5 aves cada, totalizando 140 aves. Para os parâmetros de desempenho foram observadas diferença significativa ($p<0,05$), onde a FCOB-2 proporcionou queda no ganho de peso e consequentemente piorou a conversão alimentar. Para os tratamentos com e sem inclusão da enzima protease, não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$). No ensaio de digestibilidade das fontes proteicas, a FCOB-2, proporcionou redução dos coeficientes de digestibilidade da MS e PB e valor de EM (kcal/kg) estimada, comparada, a outra fonte de proteína de origem animal (FCOB1). A farinha de carne e ossos bovina, desde que processada corretamente é uma fonte proteica viável para ser utilizada na formulação de dietas para frangos de corte na fase inicial, e a inclusão de enzima protease não afetou os parâmetros de desempenho, entretanto, proporcionou melhor coeficiente de digestibilidade da proteína bruta das fontes proteicas.

Palavras-chave: Desempenho. Digestibilidade. Energia estimada. Farinha de carne e ossos. Farelo de soja.

EVALUATION OF PROTEIN SOURCES TO ENNZYME PROTEASE IN BROILERS IN THE INITIAL FASE.

ABSTRACT

Two experiments were carried out in the poultry sector at the “Universidade Estadual Paulista de Ilha Solteira”, being the zootechnical development in the initial fase(from 01 to 14 days of birth) and digestibility in the phase of 15 to 21 days at the phase with the purpose to evaluate the use of protein sources at the feed of poultry, broilers at the begining, to evaluate aspect of performance and digestibility from protein sources. At the experimente of 1390 male chicks, into a day born from Cobb lineage, were distributed in na entirely designeranized (2 x3), six treatments and 5 repetitions to 13 chicks per experimental plat. At the experimente it was evaluated the inclusion of three proteic (source of soybean meal and two kinds of meal: meat and bovine bone – FCOB – from different providers), on diet and six inclusion of protease enzyme. At the digestibility, essay II, it was used the same lineage from the experiment of performance replacing only the inclusion from more than one treatment, diet driven, to determine the feed digestibility (2x3) +1, add up to seven treatments and four repettion to 5 chicks each, total of 140 chicks. For the performance parameter it was noticed significant diferences (p>0,05), which the FCOB – 2 provided weight loss and then got worse food conversion, to the treatments with and without protease enzyme, there weren’t any significant diferences. In the protein sources digestibility essay, the FCOB – 2 provided reduction of digiestibility cofficients to (%) PB, (%) MS e EM (kcal/kg) estimated by comparing the two sources of animal protein. The meat meal and the bovine meal provided that it is processed correctly, it become a source of protein really viable to be used for creating a diet for broilers at the initial fase, the inclusion of Enzyme Protease didn’t affect the performance parameters, however it, offered a better digestibility coeficiente of rew protein in the protein sources.

Keywords: Performance. Digestibility. Estimated energy. Meat meal and bones. Soybean meal.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13

1.2 Objetivo geral 15

1.3 Objetivos específicos 15

2 REVISÃO DE LITERATURA 16

2.1 Enzimas 16

2.2 Enzima Protease 17

2.3 Fatores que podem afetar o uso de enzimas na avicultura 19

3 FARINHAS DE ORIGEM ANIMAL 20

3.1 Farinha de carne e ossos de bovino 20

3.2 Fatores que afetam a qualidade da farinha de carne e ossos de bovino 24

3.2.1 Umidade 24

3.2.2 Contaminação por Salmonella 24

3.2.3 Peroxidação de gorduras 24

3.2.4 Encefalopatia Espongiforme Bovina 25

3.2.5 Digestibilidade de aminoácidos e de energia 25

3.2.6 Poliaminas 26

3.2.7 Granulometria 27

3.2.8 Contaminação 27

3.2.9 Acidez 27

3.2.10 Temperatura 28

4 DESEMPENHO E DIGESTIBLIDADE DE NUTRIENTES DE FRANGOS DE CORTE NA FASE INICIAL ALIMENTADOS COM DIETAS SUPLEMENTADAS COM ENZIMA PROTEASE, CONTENDO FARINHA DE CARNE E OSSOS DE BOVINO 29

4.1 Introdução 29

4.2 Material e Métodos 30

4.2.1 Experimento I - Desempenho 30

4.2.2 Experimento II - Digestibilidade 32

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 35

6 CONCLUSÕES 42

REFERÊNCIAS 43

1 INTRODUÇÃO

Nas ultimas décadas a produção de frangos de corte passou por diversas transformações que propiciaram grandes avanços na produção, destacando-se o aperfeiçoamento da nutrição. O Brasil é o maior exportador e segundo maior produtor mundial de carne de frango, atingindo no ano de 2017 uma produção de 13 milhões de toneladas no ano de 2018 (Associação Brasileira de Proteína Animal - ABPA, 2018).

Na medida em que os custos de produção aumentam, os nutricionistas têm a necessidade de buscar novas alternativas que atendam as exigências dos animais nas suas diferentes fases de produção, e a utilização de alimentos alternativos e subprodutos da indústria são interessantes sob o ponto de vista econômico na produção animal, porém, para a formulação de rações nutricionalmente viáveis é de fundamental importância conhecer o valor nutritivo dos alimentos. Para isto deve-se determinar a composição química e a disponibilidade dos nutrientes.

Visando a redução de custo de produção das rações, as indústrias de alimentação animal foram em busca de matérias primas alternativas, e a utilização de subprodutos de abatedouros foi uma alternativa encontrada. Dentre estes subprodutos estão as farinhas de origem animal (FOA), importantes fontes de cálcio, fósforo, aminoácidos e energia.

O aproveitamento de subprodutos de origem animal na dieta de monogástricos visa não somente reduzir os custos da ração, como também ser uma fonte alternativa de proteína (CARVALHO *et al.*, 2012). As FOAs são alternativas frequentemente usadas pois asseguram vantagens nutricionais e econômicas na formulação, com tanto que se tenha assegurada a qualidade destas (BELLAVER, 2005).

As FOAs merecem avaliação detalhada de sua composição química e microbiológica para que sejam utilizadas com sucesso. Durante o processamento características nutricionais das FOAs também são alteradas, alterando assim a digestibilidade dos nutrientes, com melhora ou não da digestibilidade, dependendo do processamento utilizado.

A composição dos resíduos do abate de animais tem efeito significativo na qualidade do produto final, e um dos grandes problemas relacionados a produtos de origem animal é a variação na composição bromatológica. Esta possível variação

requer que os nutricionistas não as incluam as FOAs nas formulações das dietas sem uma prévia análise dos seus valores nutricionais (SATORRELI, 1998).

As variações na composição das FOAs podem ser decorrentes de vários aspectos, dentre eles a proporção de ossos e de tecidos utilizados nas graxarias e o tempo de cozimento do subproduto, o quais influenciam nos conteúdos de cinzas (cálcio e fósforo) e proteína, e consequentemente, de aminoácidos, além de afetar a digestibilidade dos nutrientes e a energia metabolizável, comprometendo o desempenho dos animais. Portanto esses aspectos devem ser monitorados, e a aplicação de alternativas para melhorar a digestibilidade destes ingredientes requer a aplicação de algumas tecnologias.

Dentre as tecnologias desenvolvidas para garantir a eficiência de dietas contendo FOAs, com melhoria no aproveitamento dos nutrientes, temos a adição de enzimas exógenas às dietas (TAVERNANI *et al.*, 2014).

As enzimas exógenas não possuem função nutricional direta, estas catalisam reações bioquímicas específicas, melhoram o valor nutritivo dos alimentos, equilibram as deficiências do sistema enzimático endógeno, reduz os fatores antinutricionais e aumentam a digestibilidade dos nutrientes (SEBASTIER; FISH, 1996; BEDFORD; PARTRIDGE, 2001).

A utilização de enzimas exógenas na alimentação dos frangos pode resultar em maior aproveitamento dos ingredientes usados na dieta, isso por potencializar a ação enzimática das enzimas endógenas e por melhorar a digestibilidade e disponibilidade de nutrientes para as aves, resultando em melhor desempenho (RAMOS *et al.*, 2007).

A partir das variações na composição e digestibilidade das farinhas de origem animal decorrentes do processamento, o presente projeto visa avaliar a composição bromatológica e os valores energéticos de duas amostras de farinha de carne e ossos de bovinos de diferentes fornecedores associando a enzima protease nas dietas para observar a interferência sobre as características de desempenho e de digestibilidade para frangos de corte na fase inicial.

1.2 Objetivo geral

Avaliar o efeito da utilização da farinha de carne e ossos de bovino (FCOB) associada à enzima protease na alimentação de aves de corte na fase inicial sobre a metabolizabilidade de nutrientes e desempenho zootécnico.

1.3 Objetivos específicos

- Avaliar o desempenho zootécnico (consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar) das aves alimentados com rações contendo farinha de carne e ossos de bovino - na fase de 1 a 14 dias de idade;
- Avaliar a influência da protease sobre a metabolizabilidade dos nutrientes em frangos de corte na fase de 16 a 21 dias de idade, alimentados com rações contendo farinha de carne e ossos de bovino.

