

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Avaliação de complexo enzimático e betaína natural nas rações de frangos de corte criados em aviário comercial

Patrícia Watanabe Zanin Pereira

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

**Piracicaba
2008**

Patrícia Watanabe Zanin Pereira
Zootecnista

Avaliação de complexo enzimático e betaina natural nas rações de frangos de corte criados em aviário comercial

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ FERNANDO MACHADO MENTEN**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba
2008

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Pereira, Patrícia Watanabe Zanin

Avaliação de complexo enzimático e betaína natural nas rações de frangos de corte criados em aviário comercial / Patrícia Watanabe Zanin Pereira. - - Piracicaba, 2008. 63 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008. Bibliografia.

1. Aditivos alimentares para animal 2. Frangos de corte - Desempenho 3. Nutrição animal 4. Ração - Custos 5. Suplementos enzimáticos para animais I. Título

CDD 636.513
P436a

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

DEDICATÓRIA

A Deus, o colo que procurei e sempre encontrei!

Aquele que desde há muito tempo caminha comigo... Meu fiel amigo e companheiro, fundamento das minhas conquistas e das minhas alegrias, incentivador de tantas buscas e vitórias. Sei que sozinha também teria conseguido, porém não teria sido tão prazeroso como foi! Dedicar este trabalho a você é a melhor maneira que encontrei em dizer: Cleber, muito obrigada por sempre acreditar em mim!

*A maravilhosa obra Divina que é o fruto de uma longa história de amor e cumplicidade... Prolongamento da minha vida... Mais uma alegria para eu viver...
Meu filho Arthur.*

A minha querida mãe e ao meu querido pai que, cada um ao seu modo, me mostram como viver a vida

Tenho orgulho em ser a filha de vocês!

Ao meu avô Moacyr (in memoriam), o exemplo mais lindo de inteligência, justiça e sabedoria

Que saudade!

A minha avó Teresinha por sua alegria e amor à vida

Como é bom tê-la comigo!

A minha sogra Alice e ao meu sogro José, exemplos de serenidade e equilíbrio

Sinto muito carinho por vocês.

Aos meus familiares,

Sinto-me filha de cada um.

*“O futuro tem muitos nomes;
para os fracos, ele é inatingível;
para os temerosos, ele é desconhecido;
para os corajosos, ele é a chance”.*

Vitor Hugo

AGRADECIMENTOS

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realizar o meu estudo.

Ao Prof. Dr. José F. M. Menten, pela oportunidade de tê-lo como mestre, pela sua generosidade, confiança e amizade. Serei-lhe eternamente grata.

Ao Prof. Dr. Valdomiro Shigueru Miyada, pela convivência e excelentes aulas ministradas.

Aos professores do Departamento de Zootecnia, pelo convívio e amizade durante o curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

A Marina, pela estimada amizade, por todo seu apoio e companheirismo, exemplo de coragem e esperança. Nunca me esquecerei de você.

A Vivian, por estar ao meu lado nos momentos em que mais precisei e por muitas vezes ter acalmado o meu coração. Desde que nos conhecemos a afinidade e cumplicidade foram os instrumentos da nossa amizade. Obrigada por ser minha amiga!

A Ana Beatriz, por tantos assuntos compartilhados, pelas dúvidas esclarecidas, pelos conhecimentos divididos e por suas experiências e graciosidade. Adoro você!

A companheira Aline, por toda sua ajuda, pelas mais variadas conversas e por tantas risadas. Muitas vezes a ouvi como se tivesse ouvindo a minha mãe.

A minha mais nova amiga Lourdes, por ser um exemplo de vida, por admirar o meu trabalho, e principalmente, por ter sido o anjo que muitas vezes esteve ao lado do meu filho na hora do banho, do sono, do choro e das risadas. Você é uma pessoa especial!

As integrantes da minha equipe de trabalho Pricila, Cynthia e Julieta, obrigada por terem feito parte dos meus dias, pelas descontrações que tivemos e por contribuírem com o meu crescimento.

Aos colegas do departamento Álvaro, Carla, Fabiane, Jony, Karen, Mohamed e Ricardo, pelos bons momentos de convivência.

As empresas Danisco Brasil Ltda., Btech Tecnologias Pecuárias e Comércio Ltda. e Nutron Alimentos Ltda., pelo apoio financeiro e parceria para realização deste trabalho, especialmente aos colegas Flávio Alves Longo, Luiz Gustavo, Ana Lígia e Adriana Figueiredo.

Aos funcionários e colegas do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, José Henrique Rocha (Ike), Roseli de Almeida (Rose), Vera Lucia Graciano, Giovana e Eleonora S. Baeza, pelos momentos vividos, atenção e carinho despendido no dia a dia com a minha pessoa.

Ao funcionário da Fábrica de Ração do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, Antônio Carlos Oliva (Carlão), por sempre estar disposto a me auxiliar na confecção das rações experimentais.

Aos funcionários de campo do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, Alexandre Soares, José Augusto Alves (Gusto), José Knapik (Gaúcho), Paulo Marcos de Oliveira (Paulinho), Sr. Mário Aguiar, Ednézio Klimasewski, Gilberto Duarte, Sr. Antônio Ladeira, Otávio Birolo, Luis Fernando Rocha (Filó), Francisco Oliveira e Airton Bonato, por toda colaboração despendida nesta pesquisa.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS	12
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 DESENVOLVIMENTO.....	15
2.1 Enzimas	15
2.1.1 Histórico.....	15
2.1.2 Enzimas como aditivos na alimentação animal.....	16
2.1.3 Propriedades e modo de ação das enzimas.....	16
2.2 Milho e farelo de soja	17
2.3 Fatores que inibem a absorção dos nutrientes	18
2.3.1 Fatores antinutricionais	18
2.3.2 Imaturidade do sistema digestório.....	21
2.4 Enzimas comerciais para animais não-ruminantes.....	22
2.5 Efeito da utilização de enzimas exógenas digestivas no desempenho de frangos de corte	24
2.6 Betaína.....	27
2.6.1 Definição	27
2.6.2 Atuação da betaína como osmoprotetora	28
2.6.3 Atuação da betaína como fonte doadora de grupo metil.....	31
2.7 Material e métodos	33
2.7.1 Instalações experimentais e animais	33
2.7.2 Tratamentos	35
2.7.3 Delineamento experimental e análise dos dados	41
2.8 Resultados e discussão	41
2.8.1 Desempenho.....	41
2.8.2 Análise de custo da alimentação.....	47

3 CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS	50
APÊNDICES	59

RESUMO

Avaliação de complexo enzimático e betaína natural nas rações de frangos de corte criados em aviário comercial

Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da adição de complexo enzimático, composto por protease, xilanase e amilase, associado ou não a betaína em rações de frangos de corte sobre o desempenho e a análise econômica. Novecentos e vinte e quatro pintos machos da linhagem Cobb 500, com peso médio inicial de 45,8 g, foram distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, sete repetições por tratamento e trinta e três animais por unidade experimental (boxe). Os tratamentos foram: Controle – Tratamento controle – dieta basal constituída por milho e farelo de soja; Enz – Tratamento enzima – ração com adição de enzimas (amilase, protease e xilanase); Bet – Tratamento betaína – ração com adição de betaína; Enz+Bet – Tratamento enzima e betaína – ração com adição de enzimas (amilase, protease e xilanase) e betaína. O período experimental foi dividido em quatro fases: pré-inicial, inicial, crescimento e final. Aos sete, 21, 35 e 41 dias de idade, as aves e as sobras de ração foram pesadas para avaliar o peso médio, o consumo médio de ração, o ganho médio de peso e a conversão alimentar dos animais. Além disso, foram determinados a viabilidade criatória, o fator de produção e o custo da alimentação. No período de 1 a 7 dias, não se detectou diferença significativa ($P>0,05$) para as variáveis de desempenho com a adição de betaína ou enzimas na ração. Para o período de 1 a 21 dias de idade, foi observado menor consumo médio de ração ($P<0,05$) para o tratamento Enz+Bet quando comparado com o tratamento acrescido apenas de enzimas, porém sem afetar o ganho médio de peso ($P>0,05$) e a conversão alimentar ($P>0,05$). Não houve diferença significativa ($P>0,05$) para as variáveis de desempenho analisadas quando os frangos de corte foram suplementados com complexo enzimático ou betaína. Com relação ao período de 1 a 35 dias, as aves que receberam os tratamentos Enz ou Bet apresentaram desempenho semelhante ao controle ($P>0,05$). No período total de 41 dias os frangos de corte recebendo rações formuladas com enzimas ou betaína tiveram desempenho muito próximo ao das aves do tratamento Controle, indicando que as substituições tiveram o efeito desejado. Não houve efeito significativo ($P>0,05$) entre os tratamentos para o custo da alimentação. A suplementação independente das rações com enzimas ou com betaína natural resultou em desempenho semelhante ao das aves do tratamento Controle. Entretanto, a associação entre os aditivos não se constituiu uma alternativa satisfatória para melhorar o desempenho das aves, embora tenha resultado em custo de alimentação mais baixo que os demais tratamentos.