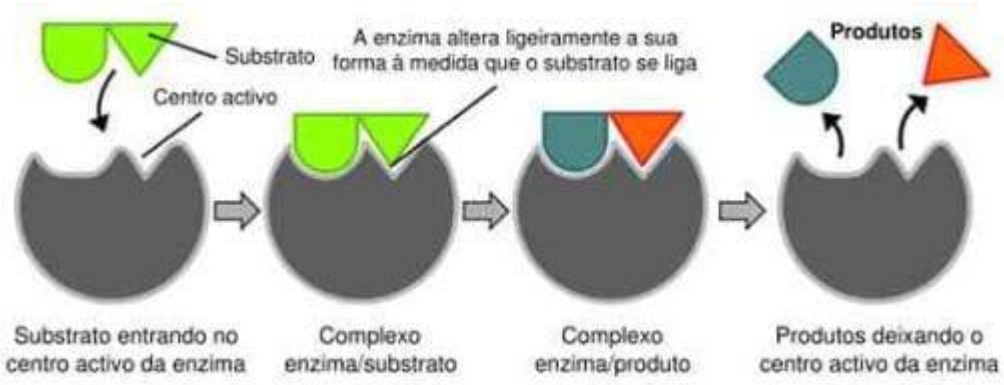
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Enzimas

Existem reações químicas que só são possíveis na presença de enzimas, pois são catalisadores biológicos que participam da decomposição de macromoléculas de gorduras, carboidratos e proteínas. Elas atuam em substratos específicos, conforme temperatura, pH e umidade em um tempo definido (DESSIMONI, 2011), têm um papel crucial na digestão, já que ajudam a degradar os componentes alimentícios. As enzimas comerciais são obtidas através da biotecnologia (fermentações), onde microrganismos são selecionados para este fim.

As enzimas são altamente específicas e cada tipo de enzima atua sobre um composto ou substrato associado, em que cada substrato se encaixa a enzima específica, de modo que os centros ativos coincidam perfeitamente, abrindo caminhos para sua transformação. Esse processo é comparado à relação entre chave e fechadura (LEHNINGER *et. al*., 2002).

Figura 3: Ilustração do substrato, da enzima, do complexo enzima-substrato e do produto.



Fonte: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/b/ba/Induced_fit_diagram_pt.svg/648px-Induced_fit_diagram_pt.svg.png. acessado em 29/10/2018.

Na nutrição dos animais, a suplementação das dietas com enzimas tem como objetivo melhorar o valor nutritivo das diferentes matérias-primas, o valor nutricional do produto final e atender às exigências do consumidor por um produto mais barato, seguro, saudável e mais favorável ao ambiente (ASPEVIK *et al.*, 2017). Aves e suínos produzem enzimas, as chamadas enzimas endógenas, porém quando não

produzem determinada enzima ou a quantidade produzida não é o suficiente para atuar na dieta ingerida, pode ser recomendada a utilização de enzimas exógenas (ALVES-CAMPOS *et al.*, 2017).

Uma enzima é definida como um aditivo contendo material enzimático processado e padronizado, formado com a finalidade de ser comercializado para uso em alimentos ou matérias primas para consumo animal. A maioria dos produtos enzimáticos utilizados na alimentação animal são extratos de fermentação preparados a partir de fungos, bactérias e leveduras sendo estes os principais produtores de enzimas, como amilases, lipases e proteases (enzimas exógenas).

No organismo, as enzimas exógenas ingeridas complementam as enzimas produzidas pelo próprio animal em quantidades insuficientes (amilases e proteases), fornecendo aos animais as enzimas que eles não conseguem sintetizar (celulases, queratinase) e eliminando os efeitos negativos de fatores antinutricionais além de reduzir a poluição ambiental pela excreção fecal de nitrogênio e fósforo (ZHANG *et al.*, 2014; MATIAS *et al.*, 2015). As enzimas exógenas aumentam a digestibilidade de moléculas complexas, especialmente em animais jovens que não têm bom desenvolvimento do perfil enzimático intestinal (SCOTTÁ *et al.*, 2016).

As aves se beneficiam mais do uso de enzimas exógenas por apresentar um sistema digestivo mais curto (MAVROMICHALIS, 2012). A adição da enzima pode melhorar o aproveitamento da energia do ingrediente assim como a digestibilidade ileal aparente de aminoácidos dos ingredientes (ROMERO *et al.*, 2013). Dessa forma, algumas pesquisas têm sido conduzidas com o intuito de verificar a eficiência das enzimas sobre a digestibilidade e metabolização de nutrientes dos ingredientes.

2.2 Enzima Protease

Proteases são hidrolases produzidas por plantas ou microrganismos que têm classificação diversificada pela diversidade de sua ação e de sua estrutura. De acordo com o ponto de clivagem na cadeia polipeptídica, as proteases ou peptidases podem ser classificadas e subdividas em exopeptidases e endopeptidases (SOUZA *et al.*, 2015). A diferença entre elas é que as endopeptidases limitam seu ataque a ligações de dentro da molécula proteica, quebrando grandes cadeias de peptídeos em segmentos de polipeptídios menores.

As proteases atuam promovendo maior digestibilidade da proteína e, como os ingredientes proteicos nas dietas de frangos têm o maior valor de custo de produção, seu melhor aproveitamento resulta diretamente na redução do custo de produção (ALVES-CAMPOS *et al.*, 2017).

Proteases representam uma classe de enzimas com importantes papéis em processos fisiológicos. Além disto, elas possuem aplicação comercial, estando entre os três maiores grupos de enzimas industriais, sendo responsáveis por 60% da venda internacional de enzimas.

Em razão da importante função que a proteína exerce no desenvolvimento animal e o custo proporcional deste nutriente na formulação de rações, atualmente o uso de proteases na nutrição avícola tem recebido considerável atenção. Embora dietas tradicionais à base de milho e de farelo de soja sejam consideradas de alta digestibilidade, elas ainda contêm uma série de complexos proteicos que podem não ser facilmente digeríveis por aves jovens, que possuem baixa produção de enzimas nessa fase da vida.

A suplementação de proteases exógenas nas dietas para animais monogástricos visa quebrar as proteínas pouco disponíveis, designadas de proteínas de armazenamento, presentes nos mais diversos ingredientes vegetais, as quais são geradas, principalmente, no desenvolvimento das sementes, e possuem enorme afinidade de se ligar ao amido, não conseguindo ser digerida pelo animal por formar complexo insolúvel na forma de quelato (BARLETTA, 2010).

A utilização de protease em dietas avícolas tem se mostrado eficiente tanto em termos técnicos, quanto econômicos, principalmente na última década, em decorrência dos altos custos dos ingredientes, assim como variabilidade na composição, qualidade e preços das farinhas de origem animal, desta forma as principais enzimas voltadas para este contexto ganharam força sendo amplamente utilizadas e pesquisadas.

O farelo de soja é a fonte de proteína mais usada na nutrição animal, contribui com cerca de 70% da proteína em dietas avícolas, porém possui fatores antinutricionais que proporcionam decréscimos da digestibilidade da proteína e da gordura e reduzem a absorção de nutrientes, principalmente de aminoácidos sulfurados. Dessa forma, enzimas com atividades de proteases são utilizadas como alternativa para melhorar a qualidade do farelo de soja e de outros ingredientes proteicos, como as farinhas de origem animal.

A adição de enzimas proteases tem sido fonte de estudos com o propósito de melhorar os índices zootécnicos dos frangos, minimizar a poluição ambiental, diminuindo a excreção fecal de nitrogênio, e reduzir os custos com a alimentação (POLGAR, 1989; DESSIMONI, 2011).

As enzimas proteases atuam degradando as proteínas complexas e reduzindo os efeitos dos fatores antinutricionais dos alimentos, tornando os nutrientes mais disponíveis para o animal, além de reduzirem a viscosidade intestinal, essas enzimas permitem um melhor aproveitamento de alguns tipos de proteínas, melhorando a absorção dos aminoácidos, aumentando a digestibilidade geral do alimento, porém é importante salientar que para uma protease ser eficiente é necessário que sua atividade biológica resista aos rigores de fabricação, à estocagem da ração e ao pH ácido do estômago (SAKOMURA *et al.*, 2014).

Nesse sentido o uso de proteases exógenas tem a finalidade de suplementar as enzimas endógenas. As proteínas pouco digestíveis podem ter seu uso potencializado pela utilização de proteases, melhorando sua digestão, pois seu mau aproveitamento pode causar maior excreção de nitrogênio, que é um nutriente caro e com potencial poluidor quando descartado de forma incorreta (LEMUCHI *et al.*, 2013; OPOKU *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2015).

2.3 Fatores que podem afetar o uso de protease na avicultura

Fatores como concentrações do substrato e da enzima, temperatura, variações do pH, umidade e presença de coenzimas podem influenciar a suplementação de enzimas nas dietas. Tipo de ingrediente também pode afetar, pois existem alguns alimentos que apresentam fatores antinutricionais. Além disso, a idade pode afetar a disponibilidade dos nutrientes pela ação da protease, sendo que em animais jovens a adição da enzima pode promover um melhor aproveitamento dos nutrientes, uma vez que o trato digestório ainda é imaturo e com produção de enzimas endógenas insuficientes (CANCELLI, 2017).

Existem ainda os fatores secundários, os quais podem afetar o consumo de ração e a quantidade de nutrientes ingeridos, o que pode favorecer ou não a ação da enzima, sendo eles: estado sanitário das aves, balanço eletrolítico, temperatura ambiental, manejo, forma física e processamento térmico das rações (DOURADO *et. al*., 2014).

3 FARINHA DE ORIGEM ANIMAL (FOA)

Farinha de origem animal (FOA) é o nome dado a todo produto originado de um processamento de subprodutos de frigoríficos que não se utilizaria para o consumo humano e seria descartado.

A utilização de farinhas de origem animal (FOA) nas rações animais desempenha um papel importante na reciclagem de nutrientes e principalmente na preservação do meio ambiente, uma vez que os resíduos por serem poluentes contribuem para problemas ambientais, portanto é de suma importância sua utilização visando os aspectos econômicos e ambientais (NUNES *et al.*, 2006 citado por PEREIRA, 2016). Entretanto, subprodutos de origem animal sempre requerem cuidados, pois esses apresentam dificuldade de padronização em função do processo produtivo e da origem dos resíduos que os compõem.

Com a evolução e o uso de novas tecnologias houve a necessidade de aumentar os níveis nutricionais das dietas na avicultura e onde antes se tinha uma baixa inclusão de farinhas hoje temos dietas avícolas que contém em suas fórmulas até 8% de inclusão (ROSTAGNO *et al.*, 2011).

Existe uma variedade de subprodutos originados da produção animal que pode ser fornecidos na alimentação na forma de farinha (carne e ossos, vísceras, sangue, ossos, penas), será citado aqui apenas a farinha de carne e ossos de bovino (FCOB) objeto de trabalho da pesquisa.

3.1 Farinha de Carne e ossos de bovino (FCOB)

A FCOB produzida em graxarias e frigoríficos é composta a partir de ossos e tecidos obtidos após a desossa completa da carcaça de bovinos e limpeza decorrentes das operações nas diversas seções; ligamentos, mucosas, fetos e placentas, orelhas e pontas de cauda, órgãos não comestíveis ou órgãos e carnes rejeitadas pela Inspeção; em seguida esses resíduos são moídos, cozidos, prensados para extração de gordura e novamente triturados (MATIAS, 2012).

A Tabela 1 mostra os percentuais de produtos, subprodutos e resíduos do abate de bovino.

Tabela 1: Percentuais de produtos, subprodutos e resíduos em relação ao animal com peso médio de 400 kg.

PRODUTOS, SUBPRODUTOS E RESIDUOS REFERENTE AO ABATE DE UM BOVINO DE 400 KG	PESO EM KG	PESO VIVO (%)
Peso Vivo	400	100
Carne desossada	155	39
Material não comestível – destinado a Graxaria (Ossos, Gordura, Cabeça, Partes condenadas, Perdas, etc.)	152	38
Couro	36	9
Vísceras Comestiveis (Lingua, Coração, Rins, Figado, etc.)	19	5
Sangue	12	3
Outros (Conteúdo estomacais e Intestinais, carnes etc.)	26	6

Fonte: Adaptado de (CETESB, 2006).

A FCOB é o subproduto de abatedouros mais utilizado na nutrição animal, sendo uma importante fonte de cálcio, fosfóro e proteína (VIEITES *et al.*, 1999), sendo também o ingrediente mais utilizado nas dietas para frangos de corte ou poedeiras comerciais, para redução dos custos nas formulações (FARIA *et al.*, 2002).

Porém, a avaliação desses alimentos faz-se necessária, pois a composição química é variável devido às etapas de processamento, bem como há constante mudança nas características dos animais devido ao melhoramento genético, o que consequentemente altera a eficiência destes em aproveitar os alimentos.

A principal finalidade de incluir a FCOB na formulação de rações é fornecer fósforo e reduzir a inclusão do fosfato bicálcico, considerado uma fonte de custo elevado (NUNES *et al.*, 2005; PERAI *et al.*, 2010; EYING *et al.*, 2011).

A FCOB deve conter no mínimo 40% de proteína, no máximo 10% de umidade e no máximo 10% de gordura, as especificações completas estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Especificações de farinhas de carne e ossos de bovino

		Classificação		
Parâmetro	Unidade	40	45	50
Umidade (máx.)	%	8	8	8
Proteina Bruta (min.)	%	40	45	50
Digestibilidade em Pepsina (1:10000) a 0,02% em HCl 0,075 N (min.)	%	30	30	30
Extrato Etéreo (min.)	%	4	8	10
Matéria Mineral (máx.)	%	45	40	35
Fósforo (min.)	%	6	5	4
Relação cálcio:fósforo (máx.)	-	2,15	2,15	2,15
Acidez (máx.)	mg NaOH/g	2	2	2
Cloreto de sódio (máx.)	%	1	1	1
Índice de Peróxido (máx.)	meq/1000 g	10	10	10
Salmonella	ausência em 20 g	-	-	-

Adaptado por Bellaver e Zanotto (2004) com base no Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal.

Durante o processamento da FCOB é proibida a mistura de pelos, cerdas, cascos, chifres, sangue, fezes e conteúdo estomacal (BRASIL, 1962).

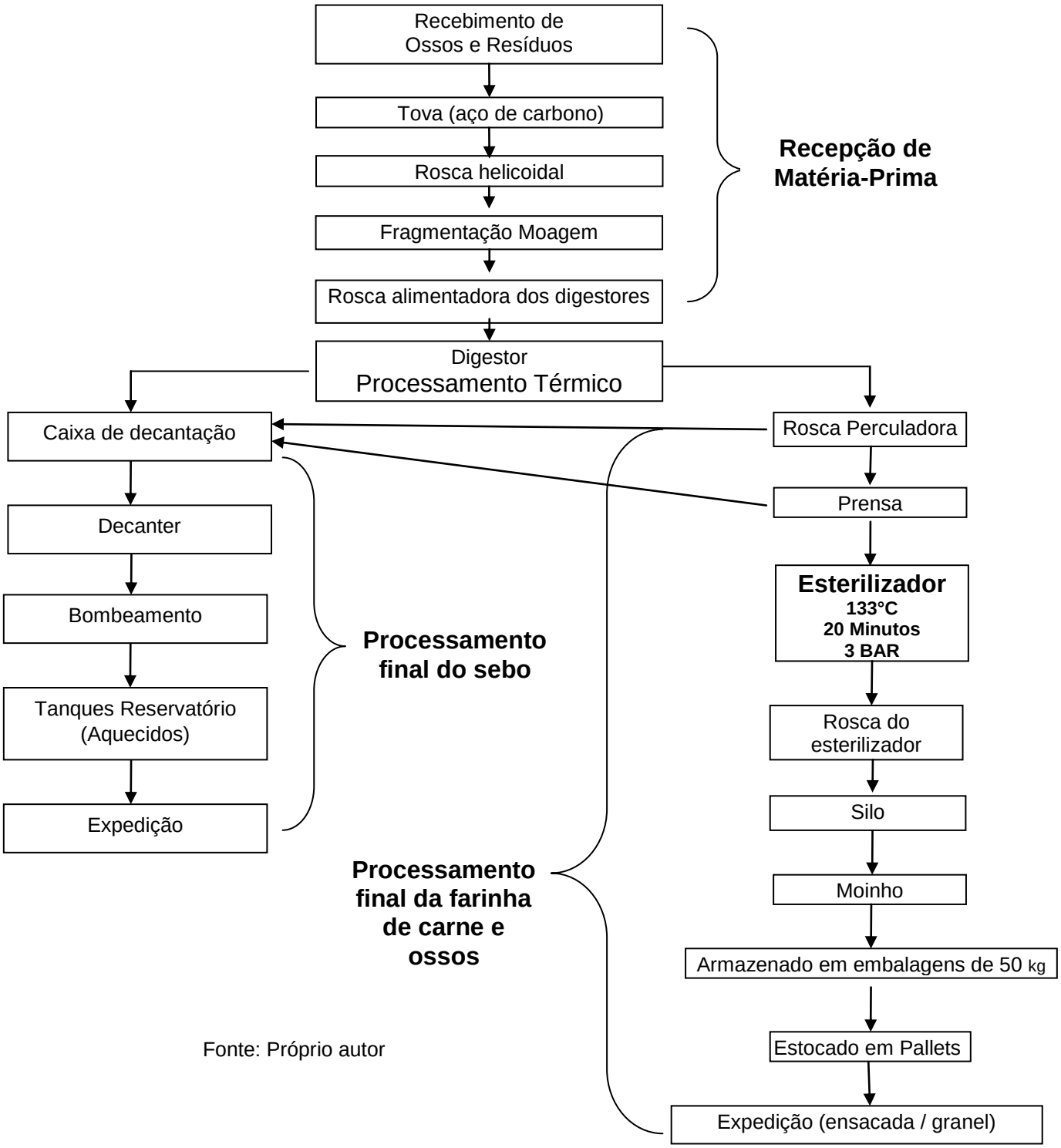
Para a obtenção da FCOB, os resíduos animais devem ser triturados de modo que não excedam 5 cm em qualquer uma de suas faces. Após a trituração esses são aquecidos até uma temperatura não inferior a 133ºC, durante pelo menos 20 minutos, a uma pressão de 3 bar, sendo posteriormente submetidos ao processo de moagem, conforme o fluxograma descrito na Figura 2.

No produto final, devem ser feitas análises periódicas para garantir ausência de *Salmonella* em 25 gramas de produto (BRASIL, 2008). Segundo o Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal (SINDIRAÇÕES, 2018), em 2017 o Brasil produziu cerca de 4,0 milhões de toneladas de farinhas de origem animal, dos quais 61,7% corresponderam à farinha de carne e ossos, desse valor, a farinha de

origem bovina representa 52,7% do total produzido. O maior mercado consumidor das farinhas de origem animal é a produção animal, seguida da indústria Pet, que utilizaram 80% e 16,5% da farinha produzida, respectivamente.

Porém a falta de uma fiscalização rigorosa, resulta ainda em fraudes e adulterações nas farinhas de carne, tais como: aplicação de calcário para reduzir a acidez, raspa de couro curtido para elevar a proteína bruta e aplicação de ureia com a mesma finalidade (CAMPESTRINI, 2005).