Palavras-chave: Betaína; Desempenho; Complexo enzimático; Frangos de corte

ABSTRACT

Evaluation of enzymes complex and betaine in the diet of broiler raised in a commercial poultry house

The broiler of this study was evaluate the effects of an enzyme complex containing protease, xylanase and amylase, associated or not with betaíne, added to broiler diets on the performance of the birds and economic results. Day-old male Cobb 500 broiler chicks (924) with average weight of 45,8 g were distributed to four treatments and seven replicates per treatment in a completely randomized design. The experimental was a pen with 33 birds. The treatments were: Control – unsupplemented diets based on corn and soy bean meal; Enz – Diets containing enzymes (protease, xylanase and amylase); Bet – Diets containing natural betaína; Enz+Bet – association of the two previous treatments. The experimental period comprised the pre-starter, starter, grower and finisher pfases. At seven, 21, 35 and 41 days of age the chickens and feeders were weighed to determine the average weight, average feed intake, average weight gain, and feed conversion of the birds. Viability, productivity index, and feeding cost were also determined. On days 1 to 7 addition of enzymes or betaína to the feeds did not result in significant differences in performance ($P>0,05$). In the period from 1 to 21 days of age, the treatment Enz+Bet had a lower average feed intake ($P<0,05$) compared to Enz; however, average weight gain and feed conversion were similar ($P>0,05$). Compared to the Control, the performance of birds in the treatments Enz or Bet was not significantly affected ($P>0,05$). Linewise, the treatments Enz and Bet resulted in performance similar to the Control ($P>0,05$) in the period from 1 to 35 days. In the overall period of 41 days, the chickens receiving diets formulated to contain enzymes or betaína had a performance very similar to those fed the Control diet, indicating that the supplements used resulted in the expected effects. There were no differences among treatments in cost of feed per kg of chicken ($P>0,05$). These additives may be used as components of broilers diets depending on economic considerations.

Keywords: Betaine; Performance; Enzyme complex; Broiler

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química da molécula de betaína.....	27
Figura 2 – Ciclo da transmetilação	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Médias de temperaturas mínima e máxima diárias registradas durante o período experimental	35
Tabela 2 – Composição percentual e nutricional calculada das rações experimentais fornecidas às aves na fase pré-inicial (1 a 7 dias).....	37
Tabela 3 – Composição percentual e nutricional calculada das rações experimentais fornecidas às aves na fase inicial (7 a 21 dias).....	38
Tabela 4 – Composição percentual e nutricional das rações experimentais fornecidas às aves na fase de crescimento (21 a 35 dias).....	39
Tabela 5 – Composição percentual e nutricional das rações experimentais fornecidas às aves na fase final (35 a 41 dias).....	40
Tabela 6 – Peso médio (PM) e viabilidade criatória (VC) aos 7 dias, consumo médio de ração (CMR), ganho médio de peso (GMP) e conversão alimentar (CA) de 1 a 7 dias de idade	42
Tabela 7 – Peso médio (PM) e viabilidade criatória (VC) aos 21 dias, consumo médio de ração (CMR), ganho médio de peso (GMP) e conversão alimentar (CA) de 1 a 21 dias de idade.....	42
Tabela 8 – Peso médio (PM) e viabilidade criatória (VC) aos 35 dias, consumo médio de ração (CMR), ganho médio de peso (GMP) e conversão alimentar (CA) de 1 a 35 dias de idade	44
Tabela 9 – Peso médio (PM) e viabilidade criatória (VC) aos 41 dias, consumo médio de ração (CMR), ganho médio de peso (GMP) e conversão alimentar (CA) de 1 a 41 dias de idade e fator de produção (FP).....	45
Tabela 10 – Análise do custo da alimentação por kg de ave.....	47

1 INTRODUÇÃO

Como toda produção moderna, a avicultura brasileira visa atender a demanda do cliente por um produto com boa qualidade e segurança alimentar, além de atuar de forma segura e rentável com a responsabilidade ambiental. Focada nos mercados nacional e internacional, busca aperfeiçoar a produção por galpões com o menor custo possível, a fim de maximizar a lucratividade.

O melhoramento genético proporcionou aos frangos de corte o potencial de obter maior ganho de peso, melhor rendimento de carcaça e eficiência alimentar num menor período de criação. No entanto, a melhora destes índices produtivos levou a exigência de um maior aporte nutricional, principalmente em energia e proteína, sendo o milho e o farelo de soja, as principais fontes energética e protéica das dietas, respectivamente, além de encarecedores do custo de produção. Além disso, mediante as altas densidades e práticas de manejo mais intensivas houve o aumento de incidência da coccidiose, doença parasitária comum nos aviários que ocasionam significativas perdas produtivas. No intuito de minimizar tais perdas, vêm-se buscando alternativas que possam ser usadas como estratégias de produção e neste sentido, têm-se estudado a utilização de aditivos na composição de rações, como as enzimas exógenas e a betaína a fim de melhorar o desempenho das aves e, possivelmente, reduzir o custo final das rações.

Pelas características que lhes são conferidas, as enzimas exógenas vêm sendo estudadas com a finalidade de incrementar o valor nutricional dos alimentos ao melhorar a qualidade nutricional dos grãos com a degradação dos polissacarídeos estruturais disponibilizando melhor os nutrientes possibilitando possíveis vantagens econômicas com a diminuição dos níveis nutricionais da ração, além de complementar a produção de enzimas endógenas nas aves. Segundo Wyatt e Bedford (1998), existem duas abordagens econômicas ao considerar a incorporação de enzimas exógenas nas formulações das dietas. A primeira, uma aplicação mais simples e provavelmente mais prática, chamada de “over the top” (por cima) com intuito de melhorar o desempenho de forma mais econômica, consiste em adicionar enzimas em uma formulação padrão, sem alterar os níveis nutricionais. A segunda alternativa seria alterar a formulação da ração reduzindo os nutrientes e adicionando enzimas exógenas para restaurar o valor nutricional da dieta padrão, visando o mesmo desempenho de uma dieta com os níveis nutricionais normais.

Um dos interesses na utilização da betaína em dietas de frango de corte tem sido despertado em razão da função que esta apresenta como osmólito orgânico. A betaína é capaz de estabilizar a função metabólica das células sob diferentes condições de estresse a um baixo custo energético, sendo as suas propriedades osmoprotetoras relacionadas a sua característica bipolar e alta solubilidade em água. Além disso, a betaína é considerada fonte doadora de grupos metil, uma vez que podem contribuir para reações metabólicas, desde a metilação de DNA, RNA e membranas celulares lipídicas até a síntese de metionina, carnitina e creatina. Adicionalmente, a betaína é capaz de aumentar a disponibilidade de metionina para a síntese de proteína, permitindo o crescimento muscular.

Em vista da importância desses aspectos, esta pesquisa objetivou avaliar o efeito da adição de complexo enzimático (protease, xilanase e amilase), associado ou não a betaína natural, em rações de frangos de corte, sobre o desempenho nas diferentes fases de criação, custo da ração por quilo de peso médio aos 41 dias de idade e fator de produção (índice de produtividade).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Enzimas

2.1.1 Histórico

As enzimas vêm sendo estudadas desde 1857, ano em que Louis Pasteur notou haver uma relação entre fermentação e atividade biológica das leveduras. Anos depois, em 1893, Klaus Ostwald confirmou a ação catalítica das enzimas e logo no ano seguinte, Takamine Iogró descobriu que as enzimas carboidrases e proteases poderiam ser produzidas a partir do mofo *Aspergillus oryzae*. Porém, foi apenas a partir da II Guerra Mundial que se expandiram as pesquisas sobre enzimas, mediante a fermentação, para a produção de antibióticos.

Na década de 1950, estes aditivos foram estudados pela Universidade Estadual de Washington - USA para solucionar problemas na avicultura causados pelo excesso de umidade na cama com conseqüente queda no desempenho dos frangos de corte alimentados com os cereais centeio, trigo, cevada, triticale e aveia. Por estes grãos serem ricos em polissacarídeos estruturais, uma vez no trato digestório, geram alta viscosidade, dificultando a ação das enzimas endógenas e, conseqüentemente, a digestão do alimento, o que leva ao aumento da produção de excretas com excesso de umidade.

Na década de 1960, as pesquisas sobre enzimas e a prática de seu uso em rações de animais não-ruminantes fixaram-se nos países europeus onde a principal fonte de energia para as rações era a cevada. Assim, descobriu-se que ingredientes de origem vegetal possuem diferentes compostos que se complexam e podem interferir na digestão, absorção e utilização de nutrientes. Por esse motivo, estes agentes naturais complexados foram denominados de fatores antinutricionais, sendo os mais comumente encontrados os polissacarídeos não-amiláceos - PNAs (SEBASTIAN et al., 1996).

Na década de 1990, foi proposta a incorporação de enzimas nas rações de animais não-ruminantes compostas por grãos e farelos altamente digestíveis como milho, sorgo e farelo de soja, com o propósito de melhorar a utilização destes, além de permitir o uso de ingredientes alternativos (SANTOS et al., 2005). Desta maneira, foi possível mudar a formulação da ração,

baixando os níveis nutricionais, e reduzindo o custo de produção, sem prejudicar o desempenho dos animais (WYATT; BEDFORD, 1998).

2.1.2 Enzimas como aditivos na alimentação animal

Segundo a Instrução Normativa nº 13 de 30 de novembro de 2004 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, em vigência, aditivos destinados à alimentação animal são substâncias ou microrganismos adicionados intencionalmente à dieta, que normalmente não se consomem como alimentos, tenham ou não valor nutritivo, que afetem ou melhorem as características do alimento ou dos produtos animais (BRASIL, 2004). Sendo assim, as enzimas exógenas são consideradas aditivos zootécnicos (BRASIL, 2004) e, de modo geral, são proteínas que agem como catalisadores biológicos, ou seja, aceleram a velocidade das reações químicas nos organismos, sendo altamente específicas aos seus substratos e sua atividade influenciada por fatores como temperatura, pH e umidade (PENZ JÚNIOR, 1998).

As enzimas digestivas exógenas não possuem função nutricional direta, mas auxiliam no processo digestivo, melhorando a digestibilidade dos nutrientes presentes nas rações (HENN, 2002), além de possibilitar a redução dos custos de produção, tornando o alimento mais econômico para o consumidor, em função da diminuição de distúrbios metabólicos e maior resistência dos animais a desafios (BUTOLO, 1999).

2.1.3 Propriedades e modo de ação das enzimas

As enzimas digestivas apresentam duas propriedades importantes relacionadas ao seu modo de ação: dependência de substrato e especificidade. Dessa forma, são substrato-dependentes uma vez que a secreção enzimática é ativada pela presença de substrato no trato digestório (COSTA et al., 2004) e apresentam especificidade já que cada tipo de enzima tem uma determinada estrutura espacial que restringe a sua ação em apenas um tipo de substrato, sendo esta especificidade determinada pelas estruturas primária, secundária, terciária ou quaternária da proteína (COWIESON et al., 2003).

Individualmente, as enzimas apresentam um sítio de ligação que, por conter aminoácidos, cria uma superfície complementar ao substrato. Este sítio de ligação pode conter

outro sítio chamado de sítio catalítico ou sítio ativo e é através deste que ocorre a junção da enzima com o substrato. Desta forma, realiza-se a reação de catálise numa determinada ligação química, convertendo o complexo enzima-substrato a enzima e produto (PENZ JÚNIOR, 1998). Uma vez acontecida esta reação, as enzimas ficam disponíveis para novas reações, não sendo, portanto, absorvidas.

Segundo Zanella (1998), tanto as enzimas endógenas quanto as exógenas são proteínas catalisadoras e apresentam as mesmas características estruturais e modo de ação, requerendo assim, condições idênticas para o meio em que se encontram. De acordo com Nagashiro (2007), as enzimas permanecem ativas quando estão em condições favoráveis de pH, temperatura e umidade e, garantir a integridade de suas estruturas é um modo de manter a atividade das mesmas. Outros fatores que influenciam a atividade das enzimas são: tipo e quantidade de substrato, presença de inibidores protéicos ou de outras enzimas.

De acordo com Soto-Salanova et al. (1996), as enzimas exógenas digestivas atuam rompendo as paredes celulares das fibras, reduzindo a viscosidade causada pelas fibras solúveis da digesta no intestino proximal; degradam as proteínas estruturais de reserva como a conglucina e β -conglucina, presentes por exemplo, na soja; reduzindo os efeitos dos fatores antinutricionais, além de suplementar a produção de enzimas endógenas do animal.

2.2 Milho e farelo de soja

A principal fonte energética utilizada nas formulações de rações para aves é o milho, que contém, em média, 87,1% de matéria seca, 8,26% de proteína bruta (73% no endosperma e 24% no embrião), 3,61% de extrato etéreo, 3.925 kcal/kg de energia bruta, 0,03% de cálcio, 0,24% de fósforo total e 1,73% de fibra bruta. Apresenta aproximadamente 9% de polissacarídeos não-amiláceos, sendo 4,9% destes representados pelos xilanos (ROSTAGNO et al., 2005; TORRES, 1999).

Geralmente, a digestibilidade dos nutrientes do milho, principalmente do polissacarídeo amido, é relativamente alta, podendo os teores de fibra, proteína e gordura influenciar o aproveitamento da energia do amido pelas aves (PENZ; DARI, 2005).

O amido está presente em grande quantidade nos grãos de cereais fornecendo glicose através das reações de hidrólise, sendo as suas estruturas arranjadas em moléculas de amilose e

amilopectina, que são estruturas de graus de digestibilidade distintos (WYATT; BEDFORD, 1998). Localizado na região interna das paredes do endosperma, o amido está envolvido em várias camadas de células protetoras, formando a aleurona. Envolvendo a aleurona, na parede externa, encontra-se o pericarpo que envolve completamente o grão (BUTOLO, 2002). Para que as enzimas hidrolíticas acessem este polissacarídeo e seja possível realizar a sua digestão, é necessária a ruptura tanto do pericarpo, como da aleurona, sendo esta mais difícil de ser rompida (GIACOMETTI, 2002; ZANELLA, 1998). Além do amido, outros polissacarídeos fazem parte das estruturas dos cereais, presentes principalmente na parede celular. Entre eles, os polissacarídeos não-amiláceos (PNAs), que são conhecidos como fibras dietéticas, devido à resistência das suas ligações glicosídicas às reações de hidrólise no trato gastrointestinal.

A principal fonte protéica utilizada nas formulações de rações para aves é o farelo de soja, que contém, em média, 88,59% de matéria seca, 45,32% de proteína bruta, 1,66% de extrato etéreo, 4.079 kcal/kg de energia bruta, 0,24% de cálcio, 0,53% de fósforo total e 5,41% de fibra bruta (ROSTAGNO et al., 2005). Entretanto, é um ingrediente de composição variável (KANG; SWICK, 1995). De acordo com Trugo et al. (1995) apud Zanella (1999), a fibra dietética dos grãos de leguminosas pode incluir alfa-galactosídeos, amido resistente, polifenóis e proteínas ligadas à parede celular; o farelo de soja apresenta alta quantidade de alfa-galactosídeos (rafinose e estaquiase) e galactomananos (PNAs) que não são eliminados em seu processamento e que, portanto, prejudicam o aproveitamento nutricional deste alimento pelos animais não-ruminantes.

2.3 Fatores que inibem a absorção dos nutrientes

2.3.1 Fatores antinutricionais

Os fatores antinutricionais são, comumente, encontrados nas matérias-primas alimentícias e podem compor a parede celular dos grãos na forma de polissacarídeos estruturais, promovendo ou não viscosidade no trato digestório. Eles não são tóxicos para os animais, mas a sua presença no alimento pode comprometer o crescimento e o desempenho produtivo além de produzir alterações hormonais ou lesões esporádicas em certos órgãos (COUSINS, 1999; HENN, 2002). Nesta revisão serão abordados os polissacarídeos não-amiláceos (PNAs), inibidores de proteases e lectinas.

Os PNAs são carboidratos presentes nos grãos e constituintes das paredes celulares, sendo também conhecidos como fibras dietéticas devido as suas ligações glicosídicas serem resistentes às reações de hidrólise no trato gastrointestinal. São polissacarídeos de elevado peso molecular, compostos por pentoses (arabinose e xilose), hexoses (glicose, galactose e manose), 6-desoxihexoses (ramnose e fucose), e ácidos urônicos (ácido glicurônico e ácido galacturônico). A sua formação estrutural se inicia com os monossacarídeos, que são unidades básicas de carboidratos, podendo formar não apenas polímeros maiores (polissacarídeos) como também polímeros menores (oligosacarídeos). Estes polissacarídeos podem conter polímeros ramificados ou lineares, que diferem entre si pelo grau de polimerização de cada composto, sendo responsável pelas alterações em suas propriedades físicas (FERNANDES, 2005). Segundo Bedford (1996), os principais PNAs são os arabinoxilanos e os β -glucanos, os arabinoxilanos são polímeros de comprimento variável constituídos por unidades de xilose (cadeia linear de β 1,4 xilano) e arabinose (cadeias laterais); os β -glucanos que são polímeros lineares de glicose com ligações glicosídicas β 1,3 e β 1,4.