Figura 2. – Fluxograma de fabricação de farinha de carne e ossos de bovino



Fonte: Próprio autor

3.2 Fatores que afetam a qualidade da farinha de carne e osso de bovino

3.2.1 Umidade

Farinha de carne e ossos de bovinos que possuam umidade acima de 8% tem grande possibilidade em se decompor, acidificar e aumentar a população microbiana, porém umidade muito baixa está associada à queima do produto, que poderia estar relacionada ao desgaste de equipamento, mau funcionamento de manômetros e termômetros (BUTOLO, 2002).

3.2.2 Contaminação por Salmonella

As temperaturas de processamento em que a farinha de carne e ossos são submetidas eliminam grande parte da contaminação bacteriana. No entanto, a contaminação por microrganismos posterior à saída dos digestores é inevitável face à manipulação, transporte e estocagem. Para reduzir esse risco de contaminação as graxarias adicionam substâncias a base de formaldeído (impedem o crescimento bacteriano), porém esse procedimento pode em hipótese, reduzir a digestibilidade dos aminoácidos e da energia das farinhas (BELLAVER, 2001).

3.2.3 Peroxidação de Gorduras

As farinhas de origem animal são ricas em gorduras, por conseguinte têm facilidade em se auto oxidarem pelo início da formação de radicais livres. A oxidação é um processo auto catalítico e uma vez iniciada se desenvolve em aceleração crescente. Fatores como a temperatura, presença de enzimas, luz, e íons metálicos podem influenciar a formação de radicais livres, e para impedir essa formação de radiais livres é necessário um manejo adequado de produção e armazenamento. Substâncias antioxidantes naturais e sintéticas podem ser incorporadas para diminuir a auto oxidação dos ácidos graxos na farinha (BELLAVER, 2001).

3.2.4 Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB)

A EEB é uma enfermidade do grupo das encefalopatias espongiformes transmissíveis e conhecida também como doença da vaca louca, uma doença degenerativa fatal e transmissível do sistema nervoso central de bovinos, com longo período de incubação, caracterizada clinicamente por nervosismo, reação exagerada a estímulos externos e dificuldade de locomoção (BRASIL, 2008).

Para restringir a comercialização das FOAs aos setores de bovinocultura, seguindo a regra de outros países, com o intuito de prevenir a BEE, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) criou instruções normativas como a IN n° 15 de 2004, que proíbe em todo o território nacional a produção, comercialização e utilização de produtos destinados à alimentação de ruminantes que contenham em sua composição proteínas e gorduras de origem animal (BRASIL, 2003). Porém, a legislação brasileira não impõe barreiras que dificultem ou proíbam a utilização das FOAs para o uso na avicultura, desde que os abatedouros se adaptem às normas de produção e inspeção higiênico-sanitárias impostas pela legislação em vigor.

Apesar de não haver nenhum registro de encefalite espongiforme bovina no Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) seguiu as mesmas resoluções tomadas em outros países e criou Instruções Normativas que instituíram regras de prevenção do EEB. Alguns pontos importantes considerados são o tratamento térmico, visando a esterilização (utilizar vapor saturado direto, em temperatura não inferior a 133ºC durante 20 minutos no mínimo e pressão de 3 Bar), programa de boas práticas de fabricação (BPF), procedimentos padrão de higiene operacional e pré-operacional (PPHO), e programa de análise de perigos e pontos críticos de controle (HACCP ou APPCC) (BRASIL, 2008).

3.2.5 Digestibilidade dos aminoácidos e da energia

Existem muitas fontes de consulta sobre a composição das farinhas animais não sendo intenção citá-las, embora exista diversidade de informações, há também necessidade de contínua melhoria das estimativas com aprimoramento dos métodos de determinação da digestibilidade nas espécies. As modernas formulações de rações, que levam em consideração o conceito de proteína ideal, pressupõem para

a adequada relação entre os aminoácidos e o conhecimento dos valores de aminoácidos digestíveis.

A digestibilidade da energia e dos aminoácidos pode não seguir uma mesma tendência de digestão e por isso é importante conhecer os valores estimados separadamente, mas para as mesmas amostras. Dentro da composição nutricional das farinhas é importante ter em mente a ordem de limitação dos aminoácidos o que irá auxiliar na formulação das dietas. A variabilidade existente pode ser devida a vários efeitos entre os quais, o tamanho das partículas, os níveis de substituição na ração referência, as metodologias para estimar a digestibilidade-biodisponibilidade, a origem e composição das farinhas e ao processamento (BELLAVER, 2010).

Diversos fatores podem afetar os valores de energia metabolizável dos alimentos, entre eles o tipo de processamento, a idade das aves e os níveis de inclusão do ingrediente na dieta (VIEITES, 1999).

Por desconhecimento ou por decorrência de problemas no sistema de extração de gordura, é comum no processamento que a temperatura se eleve muito (acima de 120ºC) por tempo desnecessariamente longo, alterando a qualidade do produto e, reduzindo a digestibilidade de aminoácidos (BUTOLO, 2002).

A exatidão e a precisão na estimativa dos valores de energia metabolizável são essenciais para maximizar o desempenho das aves e proporcionar melhor ganho de peso e eficiência alimentar (DALE, 1992).

3.2.6 Poliaminas (Aminas Biogênicas)

As proteínas animais decompõem-se facilmente para substâncias conhecidas como aminas biogênicas (AB). O resíduo dessas aminas biogênicas pode indicar a decomposição da amostra (KHAJAREN ; KHAJAREN,1998).

As poliaminas (putrescina, espermidina e espermina) estão presentes em diferentes concentrações nos alimentos vegetais e animais e parecem ser a fonte principal de poliaminas para o homem e animais. A absorção das poliaminas no intestino é dependente das enzimas catabólicas presentes no tecido intestinal e têm sido apontadas como substâncias que causam toxicose quando ingeridas em níveis tóxicos para os animais. De acordo com a literatura, fica claro que o efeito depressivo no crescimento dos animais devido à presença de aminas biogênicas é

dependente do peso molecular, da carga catiônica bem como, das concentrações de aminas biogênicas existentes na dieta (BELLAVER, 2010).

3.2.7 Granulometria

Farinhas que possuem alto nível residual de gordura são produtos de difícil moagem, já na composição das FCOB os ossos entram em quantidades variáveis que são de difícil trituração, e pedaços maiores devem ir para remoagem tornando a manutenção da granulometria adequada. A textura ideal para FCOB seria sem retenção em peneira Tyler 6 (3,36 mm), no máximo 3% de retenção na Tyler 8 (2,38 mm) e no máximo 10 % de retenção na peneira Tyler 10 (1,68 mm) (BUTOLO, 2002).

O tamanho das partículas dos alimentos destinados a fabricação de rações pode influenciar a digestibilidade dos nutrientes e, consequentemente, a maximização da resposta do animal (ZANOTTO ; BELLAVER, 1996).

3.2.8 Contaminação

Cascos, chifres, sangue, pelos, sal, couro e resíduos estomacais ou intestinais, devem ser minimizadas em função da definição de cada produto produzido e manutenção dos padrões de qualidade e repetibilidade. Quase sempre existe um pouco desses contaminantes, mas é importante manter o nível total baixo (BUTOLO, 2002).

3.2.9 Acidez

Durante o processamento e armazenamento dos produtos de origem animal, é possível que ocorram algumas alterações químicas na estrutura dos lipídeos, sendo a rancidez uma das mais importantes, pois afeta diretamente a aceitação do alimento por parte dos animais. A determinação da acidez pode fornecer um dado importante na avaliação do estado de conservação da farinha. Um processo de decomposição por exemplo pode ser ocasionado por hidrólise, oxidação ou fermentação, levando sempre a uma alteração da concentração dos íons hidrogênio (FERNANDES, 2016).

A enzima lipase é produzida por bactérias, assim acidez elevada quase sempre está associada à população bacteriana também elevada. O padrão para acidez é de no máximo 4 mg de NaOH/g de amostra (ideal: 2 a 2,5mg de NaOH/g) (BELLAVER, 2001).

3.2.10 Temperatura

A alta temperatura (acima de 120°C) ou um tempo excessivo do subproduto dentro do digestor, em razão de problemas no sistema de extração de gordura por longo tempo, irá reduzir a disponibilidade de aminoácidos (BUTOLO, 2002).

4 DESEMPENHO E DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES DE FRANGOS DE CORTE NA FASE INICIAL ALIMENTADOS COM DIETAS SUPLEMENTADAS COM ENZIMA PROTEASE, CONTENDO FARINHA DE CARNE E OSSOS DE BOVINO.

4.1 Introdução

Avanços tecnológicos e científicos ocorreram nas últimas décadas na avicultura, tornando-a mundialmente um dos segmentos mais desenvolvidos da agropecuária. Estes avanços na produção avícola trazem consigo a integração do melhoramento genético, nutrição, sanidade e manejo. Na área da nutrição, muitas pesquisas são realizadas na busca de alternativas que possibilitem a formulação de rações mais eficientes e econômicas.

No Brasil as rações são formuladas quase que exclusivamente (cerca de 90%) a base de ingredientes de origem vegetal (farelo de soja e milho), no entanto as indústrias estão em busca de matérias primas alternativas que possam substituir a base tradicional das dietas por diferentes fontes de nutrientes buscando assim formulações de rações mais econômicas e eficientes (CARVALHO *et. al.,* 2009).

Além do milho e do farelo de soja, a maioria dos alimentos utilizados nas dietas contém fatores antinutricionais que pioram a qualidade do alimento e dificultam a digestibilidade dos nutrientes por parte dos frangos. Com ajuda da tecnologia, enzimas exógenas são produzidas como fontes alternativas para a alimentação animal, tendo como benefícios a manutenção da qualidade dos alimentos, melhora na digestibilidade dos nutrientes, redução da umidade das excretas e eliminação em parte ou total dos fatores antinutricionais dos alimentos utilizados na alimentação de frangos (LIMA *et. al.*, 2007).