Agindo como fibras, os PNAs modulam a velocidade da digestão e da absorção dos nutrientes e se distinguem por suas funções no organismo, podendo agir como diluentes dos nutrientes das dietas, constituírem barreiras físicas e impedirem a ação de algumas enzimas endógenas, prejudicando o aproveitamento dos nutrientes encapsulados na parede celular dos grãos (CHOCT, 2006). As fibras são classificadas de acordo com a sua solubilidade em água, podendo ser solúveis ou insolúveis.

As fibras solúveis se encontram em grande quantidade nos cereais cevada, aveia, trigo, centeio e triticale. São formadas por pectina, gomas e certas hemiceluloses que apresentam grande capacidade de absorção de água e formam uma substância gelatinosa que dificulta a digestão e a absorção dos nutrientes (BEDFORD; MORGAN, 1996), além de prolongar o tempo do trânsito do bolo alimentar no intestino e tornar o meio propício para a proliferação de microrganismos patogênicos ali presentes, principalmente, na região do íleo (ZANELLA, 1998). Estas alterações no trato digestório podem gerar maior produção de excretas líquidas (GUENTER, 1993), levando ao aumento de umidade na cama com conseqüente incidência de animais com lesões de carcaça – peito, joelho e coxim plantar (TRALDI et al., 2007). A alta umidade das excretas é um problema para a avicultura, acarretando, nas poedeiras, elevada percentagem de ovos sujos e, nos frangos, incidência de pododermatite. Mesmo não tendo

encontrado diferenças significativas na umidade da cama com a suplementação enzimática nas rações dos frangos, Nagaraj et al. (2007) destacam a importância da qualidade da cama para o controle da pododermatite.

O mecanismo de ação destes PNAs como fatores antinutricionais em dietas de frangos de corte, bem como o efeito da suplementação de enzimas exógenas nestas dietas, foram estudados por Choct et al. (1997) com ênfase na interrelação entre viscosidade e fermentação ao longo do intestino. O aumento dos níveis de PNAs solúveis aumentou a viscosidade da digesta e reduziu a EM da dieta, resultando em queda no ganho de peso e pior conversão alimentar. A suplementação enzimática das rações com PNAs solúveis reverteu os efeitos adversos, aumentando a EM e melhorando o desempenho dos animais. Foi observada intensa fermentação no intestino delgado das aves que receberam dietas com PNAs solúveis, o que foi eliminado com a suplementação de enzimas. Os autores concluíram que há um aumento da fermentação no intestino delgado das aves quando há presença de grandes quantidades de PNAs solúveis na ração, prejudicando o desempenho das aves e o bem-estar.

As fibras insolúveis apresentam ligações glicosídicas resistentes às reações de hidrólise no trato gastrointestinal e têm como uma de suas funções oferecerem proteção e estrutura ao grão de amido. Na sua composição encontram-se a celulose, a lignina e algumas hemiceluloses, que apresentam pequena fermentação parcial no ceco e cólon, não sendo, portanto, viscosas (ZANELLA, 1998). Por atuarem como barreiras físicas, estes tipos de fibras agem como diluentes dos nutrientes das rações.

Além dos PNAs, outros fatores antinutricionais, como inibidores de proteases e lectinas, estão presentes na soja e não podem ser degradados pelo trato digestório das aves (CANTOR, 1995). Os inibidores de proteases são compostos protéicos que se complexam com a tripsina e quimotripsina prejudicando todo o processo de digestão das proteínas alimentares já desdobradas pela pepsina (JORGE NETO, 1992). As lectinas são glicoproteínas que possuem capacidade de se aglutinarem com os eritrócitos. Na sua presença, as células do epitélio intestinal tendem a se unir prejudicando a absorção dos nutrientes. Bedford e Morgan (1996) citam que a quantidade de lectina capaz de ligar-se aos enterócitos dos frangos de corte varia de acordo com a variedade do farelo de soja e que, talvez esta variação na ação da lectina possa em parte explicar o porquê de alguns farelos de soja corretamente processados, levarem as aves a baixo desempenho. A presença destes componentes nos farelos de soja pode ser confirmada pelo

método de extração do oligossacarídeo rafinose do farelo de soja através do etanol 80%. Leske et al. (1991) aplicaram este processo e encontraram valores de energia metabolizável verdadeira corrigida para nitrogênio (EMVn) e digestibilidade da PB para o farelo de soja não tratado de 2546 kcal/kg e 47,2%, respectivamente, e quando o farelo foi tratado, 3117 kcal/kg e 64,4%. Neste mesmo experimento, ao acrescentarem 5,3% de rafinose sintética ao farelo de soja tratado com etanol, os valores de EMVn caíram de 2986 para 2641 kcal/kg e a digestibilidade da proteína de 64,4 para 58,7%, indicando que este oligossacarídeo afeta negativamente a digestibilidade dos nutrientes. Coon et al. (1990) também determinaram a composição dos carboidratos do farelo de soja (44% de PB) e obtiveram 12,02% de carboidratos totais solúveis em água, 5,98% de sacarose, 1,07% de rafinose, 4,23% de estaquiose, 9,91% de hemicelulose e 7,09% de celulose.

Penz e Dari (2005) relataram que, em dietas à base de milho e farelo de soja, os substratos que sofrem a ação das enzimas são o amido, presente no milho, os fatores antitripticos presentes no farelo de soja e os xilanos e fitatos presentes em ambos.

As enzimas endógenas produzidas pelas aves são específicas para degradarem certas proteínas e carboidratos com ligação alfa, como o amido (BEDFORD, 1996), não agindo sobre os carboidratos de ligação beta (CANTOR, 1995); portanto, a utilização destes carboidratos só é possível através de enzimas exógenas utilizadas para romper, por exemplo, os oligossacarídeos em monossacarídeos (FERNANDES; MALAGUIDO, 2004). Entre as enzimas não secretadas pelos animais não-ruminantes, mesmo na presença do substrato devido à estes animais não possuírem os respectivos genes responsáveis, destacam-se a celulase, hemicelulase, xilanase, fitase, entre outras (PENZ JÚNIOR, 1998).

2.3.2 Imaturidade do sistema digestório

Na primeira semana de vida, o trato digestório das aves ainda é imaturo dispondo de poucas enzimas que digerem os glicídios e os lipídios. A reserva de carboidrato presente é mínima e corresponde aproximadamente 1% do ovo, sendo em sua maioria glicose (MAIORKA et al., 2003). No entanto, a produção de enzimas aumenta consideravelmente a partir do quarto dia até os vinte e um dias (GRACIA et al., 2003), uma vez que o consumo de nutrientes estimula a produção das enzimas. Dautlick e Strittmatter (1970); Hudson e Levin (1968); Krogdahl

(1985); Moran, (1985) apud Costa et al. (2004) confirmam o conceito de estímulo de secreção de enzimas pelo substrato ao relatarem que, já na eclosão, os pintos dispõem de proteases, que são ativadas por proteínas que entram no trato digestório ainda durante a fase embrionária. Gracia et al. (2003) verificaram que o peso do pâncreas foi reduzido à medida que se suplementou a ração com alfa-amilase indicando uma relação com a síntese das enzimas endógenas.

2.4 Enzimas comerciais para animais não-ruminantes

Segundo Wyatt e Bedford (1998), existem duas possibilidades econômicas de se incorporarem enzimas exógenas nas formulações de rações: (1) pelo método “over the top” (por cima) que consiste em suplementar com as enzimas uma fórmula padrão de ração, sem alterar os níveis nutricionais, com o intuito de melhorar o desempenho; e (2) alterar a fórmula da ração reduzindo os nutrientes e incorporando enzimas exógenas para restaurar o valor nutricional da ração padrão, objetivando o mesmo desempenho de uma ração com os níveis nutricionais considerados normais.

De acordo com a sua finalidade, as enzimas usadas para rações de não-ruminantes podem ser destinadas a complementar quantitativamente as enzimas endógenas (proteases, amilase) ou suplementar as enzimas que esses animais não podem sintetizar (beta-glucanase, pentosanase e alfa-galactosidase) (HENN, 2002), melhorando a digestibilidade das rações e o desempenho animal.

As enzimas disponíveis no mercado são agrupadas em: (1) enzimas para alimentos de baixa viscosidade; (2) enzimas para alimentos de alta viscosidade; e (3) enzimas para degradar o ácido fítico dos vegetais (ZANELLA, 1998). As enzimas comerciais apresentam quatro passos de atuação: (1) provocam a ruptura das paredes das células das fibras; (2) reduzem a viscosidade, devido a fibra solúvel na digesta do intestino proximal; (3) degradando as proteínas; e (4) suplementam a produção de enzimas endógenas (SOTO-SALANOVA, 1996).

A produção das enzimas exógenas digestivas consiste em um processo de fermentação, que é consequência da aplicação do inóculo (levedura) previamente preparado em laboratório sobre um substrato, em condições ideais de ambiente que permitam o processo fermentativo. O material sólido é removido e submetido a resfriamento, centrifugação e concentração. Por fim, são realizadas as etapas de filtração, padronização e controle de qualidade,

conforme a apresentação do produto comercial, líquido ou sólido (COWAN, 1993; ZANELLA, 1998). A produção das enzimas comerciais é proveniente, geralmente, de bactérias do gênero *Bacillus sp*, fungos do gênero *Aspergillus sp* e leveduras (FIREMAN; FIREMAN, 1998), portanto os microrganismos são a principal fonte para a produção de enzimas exógenas.