Entre as enzimas exógenas, as proteases têm se destacado por atuar promovendo uma maior digestibilidade da proteína dos ingredientes usados nas rações de frangos, resultando diretamente em redução de custo de produção, além da importante função que têm no desenvolvimento animal. A utilização de proteases nas rações avícolas é justificada pela oportunidade de aperfeiçoar o aproveitamento dos nutrientes presentes nos alimentos (FORTES, 2014).

O presente trabalho teve por objetivo, avaliar o efeito da utilização dos ingredientes farelo de soja e farinha de carne e ossos de bovino (FCOB) associada a enzima protease na alimentação de aves de corte na fase inicial sobre metabolizabilidade de nutrientes e desempenho zootécnico.

4.2 Material e Métodos

Considerações Gerais

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – Unesp. Foram utilizados 390 pintos de corte com um dia de idade, machos, da linhagem comercial Cobb®, vacinados contra doença de Marek no incubatório, sendo essas aves alojadas em gaiolas de arame galvanizado com divisões de 0,90 x 0,90 x 0,45m (comprimento x largura x altura), denominadas de baterias. O período experimental foi de 0 a 21 dias.

Todo o procedimento utilizado na condução do experimento foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (***CEUA***), da FEIS – UNESP – Ilha Solteira e aprovado sob parecer 16/2018.

Para o manejo foram adotados os métodos recomendados pelo manual da linhagem Cobb®, sendo o programa de luz contínuo e o fornecimento de água e ração *ad libitum* durante todo o período experimental. O aquecimento inicial foi realizado com o auxílio de lâmpadas incandescentes de 100 watts.

4.2.1 *Experimento I – Desempenho*

Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado , em um esquema fatorial 3x2 (3 fontes de proteínas, e ausência e presença da enzima protease), constituindo-se em seis tratamentos com cinco repetições de 13 aves cada, totalizando 30 parcelas em um total de 390 pintos de corte, machos, com um dia de idade, sendo o período experimental de 1 a 14 dias de idade. A enzima utilizada foi a protease e as fontes de proteínas foram farelos de soja, farinha de carne e ossos bovina FCOB1 e farinha de carne e ossos bovina FCOB2, sendo as farinhas de fornecedores distintos. Os tratamentos utilizados para a avaliação de desempenho zootécnico foram:

T1 – farelo de soja

T2 – farelo de soja com enzima protease – 0,02%

T3 – farinha de carne e ossos bovina 1 (FCOB 1) – 7,5%

T4 – farinha FCOB 1 com enzima protease – 0,02%

T5 – farinha de carne e ossos bovina 2 (FCOB 2) – 7,5%

T6 – farinha FCOB 2 com enzima protease – 0,02%

As dietas experimentais (Tabela 3) foram formuladas seguindo as recomendações de Rostagno *et al.* (2017). A taxa de inclusão da enzima protease, foi de 0,02 % descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Ingredientes utilizados e composição nutricional das rações experimentais, na fase inicial de 1 a 14 dias.

INGREDIENTES	Rações Experimentais Fontes proteicas	
	Farelo de soja	Farinha de carne
Milho grão	58,35	62,87
Farelo de soja 46%	35,60	27,27
Farinha de carne e ossos**	0,00	7,50
Calcário	0,83	0,20
Fosfato Bicálcico	1,81	0,00
Óleo soja	1,89	0,65
Sal comum	0,42	0,34
Suplemento m/v*	0,600	0,600
Dl-Metionina	0,254	0,262
L-lisina	0,186	0,248
Porção variável***	0,060	0,060
TOTAL	**100**	**100**
Composição calculada		
EM Mcal/kg ração	3,00	3,00
PB (%)	21,00	21,00
Cálcio (%)	0,82	0,82
Fósforo disponível (%)	0,40	0,40
Fósforo total (%)	0,63	0,63
Gordura (%)	6,41	5,74
Lisina digest. (%)	1,17	1,17
Metionina digest. (%)	0,46	0,46

***Suplemento mineral e vitamínico, níveis de nutrientes por quilograma de ração:** Vit. A 10.020 UI, Vit.D_3 2.010 UI, Vit. E 15 mg, Vit. K_3 2,50 mg, Vit. B_1 1,5 mg, Vit. B_2 5,01 mg, B_6 1,5 mg, Vit. B_{12} 12 mcg, Ácido Fólico 0,6 mg, Biotina 0,05 mg, Niacina 35 mg, Pantotenato de Cálcio 11,22 mg, Cobre 6 mg, Cobalto 0,10 mg, Iodo 1,02 mg, Ferro 50 mg, Manganês 65 mg, Zinco 45 mg, Selênio 0,21 mg, Cloreto de Colina (50%) 700 mg, Coccidicida 80 mg, Melhorador de desempenho 80 mg, Antioxidante 12 mg e Veículo (52,8%).

** Foram utilizadas duas fontes de farinha de carne e ossos bovina – denominada FCOB1 e FCOB2 – diferentes fornecedores.

*** Porção variável – entre inclusão de enzima protease, quando necessário e inerte (areia lavada)

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os dados de desempenho zootécnico foram obtidos semanalmente (1 a 7 e 8 a 14 dias) e para todo o período experimental (1 a 14 dias), sendo as variáveis de desempenho no ensaio: consumo de ração (CR), ganho de peso vivo (GP), conversão alimentar (CA).

Os dados foram submetidos à análise de variância e quando houve efeito significativo dos fatores avaliados as médias foram comparadas pelo teste de SNK a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR 5.1 (2011).

4.2.2 *Ensaio de digestibilidade - Experimento II*

O ensaio de digestibilidade teve duração de oito dias, sendo quatro dias de adaptação e quatro dias de coleta, sendo essa realizada pelo método tradicional de coleta total das excretas. Para o ensaio de digestibilidade foram utilizados 140 frangos de corte (machos) da linhagem comercial Cobb®, tendo as aves 14 dias de idade e 21 dias no final do ensaio, já a coleta das excretas foram realizadas com 18 e 21 dias de idade, estes foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em um esquema fatorial (3x2) + 1, 3 fontes de proteicas e 2 níveis de inclusão de enzima (sem e com enzima protease) e mais um tratamento, a dieta referência, para determinar a digestibilidade dos alimentos testes, portanto 7 tratamentos com 4 repetições de 5 aves cada, totalizando 28 parcelas.

Os tratamentos utilizados para o ensaio de digestibilidade foram:

T1 – Ração Referência 100%

T2 – 60% Ração referência + 40% Alimento Teste Farelo de soja

T3 – 60% R. referência + 40% Al. Teste Farelo de soja + enzima

T4 – 60% R. referência + 40% Al. Teste + farinha de carne 1 (FCOB1)

T5 – 60% R. referência + 40% Al. Teste + farinha de carne 1 (FCOB1) + enzima

T6 – 60% R. referência + 40% Al. Teste + farinha de carne 2 (FCOB2)

T7 – 60% R. referência + 40% Al. Teste + farinha de carne 2 (FCOB2) + enzima

Para determinar o início e o final da coleta, foi definido o horário de início e final de coleta no intervalo de 96 horas, com um intervalo de 12 horas entre cada coleta da excreta, que baseia-se no fato de que parte das excretas que estavam no trato digestivo, no início, são compensadas pelas perdas no final da coleta (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016). O intervalo entre as coletas foi de 12 horas, sendo as excretas, após coletadas, acondicionadas em sacos plásticos devidamente

identificados por repetição e tratamento e congelados a -20^{o}C. No final do período experimental foi determinado por repetição, a quantidade de ração consumida e a quantidade total de excretas produzidas.

As aves foram alojadas em baterias adaptadas para o ensaio de metabolismo, onde o fornecimento de água e ração foi à vontade, fornecendo ração três vezes ao dia para evitar perdas de ração e possível contaminação das bandejas com excretas.

Tabela 4 – Formulação da dieta referência utilizada no ensaio II

Ingrediente	Quantidade (%)
Milho	61,950
Farelo de soja	34,380
Fosfato bicálcico	1,648
Calcário calcítico	0,840
Sal comum	0,448
Suplemento mineral/vitamínico*	0,600
DL-Metionina – 98%	0,134
NUTRIENTES	
Cálcio (%)	0,860
Energ. Met. Aves (kcal/kg)	2,900
Fósforo Disponível (%)	0,420
Fósforo Total (%)	0,657
Lisina Total (%)	1,111
Metionina total (%)	0,462
Proteína bruta (%)	21,000

***Suplemento mineral e vitamínico, níveis de nutrientes por quilograma de ração:** Vit. A 10.020 UI, Vit.D_3 2.010 UI, Vit. E 15 mg, Vit. K_3 2,50 mg, Vit. B_1 1,5 mg, Vit. B_2 5,01 mg, B_6 1,5 mg, Vit. B_{12} 12 mcg, Ácido Fólico 0,6 mg, Biotina 0,05 mg, Niacina 35 mg, Pantotenato de Cálcio 11,22 mg, Cobre 6 mg, Cobalto 0,10 mg, Iodo 1,02 mg, Ferro 50 mg, Manganês 65 mg, Zinco 45 mg, Selênio 0,21 mg, Cloreto de Colina (50%) 700 mg, Coccidicida 80 mg, Melhorador de desempenho 80 mg, Antioxidante 12 mg e Veículo (52,8%).

Para determinar os teores de matéria seca (%), proteína bruta (%), extrato etéreo (%) e cinzas (%) e EM (%) estimada pela equação de Rostagno *et al.* (2011), no final do período de coleta as amostras foram homogeneizadas e foram coletadas amostras representativas por parcela, sendo estas enviadas ao Laboratório de Bromatologia do Departamento de Biologia e Zootecnia da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Unesp, Campus de Ilha Solteira. As análises de laboratório foram realizadas de acordo com as metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002).