A enzima amilase é originária do *Bacillus amiloliquifaciens* e atua na região superior do trato gastrointestinal completando a digestão do amido do endosperma do milho (SANTOS et al., 2005; ZANELLA, 1998).

A enzima protease, originária do *Bacillus subtilis*, auxilia na degradação das proteínas da soja, especificamente as proteínas de armazenamento, como a conglicina e β -conglicina, e atua sobre os fatores antinutricionais da soja inibidores de tripsina e lectinas (GARCIA, 1997; ZANELLA, 1998).

A xilanase, do *Trichoderma longibrachiatum*, atua rompendo as paredes celulares da fibra possibilitando maior capacidade de ação das enzimas amilase e protease sobre os xilooligômeros liberados (GIACOMETTI, 2002; ZANELLA, 1998). Uma das principais características desta enzima é seu perfil amplo de atuação em pH de 3,5 a 6,5, que permite agir ao longo do trato gastrointestinal até o final do íleo (ZANELLA, 1998). O emprego da xilanase foi demonstrado em dietas de frangos à base de trigo, cevada, milho e sorgo, tendo como destaque nutricional a redução da viscosidade do bolo alimentar no lúmen intestinal (OUHIDA et al., 2000).

A fitase, produzida pelo fungo *Aspergillus niger*, atua no fósforo fítico, denominação dada ao fósforo que faz parte da molécula do ácido fítico ou hexafosfato de inositol, encontrado somente nos vegetais (LENHNINGER, 1984). Sua presença interfere na absorção de fósforo, cálcio, zinco, ferro, potássio, manganês e outros elementos, os quais são complexados e não podem ser absorvidos, pois as aves não sintetizam a fitase em quantidades suficientes para hidrolizar o complexo (FERNANDES, 2005). Os sais de ácido fítico, também chamados de fitina ou fitato, são considerados fatores antinutricionais por formarem complexos insolúveis no trato digestório e afetarem a disponibilidade de cátions, carboidratos, aminoácidos (SEBASTIAN et al., 1996), e enzimas como a tripsina, quimotripsina e amilase (SCHOULTEN, 2001). Estes fatores antinutricionais além de afetar a disponibilidade dos nutrientes, também aumentam a concentração dos mesmos nas excretas, resultando na poluição ambiental e contaminação do solo e das águas subterrâneas. De acordo com Fernandes e Malaguido (2004), os dejetos animais

normalmente possuem entre 70 a 90% do fósforo ingerido pelos animais na forma orgânica e inorgânica. Deste modo, a utilização de enzimas pode ser um meio de se reduzir o poder poluente dos dejetos, uma vez que aumenta o aproveitamento dos nutrientes da ração pelos animais, diminuindo a excreção de nutrientes no ambiente.

Sendo as rações compostas por vários ingredientes, faz-se necessário utilizar preparados enzimáticos contendo diferentes enzimas (CAMPESTRINI et al., 2005) e em diferentes proporções, na tentativa de aumentar os benefícios sobre o desempenho dos animais (GIACOMETTI, 2002). Porém, nem sempre as rações suplementadas com enzimas digestivas proporcionam respostas positivas. Segundo Henn (2002), para que as enzimas atuem satisfatoriamente é necessário não só a presença do substrato específico na ração como também a dosagem correta de enzimas. Estas devem suportar a temperatura à qual a ração é submetida durante o processo de peletização, além de possuírem a capacidade em ultrapassar barreiras encontradas no estômago, como pH baixo e ação das enzimas proteolíticas como a pepsina.

2.5 Efeitos da utilização de enzimas exógenas digestivas no desempenho de frangos de corte

A combinação entre grãos de cereais, oleaginosas e farelos de oleaginosas forma um conjunto de ingredientes essenciais para a produção de rações avícolas. Porém, além de fornecerem nutrientes são fontes primárias de fatores antinutricionais (HUGHES; CHOCT, 1999). Como um meio de solucionar estes problemas nas rações à base de grãos, as enzimas vêm sendo largamente usadas, pois podem amenizar os fatores antinutricionais presentes em muitos alimentos ou também atuar aumentando a disponibilidade de glicose, proteínas e minerais presentes nas paredes das células vegetais ou ligados a uma forma química que o animal não tem capacidade de degradar (FERNANDES, 2005).

Gracia et al. (2003) realizaram um experimento com frangos de corte alimentados com ração à base de milho e farelo de soja acrescida de enzima alfa-amilase e detectaram melhora de 9,4% no ganho de peso e 4,2% na conversão alimentar, concluindo que a suplementação enzimática foi eficiente. Ritz et al. (1995) observaram aumento de 3% no ganho de peso diário e 4% no consumo de ração de frangos, até 21 dias de idade, alimentados com ração à base de milho e farelo de soja acrescida de complexo enzimático, no qual a enzima amilase foi predominante. Porém, Santos et al. (2006) não obtiveram a mesma eficiência ao incorporar

enzimas (amilase, xilanase e protease) em rações à base de sorgo e farelo de soja. Ao avaliar o desempenho, peso dos órgãos do trato gastrointestinal e análise econômica da produção de frangos de corte encontraram como resposta dos animais suplementados aumento significativo no peso relativo dos órgãos proventrículo, moela, pâncreas, jejuno e íleo, entretanto observaram redução significativamente no rendimento de carcaça, além do aumento no custo de ração por quilo de carne produzido.

O efeito da alfa-amilase para frangos de corte também foi estudado por Brum et al. (2005), que objetivavam verificar o efeito da suplementação desta enzima em rações, superestimando ou não a energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMAn) do farelo de soja em diferentes níveis (3, 5, 7 e 9%). Os autores concluíram que a EMAn do farelo de soja pode ser superestimada em até 9% quando a suplementação das rações forem feitas com alfa-amilase, sem afetar o consumo de ração, peso corporal, ganho de peso e conversão alimentar, considerando o período de 1 a 41 dias de idade. No entanto, Fischer et al. (2002), estudando rações à base de milho e farelo de soja, e superestimando a energia, proteína e aminoácidos em 5%, com e sem complexo enzimático (protease, amilase e celulase) observaram que o desenvolvimento das aves que consumiram ração com enzimas não se igualou ao daquelas arraçadas com ração normal sem enzimas.

Yu e Chung (2004) verificaram que a adição de complexo enzimático composto por amilase, xilanase e beta-glucanase em rações com redução de 3% de EM para frangos de corte resultou em desempenho semelhante ao obtido com dieta controle.

Zanella et al. (1999) obtiveram melhora da digestibilidade da dieta e do desempenho de frangos de corte com a adição de complexos enzimáticos (amilase, protease e xilanase) em dietas à base de milho e farelo de soja. Eles atribuíram estes resultados ao favorecimento da síntese protéica no tecido muscular pela maior disponibilização dos aminoácidos, já que a inclusão de enzimas reduziu a produção endógena de amilase em 23,4% e a de tripsina pancreática em 35,8%.

Utilizando a suplementação de amilase na ração de pintos, Gracia et al. (2003) verificaram que a digestibilidade aparente do amido foi aumentada de 96,2% aos 7 dias para 98,0% aos 28 dias de idade das aves, melhorando a utilização de energia da ração, assim como proporcionou um maior consumo e melhor conversão alimentar.

Lázaro et al. (2003) realizaram um experimento em que as aves foram alimentadas com uma ração à base de centeio e farelo de soja no período de 4 a 25 dias de idade, conseguiram melhor peso corporal e conversão alimentar quando foi utilizado mistura de xilanase e β -glucanase.

Estudos realizados por Strada et al. (2005), utilizando rações formuladas com valores superestimados em 9% para EM e 7% para aminoácidos, suplementadas com complexo enzimático, demonstraram melhor eficiência na utilização de EM e dos aminoácidos (Met, Met + Cis e Lis). Os autores concluíram que a redução da densidade energética e aminoacídica das rações à base de farelo de soja e milho, contendo complexo enzimático, não comprometeram o desempenho de frangos de corte, podendo ser um recurso na redução dos custos de produção.

Avaliando a relação da xilanase com a fitase na ração de frangos de corte Conte et al. (2003) 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 ração. Esse efeito causado pela adição de xilanase possivelmente confirma sua ação sobre a digestibilidade de nutrientes, como exemplo os PNAs, possibilitando um aumento da energia metabolizável das rações.

Brito et al. (2006), avaliando o efeito da suplementação de enzimas exógenas (protease, celulase e amilase) em rações com soja extrusada para de pintos de corte, verificaram que essa adição melhorou o ganho de peso em 3,8% e a conversão alimentar em 4,2% de pintos de corte de 1 a 21 dias de idade. Esses dados demonstram a eficiência conferida às aves alimentadas com enzimas exógenas em suas rações, de modo a repercutir diretamente na redução dos custos de produção, pelo fato de possibilitar a redução dos níveis energéticos e protéicos das rações. Por outro lado, Buchanan et al. (2007) não encontraram benefícios da suplementação com enzimas exógenas para frangos orgânicos alimentados com redução de 7% do aporte energético através de diluição com areia lavada.

O uso de enzimas pode favorecer a indústria avícola por possibilitar flexibilidade nas formulações de rações e também melhorar a qualidade do ambiente de produção com a redução da umidade das excretas, colaborando para a conservação dos recursos naturais e afetando menos o meio ambiente.

2.6 Betaína

2.6.1 Definição

Betaína é um derivado do aminoácido glicina com três grupos de metila ligados ao átomo de nitrogênio desta molécula e por esta razão, também é conhecida como aminoácido metilado, trimetilglicina, oxineurina ou ainda amina quaternária. Apresenta baixo peso molecular, propriedade não tóxica e estabilidade sob altas temperaturas (200°C), sendo acumulada naturalmente nas células das mais variadas espécies de vegetais e animais expostos à estresses como alta temperatura, salinidade e aridez (HOLMSTRÖM et al., 2000).

Desde a década de 1940, os efeitos significativos da betaína vêm sendo estudados na nutrição avícola devido a sua estrutura química (Figura 1) ser de grande importância para as funções de osmoproteção e doação de grupos metil (ALMIQUIST; GRAU, 1944).

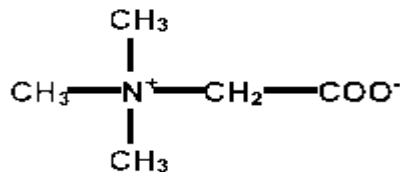


Figura 1 – Estrutura química da molécula de betaína

Fonte: Stryer (1988)

Como produto comercial pode ser encontrada na forma natural, obtida através de separação por cromatografia a partir do melão da beterraba açucareira, pertencente à família *Chenopodiaceae*, onde está presente em altas quantidades, ou na forma sintética como anidros de betaína, betaína monofosfatada ou betaína hidrocloreada.

Pesquisas têm mostrado que, como osmólito, a betaína pode causar efeitos positivos sobre o desempenho de frangos de corte, melhorar as características de carcaça e a digestibilidade

dos nutrientes em aves infectadas ou não por coccidiose, e como doadora de grupos metil, pode poupar o uso de colina e diminuir o nível de inclusão de metionina nas rações sem afetar o desempenho dos animais.

2.6.2 Atuação da betaína como osmoprotetora

As propriedades osmoprotetoras que cabem a betaína relacionam-se à sua característica bipolar e a alta solubilidade em água, sendo assim classificada como osmólito orgânico que, por definição, é toda substância capaz de afetar o movimento da água, acumulando-a rapidamente em nível intracelular, sem alterar o metabolismo entre célula e mitocôndria (CHAMBERS; KUNIN, 1985). Nas plantas, estes compostos orgânicos têm um papel fundamental no ajustamento osmótico (osmorregulação) do citoplasma durante a resposta ao estresse osmótico. O seu acúmulo em células de plantas auxilia na absorção de água e pressão de turgor da célula, que contribuem para a manutenção dos processos fisiológicos, como abertura de estômatos, fotossíntese e crescimento da planta (HOLMSTRÖM et al., 2000). Nos animais, a betaína como osmólito tem ação conhecida em células renais de mamíferos, intestino delgado, ceco, cloaca (FERRARIS et al., 1996) e fibroblastos embriônicos (PETRONINI et al., 1992) de aves.

A osmorregulação é um mecanismo realizado pela célula para manter sua estrutura, volume e funcionalidade através da regulação do movimento de água intra e extracelular. A incapacidade das células de reter água, faz indispensável a presença de osmólito, que em situações de desidratação celular, agem na manutenção de balanço hídrico e iônico minimizando a perda de água durante o gradiente de osmose (KLASING et al., 2002; PETRONINI et al., 1992).

A água é um nutriente essencial que afeta praticamente todas as funções fisiológicas do organismo. Parte da energia interna do corpo é disponibilizada para manter o volume de água relativamente constante no interior das células, estimando-se que 30 a 60% da energia de manutenção utilizada dentro dos órgãos viscerais está associada ao mecanismo da bomba de sódio-potássio ATPase (McBRIDE; KELLY, 1990; REMUS, 2001). Com a adição de betaína às rações, a energia antes gasta para a manutenção celular é destinada para outros processos metabólicos de produção e crescimento.

Resultados de alguns estudos têm demonstrado que suínos em crescimento usam uma quantidade surpreendente da energia de manutenção (40 a 50%) para conservar o equilíbrio osmótico (movimento da água) no intestino e em outras vísceras. A betaína dietética tem sido responsável por poupar parte desta energia que poderá ser então, usada para o crescimento e deposição de carne magra em suínos que recebem um suprimento adequado de aminoácidos. Assim, ao reduzir a exigência de energia de manutenção dos animais através da melhoria da osmoproteção, a betaína poderá ajudar na absorção de nutrientes e contribuir para melhorar o desempenho dos suínos (PARTRIDGE, 2002, 2003). Com a melhor integridade intestinal, diminui o excedente de substrato no trato gastrintestinal e, conseqüentemente, os desafios causados por patógenos no organismo são minimizados. O trato gastrintestinal das aves é o sistema que mais sofre agressões devido à alta velocidade de passagem do bolo alimentar, alterando a conversão alimentar e, conseqüentemente, o custo do frango (MAIORKA et al., 2003).

Entre as doenças mais comuns da avicultura de corte, o principal causador de distúrbios fisiológicos é a coccidiose causada por protozoários do gênero *Eimeria*. Esta doença pode resultar em diminuição na absorção intestinal, redução da taxa de crescimento e aumento da conversão alimentar, contribuindo para um menor desempenho das aves (AUGUSTINE; DANFORTH, 1999). A adição de betaína em rações de frangos de corte inoculadas com diferentes espécies de *Eimeria* tem mostrado efeitos positivos no balanço hídrico no organismo destes animais (AUGUSTINE; DANFORTH, 1999; MATTHEWS et al., 1997). Virtanen e Rossi (1995) constataram que, a betaína reduz os escores de lesão intestinal nas aves expostas a *E. tenella*, *E. acervulina* e *E. máxima*, desde que a presença do coccídio na célula intestinal tenha criado algum tipo de desafio.

Estudos demonstraram que o contato inicial dos esporozoítos (estágio do ciclo de vida do coccídio – oocisto maduro) com a mucosa intestinal gera uma resposta inflamatória caracterizada por marcante infiltração celular no local da infecção (ROSE et al., 1979). Esta infiltração consiste de diversas subpopulações de leucócitos, macrófagos, granulócitos e linfócitos que poderiam modular e aumentar a resposta imune; porém, uma vez que são levados ao local da infecção ocorre alteração na absorção de nutrientes e conseqüentemente diminui o ganho de peso. A alteração da mucosa intestinal pode facilitar o estabelecimento de infecções secundárias causadas por bactérias e vírus (BARKER, 1993).

O custo elevado da ração faz com que a indústria avícola busque alternativas nutricionais que podem levar a erros ao formular rações com excesso de fibras, de proteínas não digestíveis ou mesmo de subprodutos, ainda em estudos, que podem ser impróprios ao consumo animal. Quando ingeridas, estas matérias primas podem alterar o correto funcionamento gastrointestinal e propiciar este meio à patógenos. Com a presença da betaína nos enterócitos do epitélio intestinal, pode-se garantir a manutenção do balanço hídrico e assim, mesmo em presença de patógenos, conseguir manter a atividade celular, promovendo a capacidade de absorção de nutrientes importantes durante o desafio.

Num experimento realizado por Mooney et al. (1998), frangos de corte que tiveram em sua dieta a inclusão de betaína perderam menores quantidades de água comparando aos frangos controle, quando expostos a estresse cíclicos de temperatura e/ou desafio por coccidiose. Em perus e frangos, a inclusão de betaína na ração proporcionou redução de água nas excretas (REMUS et al., 1995).

Kettunen (2001), trabalhando com frangos de corte, observou que a dieta com betaína não somente aliviou o efeito da infecção causada pela coccidiose, como também estabilizou a estrutura da mucosa minimizando os danos causados sem reduzir o ganho de peso.

Em experimentos conduzidos por Waldenstedt et al. (2000), para avaliar os efeitos dos diferentes fatores da alimentação sobre a performance de frangos durante as infecções coccidianas, os autores observaram que uma dieta à base de trigo em combinação com vitaminas A, D3, E, C, K3 e selênio não influenciou na resistência das aves contra a infecção, mas que ao adicionar betaína na ração, houve uma influência positiva sobre o ganho de peso em aves inoculadas e não inoculadas com *Eimeria*.