Após a determinação dos valores de Weende da ração referência, alimentos testes e das excretas, foram calculados os coeficientes de digestibilidades de proteína bruta, extrato etéreo e matéria seca utilizando a fórmula descrita por Sakomura e Rostagno (2016), fórmula para proteína digestível aparente da ração referência e do alimento teste:

PBD ração ref = ((PBing – PB excretada)x100)/MS ing

PBD alimento teste = PBD ração ref + (PBD teste – PBD ref) / g alimento / g ração

Coeficiente de digestibilidade (%) foi calculado: CD = (PBD alimento (%) * 100)/PB alimento (%)

Os valores de energia bruta e energia metabolizável foram estimados pelas equações:

Andriquetto *et al.* (1986) - EB= PB*5,65+EE*9,40+FB*4,15+ENN*4,15

Rostagno *et al.* (2011) - Equação para alimentos de origem animal

EM aves = 4,31*PBd + 9,29*EEd

Equação para alimentos de origem vegetal

EM aves = PBd + EEd + ENNd

Os dados foram submetidos à análise de variância e quando houve efeito significativo dos fatores, as médias foram comparadas pelo teste de SNK a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR 5.1 (2011).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ensaio de Desempenho

Para os parâmetros de desempenho, avaliados na fase de 1 a 7 dias de idade (Tabela 5) observa-se que não ocorreu interação entre os fatores fonte de PB e efeito da inclusão da enzima (P>0,05) para consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar. Entretanto as fontes proteicas influenciaram (P<0,05) a conversão alimentar, sendo a FCOB-2 a que determinou a pior conversão em relação ao farelo de soja e à FCOB-1.

O fato da FCOB-2 ter determinado pior CA pode ser decorrente variações no processamento dessa farinha, como maior proporção de ossos e de tecidos ou tempo de cozimento. A maior proporção de ossos influencia nos teores de minerais (cálcio e fósforo) e proteína, enquanto o tempo de cozimento afeta a digestibilidade dos nutrientes e o valor de energia metabolizável, comprometendo assim o desempenho do animal (BUTOLO, 2002).

Tabela 5. Médias e resumo da análise de variância dos dados de desempenho na fase de 1 a 7 dias de idade

	Consumo de ração			Ganho de peso			Conversão alimentar		
	CR (g)			GP (g)			CA		
	1 a 7	8 a 14	1 a 14	1 a 7	8 a 14	1 a 14	1 a 7	8 a 14	1 a 14
Fontes proteicas									
Farelo soja	144,28	365,21	509,49	140,07	302,46 A	442,53 A	1,031 B	1,208 B	1,151 B
FCOB-1	144,68	365,69	510,38	140,54	300,82 A	441,38 A	1,032 B	1,216 B	1,156 B
FCOB-2	146,01	362,66	508,69	136,23	283,47 B	419,71 B	1,073 A	1,279 A	1,212 A
Níveis de Protease									
Sem	144,32	367,39	511,72	136,63	297,78	434,41	1,058	1,235	1,1179
Com	145,66	361,66	507,32	141,27	293,39	434,66	1,032	1,233	1,168
Níveis de significância									
Fontes proteicas	0,711	0,899	0,980	0,322	0,0001	0,0001	0,030	0,009	0,0001
Enzima protease	0,462	0,328	0,526	0,076	0,123	0,946	0,068	0,893	0,386
Fontes * Enzima	0,330	0,309	0,297	0,132	0,408	0,394	0,362	0,072	0,159
CV (%)	3,37	4,31	3,68	4,93	2,55	2,30	3,56	4,16	3,02

Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de SNK (0,05).

Para os níveis de protease, não foram observadas diferenças significativas (p>0,05) para os parâmetros avaliados na fase de 1 a 7 dias de idade. Esses mesmos resultados foram encontrados por Matias (2015), ao avaliar a inclusão de protease na alimentação de frangos de corte de 1 a 38 dias. O autor não encontrou efeito da adição de enzima sobre o ganho de peso e a conversão alimentar. Resultados diferentes foram encontrados por Carvalho *et al.* (2018), onde os frangos que receberam a enzima protease nessa fase apresentaram um menor consumo de ração e uma melhor conversão alimentar.

Na Tabela 5 são apresentados ainda os dados de desempenho dos frangos no período de 7 a 14 dias de idade. Semelhante ao ocorrido na fase de 1 a 7 dias não ocorreu interação significativa (p>0,05) entre os fatores avaliados ou efeito da inclusão da enzima protease para nenhum dos parâmetros de desempenho, mas as fontes de proteínas ocasionaram efeito (p<0,01) sobre o ganho de peso e conversão alimentar, embora não tenham influenciado (p>0,05) o consumo de ração.

Os frangos que foram alimentados com a FCOB-2 apresentaram menor ganho de peso (p<0,05) e uma pior conversão alimentar (p<0,05), esta variação pode ser atribuída as falhas durante o processamento da farinha de carne, sendo essas desgastes dos equipamento ou erro humano no gerenciamento das etapas. Outro fator que também pode interferir na digestibilidade e portanto no desempenho do animal é a granumoletria das FCOB (ZANOTTO ; BELLAVER 1996).

Nos estudos de Nelson *et al.* (1989), Junqueira *et al.* (1992) e Sartorelli (1998) a incorporação de FCOB na fase inicial de criação de frango de corte não interferiu no ganho de peso e CA, resultado oposto aos do presente estudo para o caso de uma das farinhas avaliadas, pois a FCOB-2 comprometeu o GP e a CA em relação ao farelo de soja e a FCOB-1. Entretanto, Junqueira *et al.*, (1992) e Satorelli (1998) também verificaram CR semelhantes entre dietas iniciais com e sem a inclusão de FCOB, o que foi constatado no presente estudo.

Considerando-se o desempenho na fase de 1 a 14 dias (Tabela 5) os frangos alimentados com a FCOB-2 também obtiveram os piores resultados para ganho de peso e conversão alimentar, diferindo significativamente (p<0,05) das outras fontes proteicas. Já os níveis de proteases não influenciaram significativamente (p>0,05), nenhum dos parâmetros de desempenho avaliados.

Essa variação nos resultados de GP e CA para as fontes proteicas, são decorrentes de possíveis alterações tanto na quantidade como na qualidade dos

nutrientes contidos na FCOB-2 utilizada. Parsons *et al.*, (1997) avaliaram 16 amostras de FCOB e encontraram diferenças substanciais na qualidade da proteína entre as amostras. Da mesma forma, Wang e Parsons (1998) encontraram grande influência da temperatura e tipo de processamento sobre a digestibilidade dos aminoácidos das FCOB.

Ensaio de Digestibilidade

Os valores da composição química (%) e a energia bruta kcal/kg (calculada) para as fontes proteicas são apresentadas na Tabela 6 (com base na matéria natural).

Tabela 6 - Valores de composição química (%) e energia bruta (kcal/kg) das diferentes fontes proteicas (na matéria natural).

Alimentos	Matéria seca (%)	Proteína bruta (%)	Extrato etéreo (%)	Cinzas (%)	Energia bruta kcal/kg
Farelo soja	91,17	46,17	0,65	6,41	3971
FCOB 1	87,66	43,17	10,67	30,09	3175*
FCOB 2	89,19	43,15	9,82	32,29	3094*
Rostagno	93,27	43,50	12,44	36,13	3490

*Equação Andriquetto *et al.* (1986) para calcular EB= PB*5,65+EE*9,40+FB*4,15+ENN*4,15

As variações na composição química das FCOB ocorreram provavelmente em função das diferenças nas proporções das partes descartadas introduzidas no processo e principalmente diferenças nos métodos de processamento utilizados nos abatedouros (BUTOLO, 2002).

Satorelli (1998) atribui variações na composição da FCOB pela falta de padronização dos equipamentos e das matérias primas utilizadas, o autor também salientou as diferenças entre os valores de EB e justificou a variação pelos diferentes valores de PB e EE entre as amostras, porém no presente estudo apenas o teor de EE variou entre as FCOB utilizadas, o que contribuiu para menor valor de EM da FCOB-2.

Na tabela 8 são apresentados resultados de farinha de carne e ossos, citadas por Rostagno *et al.* (2011) e os obtidos no presente estudo.

Os valores de MS obtidos no presente estudo são inferiores aos de Rostagno *et al.*, 2017, provavelmente devido ao mau processamento ou desgaste de equipamentos (termômetros/manômetros), refletindo em produtos com maior umidade.

A porcentagem PB foi condizente com as demais tabelas e não houve variação considerável, isso provavelmente se deve ao fato de a matéria prima ser de boa qualidade e não possuir restos de diferentes tipos de animais em sua composição. O conhecimento da concentração de proteína bruta em farinhas de carne e ossos é de suma importância, pois uma das principais razões que levam a inclusão deste alimento nas rações é seu conteúdo proteico (VIETE, 1999).

Já o valor encontrado para EE foi inferior aos das tabelas que comparamos, provavelmente devido ao mau processamento (temperatura elevada por um período de tempo excessivo ou desgaste de equipamento). Mesmo assim os valores se enquadram nas exigências do MAPA para o EE que é de no máximo 12%.

Segundo Bellaver e Zanotto (2004), a gordura representa entre 8% e 16% da composição de uma farinha de carne e ossos e Butolo (2002) diz que as condições de processamento é que determinam a variação de quantidade de gordura. Para Andriguetto *et al.*, (1986), quanto maior for a porcentagem de gordura, menor será a de proteína.