A capacidade do trato digestivo dos frangos durante a primeira semana de vida pode ser considerada um fator limitante para o consumo de alimento, digestão e absorção de nutrientes para o crescimento. Assim, substâncias que tenham ação trófica sobre a mucosa intestinal, aumentando sua capacidade funcional, poderão propiciar melhor desempenho das aves pela maior capacidade de digerir e absorver os nutrientes fornecidos na dieta (MAIORKA et al., 2003). Nesse sentido, a suplementação de betaína na dieta das aves parece ser uma alternativa para melhorar o desenvolvimento da mucosa na primeira semana pós-eclosão.

2.6.3 Atuação da betaína como fonte doadora de grupo metil

Além de a betaína apresentar importante função na manutenção do equilíbrio osmótico e iônico, também atua como fonte doadora de grupos metil (CH_3), que são compostos importantes para reações metabólicas, desde a metilação de DNA, RNA e membranas celulares lipídicas até a síntese de metionina, carnitina e creatina (STRYER, 1988). Segundo Kettunen et al. (2001), a betaína é a única fonte doadora prontamente ativa de grupos metil. Esta função da betaína é muito comum nos animais vertebrados, pois eles não são capazes de sintetizá-los necessitando obtê-los da dieta.

A betaína pode ser sintetizada na mitocôndria a partir da colina, mas seu ritmo de síntese não é suficientemente elevado; por esta razão, sua suplementação nas rações favorece o rendimento animal (REMUS, 2000). Assim como a betaína, outros elementos podem doar grupamentos metil, tais como a colina e a metionina (KETTUNEN et al., 2001), porém estes precisam passar por transformações para serem utilizados pelos animais. Através da oxidação na mitocôndria celular, a colina deve ser convertida em betaína, para ser aproveitada no processo de metilação, e a metionina ativada através da síntese S-adenosil-metionina (SAM), principal doador de grupos metil (BETANCOURT, 1999) (Figura 2). A betaína pode substituir a colina apenas como doadora de grupo metil, porém a betaína não cumpre os demais papéis metabólicos da colina. Em observações feitas por Tiihonen et al. (1997) apud Remus (2000), verifica-se que a maior parte da colina já está ligada aos fosfolipídios quando atingem o sistema gastrointestinal das aves. Sendo necessária a colina na forma livre (não ligada) para a conversão em betaína, o baixo nível de colina limita a quantidade de betaína que pode ser formada por essa via. Além disso, a eficiência de conversão da colina para betaína varia entre diferentes espécies, sendo que os trabalhos encontrados na literatura indicam uma variação entre 50 a 60%.

Ao ser utilizada nas reações de metilação, e ao metilar a betaína-homocisteína, a betaína também se comporta como uma fonte indireta de metionina. Desta forma, o uso da betaína nas formulações de rações possibilita baratear custos ao ajustar a inclusão de colina e metionina (PARTRIDGE, 2002; 2003).

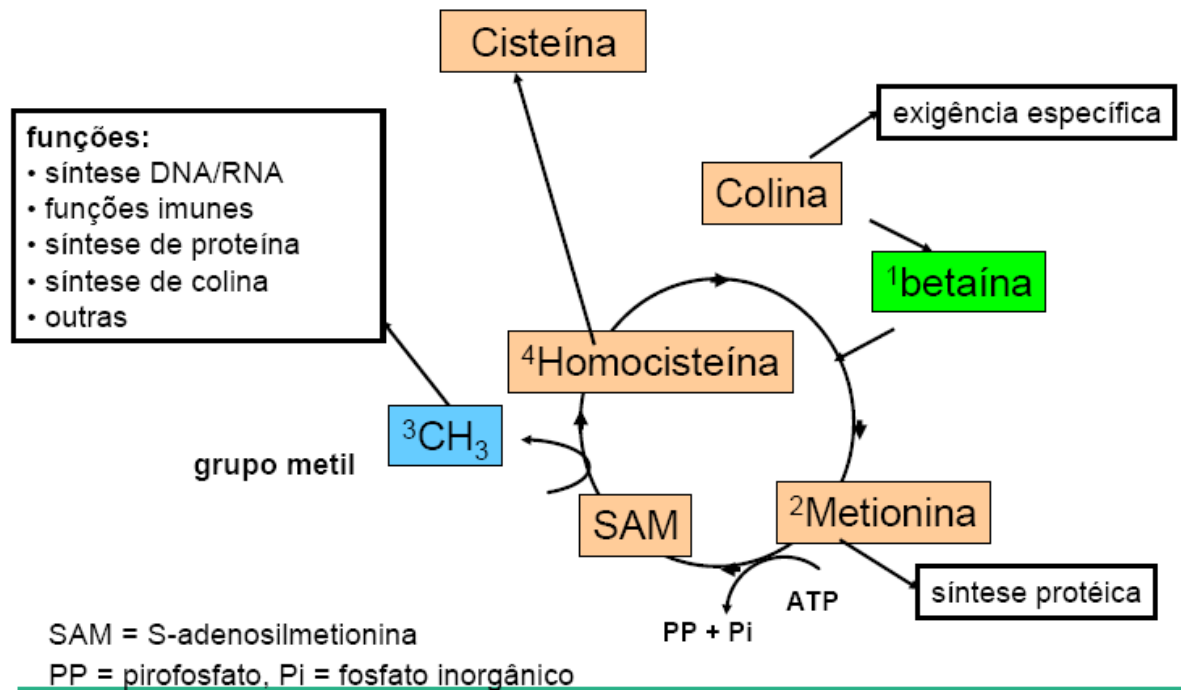


Figura 2 - Ciclo da transmetilação

Fonte: Btech Tecnologias Agropecuárias e Comércio Ltda

A betaína tem sido vista como uma aliada à produção animal por minimizar os danos causados por desordens fisiológicas e, assim, atuar como uma ferramenta de grande importância nos períodos em que os animais são expostos a desafios como coccidiose, estresse calórico, e transporte, além de diminuir o custo de produção. Baseado nessa propriedade, pesquisas vêm sendo realizadas para investigar o potencial efeito da suplementação da betaína no desempenho animal (EKLUND; COLS, 2005; VIRTANEN et al., 1996).

2.6.4 Efeito da suplementação da betaína no desempenho de frangos de corte

Turker et al. (2004) relataram que frangos de corte tratados com betaína obtiveram maior ganho de peso e eficiência alimentar, não interferindo no consumo de ração, rendimento de carcaça, da carne de peito e porcentagem de gordura abdominal. O fornecimento de 0,10 e 0,15% de betaína nas rações de aves submetidas a desafios ambientais como estresse calórico e coccidiose, proporcionou melhora na conversão alimentar e aumento no rendimento de peito (HRUBY, 2002). Schutte et al. (1997) também encontraram aumento no rendimento de peito de

frangos de corte alimentados com rações contendo betaína, mas não encontraram benefícios para o crescimento dos animais.

Klasing et al. (2002), ao testar níveis de 0,0; 0,05 e 0,10% de betaína numa dieta à base de milho e farelo de soja em frangos de corte infectados por *Eimeria acervulina*, observaram que a betaína dietética não afetou o ganho de peso, o consumo de ração e a eficiência alimentar até 14 dias de idade. Waldenstedt et al. (1999) também não encontraram diferença significativa entre os tratamentos para peso vivo, consumo de ração e conversão alimentar dos frangos de corte, que receberam rações à base de trigo e soja contendo os diferentes suplementos dietéticos: 0,10% de betaína; 0,10% de betaína mais 70 ppm de ionóforo; 70 ppm de ionóforo e nenhum aditivo, aos 10 dias de idade das aves, antes da infecção com uma mistura de espécie do gênero *Eimeria*.

Atualmente, os estudos do efeito de betaína no desempenho animal ainda são escassos. Dessa forma, são necessárias mais pesquisas para que se possa esclarecer e consolidar os efeitos da betaína dietética sobre o desempenho produtivo dos animais.

2.7 Material e métodos

2.7.1 Instalações experimentais e animais

Este experimento foi realizado em um galpão comercial de integração do Setor de Melhoramento Genético de Aves, Fazenda Sertãozinho, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, em Piracicaba, São Paulo.

O galpão utilizado tem estrutura metálica, é coberto com telhas de fibra de cimento amianto e o teto contém forro de rafia. As paredes laterais são constituídas por telas de arame e apresentam cortinas móveis internas e externas. Sua dimensão é de 20 m de frente por 100 m de comprimento, totalizando 2.000 m² que capacita criar até 25.000 aves. Porém, na época em que se realizou o experimento referente a este trabalho, foram alojados 23.400 frangos de corte (pintos de um dia de idade) machos, correspondendo a uma densidade próxima de 12 aves/m².