As cinzas (MM) das amostras da FCOB-1 e FCOB-2 estão divergindo do valor de Rostagno *et al*, (2017). A quantidade de matéria mineral aumenta de acordo com a quantidade de ossos em sua fabricação, e segundo Dale (1998), a concentração de matéria mineral é inversamente proporcional a quantidade de proteína das farinhas de carne e ossos. Essa situação não pode ser observada uma vez que os valores estavam dentro do teor permitido pelo MAPA, que é no máximo 40%.

Os valores de EB obtidos para as farinhas avaliadas no estudo apresentam inferiores aos valores de tabelas, isso em razão das diferenças entre os valores de EE, possivelmente por uma má extração da gordura da matéria prima, sendo assim quanto maior for o valor do EE maior será a EB presente no ingrediente.

Considerando então a variação, principalmente dos subprodutos de origem animal e vegetal que existem nas tabelas nutricionais, uma alternativa que vem sendo desenvolvida por vários pesquisadores é a determinação de equações de predição para estimar o conteúdo de energia dos ingredientes com base na composição química dos alimentos, isto ocorre porque, na determinação da energia

metabolizável dos alimentos, são necessários ensaios com animais o que os tornam difíceis de serem executadas pela indústria.

Os resultados do ensaio metabólico (Tabela 7) evidenciam que não ocorreu efeito da interação entre fontes de PB e presença ou ausência da enzima protease. Por outro lado as fontes proteicas influenciaram os coeficientes de digestibilidade da MS e PB ($p<0,01$) e o valor estimado de energia metabolizável ($p>0,05$), enquanto a presença/ausência da enzima afetou ($p<0,01$) apenas o coeficiente de digestibilidade da PB.

Para os coeficientes de digestibilidade da MS e da PB os melhores resultados foram constatados para a FCOB-1 ($p<0,05$). O fato da FCOB-2 apresentar menor ($p<0,05$) coeficiente de digestibilidade, tanto da MS como da PB, em relação a FCOB-1, deve estar relacionado a problemas no processamento (temperatura, pressão, tempo) (BUTOLO, 2002).

O menor coeficiente de digestibilidade da PB da FCOB-2 justifica o menor ($p<0,05$) valor de EM da mesma, uma vez que aparentemente não ocorreu diminuição na digestibilidade do EE. Porém cabe destacar que o teor de EE da FCOB-2 foi inferior ao da FCOB-1 (Tabela 6). Segundo Scottá *et al.* (2016), os valores de energia metabolizável dos alimentos podem variar de acordo com a metodologia utilizada, espécie de ave, idade das aves, processamento, granulometria da ração, nível de inclusão do alimento testado, sexo das aves e adição de enzimas exógenas.

Para o CDMS não houve diferença significativa ($p<0,05$) para as dietas com ou sem inclusão da enzima protease, esses mesmos resultados foram encontrados por Olukosi *et al.*, (2015).

O uso da enzima protease nas dietas determinou melhoria significativa ($p<0,05$) apenas no CDPB, o que confirma os resultados encontrados por Schone *et al.*, (2017) e Freitas *et al.* (2011), onde a inclusão da protease promoveu aumento na digestibilidade e solubilidade das proteínas.

O resultado de CDEE foi semelhante ao encontrado por Matias *et al.* (2015), que não observaram melhora da digestibilidade do extrato etéreo com a utilização da enzima protease, e nem nas diferentes fontes proteicas.

Tabela 7. Médias e resumo da análise de variância dos dados de coeficientes de digestibilidade na fase de 18 a 21 dias de idade

	CD MS (%)	CD EE (%)	CD PB (%)	EM kcal/kg*
	Fontes proteicas			
Farelo soja	73,40 B	69,71	71,61 C	2254 B
FCOB-1	77,53 A	71,90	87,78 A	2434 A
FCOB-2	71,01 B	71,01	77,44 B	2296 B
	Níveis de Protease			
Sem	72,52	68,61	76,20 B	2307
Com	75,44	72,60	81,69 A	2349
	Níveis de significância			
Fontes proteicas	0,000	0,543	0,006	0,043
Enzima protease	0,013	0,091	0,058	0,160
Fontes * Enzima	0,478	0,477	0,839	0,486
CV (%)	9,99	7,74	8,05	2,98

Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de SNK (0,05). * valores estimado por equações Rostagno *et al.* (2011)

6 CONCLUSÕES

A farinha de carne e ossos bovina, desde que processada corretamente é uma fonte proteica viável para ser utilizada na formulação de dietas para frangos de corte na fase inicial, e a inclusão de enzima protease não afeta os parâmetros de desempenho, entretanto, proporcionou melhor coeficiente de digestibilidade da proteína bruta das fontes proteicas.

REFERÊNCIAS

ABPA-ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório anual 2018**. Disponível em: http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf. Acesso em: 05 dez. 2018.

ALVES-CAMPOS, C. F.; RODRIGUÊS, K. F.; VAZ, R. G. M. V. *et al.* Enzimas fúngicas em dietas com alimentos alternativos para frangos de crescimento lento. **Revista Desafios**, Palmas, v. 4, p. 35-53, 2017.

ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARDI, I. *et al.* **Nutrição animal**: as bases e os fundamentos da nutrição animal - os alimentos. São Paulo: Nobel, v. 1. 395 p. 1986.

ASPEVIK, T.; OTERHALS, A.; RONNING, S. B. *et al.* Valorização de proteínas de Co-e subprodutos da indústria de peixe e carne. **Tópicos em Química Atual**, [s.l.], v. 375, p. 53, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE RECICLAGEM ANIMAL. **II Diagnóstico da indústria brasileira de reciclagem animal**. 2015. Disponível em: http://abra.ind.br/wp-content/uploads/2017/10/II_diagnostico2.pdf. Acesso em: 29 out. 2018.

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

BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition**. Wiltshire: CABI Publishing; Ed. Finnfeeds International, Marlborough, 2001. 432 p.

BELLAVER C. Processamento de farinhas de origem animal e sua relação com digestibilidade e palatabilidade do produto final. In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 2, SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 9, 2010, Campinas. **Anais** [...]. Campinas: CBNA – Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2010.

BELLAVER, C. Ingredientes de origem animal destinados à fabricação de rações. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2001, Campinas. **Anais** [...]. Campinas: CBNA – Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2001. p. 167-190.

BELLAVER, C. Limitações e vantagens do uso de farinhas de origem animal na alimentação de suínos e de aves. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2005, Curitiba. **Anais** [...]. Curitiba: [s.n.], 2005. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/limitacoes_vantagens_uso_farinhas_origem_animal_alimentacao_suinos_e_aves_000fyrez6ev02wx5ok0pvo4k341ah68r.pdf. Acesso em: 09 abr. 2019.

BELLAVER, C.; BRUM, P. A. R.; LIMA, G. M. M.; BOFF, J.; KERBER, J. Utilização de dietas com base na proteína ideal para frangos de corte de 1 a 42 dias utilizando

farinha de vísceras de aves. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 3, p. 44-45, 2001.

BELLAVER, C.; ZANOTTO, D. L. **Parâmetros de qualidade em gorduras e subprodutos protéicos de origem animal**. 2004. Conferência APINCO. Santos, SP, 2004. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/parametros_qualidade_gorduras_e_subprodutos_proteicos_de_origem_animal_000fyrf0t6n02wx5ok0pvo4k33hlhtkv.pdf. Acesso em: 10 abr. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2003. **Instrução Normativa nº 15 de 2 de outubro de 2003**. Regulamento técnico sobre as condições Higiênico Sanitárias e Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos que processam resíduos de animais destinados a alimentação animal. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (Dipoa), Secretaria de Defesa Agropecuária (DAS).

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 1.255 de 25 de junho de 1962. Altera o Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, que aprovou o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Brasília, DF, 1962.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Encefalopatia espongiforme bovina – EEB : doença da vaca louca**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, 2008. 24 p

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 34, de 28 de maio de 2008**. Regulamento técnico da inspeção higiênico sanitária e tecnológica do processamento de resíduos de animais e o modelo de documento de transporte de resíduos animais. Brasília, DF, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 34, de 28/5/2008**. Disponível em: http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizaAtoPortalMapa&chave=284275208. Acesso em: 24 out. 2018.

BUTOLO, J. E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2002. 430 p.

BUTOLO, J. E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2002.

CAMPESTRINI, E. Farinha de carne e ossos. Artigo número 24. **Revista Eletrônica Nutritime**, Viçosa, v. 2, n. 4, p. 221-234, 2005.

CARVALHO, C. M. C.; FERNANDES, E. A.; CARVALHO, A. P.; CAIRES, R. M.; FAGUNDES, N. S. Uso de farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 107, n. 581/582, p. 69-73, 2012. Disponível em: http://www.fmv.ulisboa.pt/spcv/PDF/pdf6_2012/69-73.pdf. Acesso em: 098 abr. 2019.

CARVALHO, D. P.; STRINGHINI, J. H.; PIRES, M. F.; RAIANA NOLETO, A. S. P.; TEIXEIRA, K. A. Desempenho de frangos de 1 a 7 dias de idade alimentados com dietas pré-iniciais contendo protease e farinhas de origem animal. 2018. Disponível em: https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/desempenho-frangos-dias-idade-t40334.htm. Acesso em: 10 abr. 2019.

CARVALHO, J. C. C.; BERTECHINI, A. G.; FASSANI, E. J.; RODRIGUES, P. B.; PEREIRA, A. N. P. Desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja suplementadas com complexos enzimáticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa , v. 38, n. 2, p. 292-298, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/rbz/v38n2/a11v38n2.pdf. Acesso em: 10 abr. 2019.

DALE, N. Avanços na quantificação do valor nutritivo da farinha de carne . In: III SIMPÓSIO GOIANO DE AVICULTURA, 1998, Goiânia. **Anais** […] Goiânia: AGA, p. 79-81, 1998.

DESSIMONI, G. V. **Planos nutricionais com suplementação de protease em dietas de frangos de corte**. 2011. 48 f. Dissertação (Dissertação) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2011.

DOURADO, L. R. B.; BARBOSA, N. A. R.; SAKOMURA, N. K. Enzimas na nutrição de monogástricos. In: SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2014. p. 466-484.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Estatística Suínos e Aves. Disponivel em: https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas. Acesso em: 25 out. 2018.

EYING, C. *et al.* Composição química, valores energéticos e digestibilidade verdadeira dos aminoácidos de farinhas de carne e ossos e de peixe para aves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 3, p. 575-580, 2011.

FARIA FILHO, D. E. ; FARIA, D. E.; JUNQUEIRA, O. M. *et al.* Avaliação da farinha de carne e ossos na alimentação de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 4, n.1/001. 9 p., 2002. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/rbca/v4n1/11425.pdf. Acesso em: 09 abr. 2019.

FERNANDES, E. S. **Avaliação de fatores que afetam a qualidade de farinha de vísceras na indústria de subprodutos avícolas**. 2016. 30 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016. Disponível em: https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/6226/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Eder%20de%20Sousa%20Fernandes%20-%202016.pdf. Acesso em: 09 abr. 2019.

FORTES, B. D. A. **Adição de enzimas em dietas com diferentes fontes de proteína para frangos**. 2014. 102 f. Tese (Doutorado) - Escola de Veterinária e

Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014. Disponivel em: http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/4773. Acesso em: 25 out. 2018.

FREITAS , D. M.; VIEIRA, S. L.; ANGEL, C. R.; FAVERO, A. ; MAIORKA, A. Performance and nutrient utilization of broilers fed diets supplemented with a novel monocomponent protease. **Journal of Applied Poultry Research**, Cary, v. 20, p. 322–334, 2011.

JUNQUEIRA O. M.; KNOOP, R.; SAKAMURA, N. K.; FARIA, D. E. Farinha de carne e ossos e fosfato bicálcico como fonte de fósforo para frangos de corte. **Ciência Zootécnica**, Jaboticabal, v. 7, p. 12-14, 1992.

KHAJAREM, J. ; KHAJAREM, S. 1998. Quick quality tests for protein meals. DALE, N. Formulacion de dietas sobre la base de disponibilidad de aminoácidos. **Avicultura Profissional**, [s.n.], v. 9, n. 3, p. 120-122, 1992.

LEHNINGER, A. L.; NESSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 2002. 975 p

LEMUCHI, M. O.; VIEIRA, M. S.; GRANJEIRO, P. A.; SILVA, J. A.; LIMA, W. J. N.; GONÇALVES, D. B. ; TARANTO, A. G. Uso de modelagem comparativa na determinação estrutural de fitase de Yersinia. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, Londrina, v. 2, p. 25-30, 2013. Disponível em: http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/bbr/article/view/14627/13026. Acesso em: 09 abr. 2019.

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

MATIAS, C. F. D. Q. Protease na alimentação de frangos de corte. 2012. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012. Disponivel em: http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/handle/1843/BUOS-9MYKQA. Acesso em: 22 dez. 2015.

MATIAS, C. F. Q. Utilização de farinhas de origem animal na avicultura. **Revista Eletrônica Nutritime**, Viçosa, v. 9, n. 5, p. 1944 – 1964, 2012.

MATIAS, C. F. Q.; ROCHA, J. S. R.; POMPEU, M. A.; BAIÃO, R. C.; LARA, L. J. C.; CLIMACO, W. L. S.; CARDEAL, P. C. Efeito da protease sobre o coeficiente de metabolizabilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 67, p. 492-498, 2015. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v67n2/0102-0935-abmvz-67-02-00492.pdf. Acesso em: 10 abr. 2019.

MAVROMICHALIS, I. 2012. **Mixed or single enzymes for non-starch carbohydrates**. All About Feed, 25 -26. Disponível em: https://www.allaboutfeed.net/Feed-Additives/Articles/2012/11/Mixed-or-single-enzymes-for-non-starch-carbohydrates-1494289W/?dossier=21603&widgetid=1. Acesso em: 09 abr. 2018.

NELSON, T. S.; KIRB, L. K.; HALLEY, J. T. Chemical composition and nutritive value of by-product feed ingredients. **Nutrition Reports International**, New York, v. 40, p. 377-382, 1989.

NUNES, R. V. *et al.* Valores energéticos de subprodutos de origem animal para aves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 4, p. 1217-1224, 2005.

OLUKOSI, O. A.; BEESON, L. A.; ENGLYST, K. *et al.* Efeitos de proteases exógenas sem ou com carboidrases sobre a digestibilidade de nutrientes e o desaparecimento de polissacarídeos não amiláceos em frangos de corte. **Poultry Science**, Cary, v. 94, p. 2662-2669, 2015.

OPOKU, E. Y.; CLASSEN, H. L. ; SCOTT, T. A. Efeitos de destiladores de trigo grãos secos com solúveis com ou sem protease e βmananase no desempenho de aves de galinha de peru. **Poultry Science**, Cary, v. 94, p. 207-221, 2015.

PARSONS, C. M.; CASTANON, F.; HAN, Y. Protein and amino acid quality of meat and bone meal. **Poultry Science**, Cary, v. 76, p. 361-368, 1997.

PENZ JUNIOR, A. M. **Justificativas para o uso de proteínas e gorduras de ruminantes para a alimentação de aves e suínos**. Documento pessoal enviado ao Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal. Sindirações, 2004.

PERAI, A. H. *et al.* A comparison of artificial neural networks with other statistical approaches for the prediction of true metabolizable energy of meat and bone meal. **Poultry Science**, Cary, v. 89, n. 7, p. 1562-1568, 2010.

PEREIRA, D. C. **Protease em dietas contendo farinhas de origem animal para frangos de corte**. 2016. 69 f. Dissertação. (Mestrado) – Escola de Vetrerinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016.

POLGAR, L. **Mechanism of protease action**. FLORIDA: CRC. Press, 1989. p. 68-70.

RAMOS, L. D. S. N.; LOPES, J. B.; FIGUEIREDO, A. V.; ALVES, A. A. Utilização de enzimas exógenas em dietas de frango de corte. **Revista Cientifica Animal**, Fortaleza, v. 9, n. 1, p. 84-94, 2007.

ROMERO, L. F.; PARSONS, C. M.; UTTERBACK, P. L.; PLUMSTEAD, P. W. ; RAVINDRAN, V. Comparative effects of dietary carbohydrases without or with protease on the ileal digestibility of energy and amino acids and AMEn in young broilers. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 181, p. 35–44, 2013.

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

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

SAKOMURA, N. K. ;DOURADO, L. R. B.; BARBOSA, N. A. R. Enzimas na nutrição de monogástricos. In: SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2014. p. 466-484.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2016. 262 p.

SARTORELLI, S. A. A. **Uso de farinha de carne e ossos em rações de frangos de corte**. Lavras: UFLA, 1998. 54 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

SARTORELLI, S. A. A. **Uso de farinha de carne e ossos em rações para frangos de corte**. 1998. 54 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

SCHONE , R. A.; NUNES, R. V.; FRANK, R.; EYNG, C. ; CASTILHA, L. D. Distiller's dried grains with solubles (DDGS) in feed for broilers (22- 42 days). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 48, p. 548-557, 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/rca/v48n3/1806-6690-rca-48-03-0548.pdf. Acesso em: 10 abr. 2019.

SCOTTÁ, B. A.; ALBINO, L. F. T.; BRUSTOLINI, P. C. *et al.* Determinação da composição química e dos valores de energia metabolizável de alguns alimentos proteicos para frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 17, p. 501-508, 2016. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/cab/v17n4/1809-6891-cab-17-04-0501.pdf. Acesso em: 10 abr. 2019.

SOUZA, P. M. D.; BITTENCOURT, M. L. D. A.; CAPRARA, C. C.; FREITAS, M. D.; ALMEIDA, R. P. C. D.; SILVEIRA, D. ; MAGALHÃES, P. O. Uma perspectiva de biotecnologia das proteases fúngicas. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 46, p. 337-346, 2015.

SSOTTÁ, B. A.; ALBINO, L. F. T.; BRUSTOLINI, P. C.; GOMIDE, A. P. C.; CAMPOS, P. F. ; RODRIGUES, V. V. Determinação da composição química e dos valores de energia metabolizável de alguns alimentos proteicos para frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 17, p. 501-508, 2016.

TAVERNARI, F. D. C.; BERNAL, L. E. P.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T. ; VIEIRA, R. A. Nutritional requirements of digestible methionine+ cystine for cobb broilers. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 2, 193-201, 2014.

VIEITES, F. M. **Valores energéticos e de aminoácidos digestíveis de farinhas de carne e ossos para aves**. Viçosa: UFV. 1999. 75 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.

ZANOTTO, D. L.; BELLAVER, C. **Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 1996.

ZANOTTO, D. L.; BELLAVER, C. **Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 1996. p. 1-5.

ZHANG, L.; XU, J.; LEI, L.; JIANG, Y.; GAO, F. ; ZHOU, G. H. Effects of xylanase supplementation on growth performance, nutrient digestibility and non-starch polysaccharide degradation in different sections of the gastrointestinal tract of broilers fed heat based diets. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 27, p. 855–861, 2014.