O experimento foi conduzido com as aves alojadas em 28 boxes móveis, construído em estrutura tubular metálica com as laterais fechadas por tela. Esses boxes foram distribuídos em quatro fileiras de sete boxes no sentido longitudinal do galpão. As fileiras tinham uma

distância de 2 m entre si e a distância entre um boxe e outro nas fileiras era de 8 m. Os boxes ocuparam um espaço correspondente a aproximadamente metade do aviário, ou seja, as 924 aves do experimento tinham em seu redor cerca de 11.700 frangos. Cada boxe tinha a área de 3 m² (2 m x 1,5 m) e 0,70 m de altura, sendo alojadas 33 aves por boxe; a unidade experimental foi constituída pelas aves de cada boxe.

Os boxes foram equipados com um bebedouro do tipo copo de pressão e um comedouro infantil durante a fase pré-inicial (1 a 7 dias) e um bebedouro do tipo pendular e um comedouro tubular com capacidade para 25 kg de ração durante as demais fases de criação (inicial - 7 a 21 dias; crescimento - 21 a 35 dias e final - 35 a 41 dias).

Foram utilizados 924 pintos machos da linhagem comercial Cobb 500, com peso médio inicial de 45,89 g [44,85 - 47,58 g] os quais foram criados desde o dia do alojamento (um dia de idade) até a idade de abate (41 dias de idade).

Os animais foram igualmente tratados desde o incubatório, onde receberam vacinas contra as doenças de Marek, Gumboro, Bronquite Infecciosa, Newcastle e Bouda Aviária. Foram criados nas mesmas condições de manejo adotados para as aves do galpão de integração, dentre eles o recebimento, via água, de dose reforço para as vacinas Gumboro e Newcastle, os registros de temperatura e mortalidade, horas de luz, limpeza diária dos bebedouros e a reposição de ração.

Do alojamento até o término da fase pré-inicial, o aquecimento foi feito por campânulas a gás distribuídas na razão de uma para cada dois boxes, sendo o restante do galpão também aquecido por campânulas a gás e elétricas. Por todo o período experimental, o ambiente foi monitorado com o auxílio de dois termômetros de máxima e mínima. O controle da temperatura ambiente foi feito com o auxílio de cortinas, ventiladores e aspersores, buscando-se um ambiente que proporcionasse o conforto térmico dos animais. As aves foram mantidas sob iluminação constante do dia do alojamento (23/03) até 18 dias de idade (09/04) e, devido ao aumento da mortalidade apresentada pelo lote, a partir desta idade ajustou-se o fornecimento de luz artificial para os seguintes horários: das 20h00min – 21h15min; 00h00min – 01h15min e 04h00min – 05h15min. A iluminação artificial foi mantida por lâmpadas incandescentes, distribuídas uniformemente por todo o aviário.

As médias de temperatura registradas em cada semana encontram-se na Tabela 1, indicando que os animais acima de três semanas de idade estiveram submetidos a estresse de calor.

Tabela 1 - Médias de temperaturas mínima e máxima diárias registradas durante o período experimental

Semanas	Temperatura (°C)	
	Mínima	Máxima
1	27,8	34,0
2	26,0	32,4
3	23,8	29,1
4	25,1	29,1
5	25,3	29,0
6	21,1	27,7

2.7.2 Tratamentos

Durante o período experimental foram utilizadas quatro rações distintas, sendo formuladas de modo a satisfazer as necessidades nutricionais das aves, em cada fase.

Apenas para as rações das fases de crescimento e final, os tratamentos em que foram incorporadas enzimas, tiveram a composição energética do milho supervalorizada, ou seja, considerou-se que um kg de milho disponibilizaria 140 kcal/EMAn a mais, levando a uma menor inclusão de óleo (fonte de energia) na composição da ração. Por outro lado, para a fase inicial, crescimento e final, os tratamentos em que foi feita a incorporação de betaína tiveram a retirada total de colina e 25% de metionina total, uma vez que a betaína pode realizar a função dos mesmos. Nesse sentido, foram testados quatro tratamentos:

- Controle – Tratamento controle: ração basal constituída por milho e farelo de soja;
- Enz – Tratamento enzima: ração com adição de enzimas (amilase, protease e xilanase);
- Bet – Tratamento betaína: ração com adição de betaína;
- Enz+Bet – Tratamento enzima e betaína: ração com adição de enzimas (amilase, protease e xilanase) e betaína.

As rações experimentais foram produzidas na fábrica de rações do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Para a produção foi utilizado um misturador vertical com capacidade para 500 kg e um misturador do tipo Y com capacidade para

30 kg. Para cada tratamento os aditivos (enzimas e betaína) foram previamente misturados aos demais microingredientes das rações em misturador tipo Y, por dez minutos, e posteriormente incorporados aos macroingredientes no misturador vertical, com tempo médio de mistura de 15 minutos. O milho foi triturado em moinho tipo martelo com peneira de crivos circulares, sendo de 3 mm para o período de 1 a 35 dias e 5 mm para 35 a 41 dias de idade.

O tratamento controle consistiu de uma ração padrão à base de milho e farelo de soja, formulada de acordo com as recomendações nutricionais da empresa Nutron Alimentos Ltda, de modo a atender as exigências nutricionais dos animais em cada fase de criação.

O produto comercial utilizado para fornecer enzimas aos tratamentos Enz e Enz+Bet foi AVIZYME[®] 1502, que é a combinação de amilase (800.000 U/kg) para agir no amido, protease (8.000.000 U/kg) para agir nas proteínas e xilanase (600.000 U/kg) para agir nas fibras. Para as quatro fases de criação (pré-inicial, inicial, crescimento e final) a recomendação de uso foi de 0,5 kg de AVIZYME[®] 1502/tonelada de ração, sendo “over the top” nas fases pré-inicial e inicial (adição de enzimas na ração controle) e com a supervalorização da composição energética do milho nas fases de crescimento e final.

O produto comercial utilizado para fornecer betaína aos tratamentos Bet e Enz+Bet foi BETAFIN[®] S1 (96% de pureza) que é à base de betaína extraída da beterraba açucareira. A recomendação de uso do BETAFIN[®] S1 foi de 1 kg/tonelada de ração nas fases pré-inicial e inicial e 0,75 kg/tonelada nas fases de crescimento e final, sendo “over the top” apenas na fase pré-inicial e substituindo parte de metionina e totalmente a colina nas demais fases (inicial, crescimento e final).

Independente dos tratamentos, as rações foram produzidas na forma física farelada e o fornecimento foi *ad libitum* durante todo o período experimental.

A composição percentual dos ingredientes e nutricional calculadas das rações pré-inicial, inicial, crescimento e final, encontram-se, respectivamente, nas Tabelas 2, 3, 4 e 5.

Tabela 2 – Composição percentual e nutricional calculada das rações experimentais fornecidas às aves na fase pré-inicial (1 a 7 dias)

Ingredientes	Tratamentos			
	Controle	Enz	Bet	Enz+Bet
Milho grão	53,773	53,674	53,573	53,470
Farelo de soja	40,219	40,236	40,253	40,269
Óleo de soja	1,911	1,946	1,980	2,015
Fosfato bicálcico	1,917	1,917	1,917	1,918
Calcário calcítico	0,974	0,974	0,974	0,974
Sal refinado	0,466	0,466	0,466	0,467
DL-Metionina 98%	0,333	0,334	0,334	0,334
L-Lisina.HCl 78%	0,129	0,128	0,128	0,128
Cloreto de Colina 60%	0,048	0,048	0,048	0,048
L-Treonina	0,040	0,040	0,040	0,040
Supl. vitamínico ¹	0,110	0,110	0,110	0,110
Supl. mineral ²	0,050	0,050	0,050	0,050
Betaína ³	-	-	0,100	0,100
Enzimas ⁴	-	0,050	-	0,050
Agente anticoccidiano ⁵	0,011	0,011	0,011	0,011
Antioxidante ⁶	0,010	0,010	0,010	0,010
Promotor de crescimento ⁷	0,006	0,006	0,006	0,006
Total (kg)	100	100	100	100
Composição nutricional calculada				
EM (kcal/kg)	2.950	2.950	2.950	2.950
PB (%)	23,00	23,00	23,00	23,00
Met. + cis. dig. (%)	0,947	0,947	0,947	0,947
Metionina dig. (%)	0,624	0,624	0,624	0,624
Lisina dig. (%)	1,250	1,250	1,250	1,250
Treonina dig. (%)	0,787	0,787	0,788	0,787
Colina (mg/kg)	1.700	1.700	1.700	1.700
Fósforo disp. (%)	0,460	0,460	0,460	0,460
Cálcio (%)	0,960	0,960	0,960	0,960

¹ Concentração por kg de ração: ác. fólico, 1,1 mg; ác. pantotênico, 16,5 mg; antioxidante, 5,5 g; biotina, 0,066 mg; niacina, 44 mg; selênio, 0,33 mg; vit. A, 8.800 UI; vit. D₃, 2.200 UI; vit. E, 16,5 mg; vit. K₃, 1,98 mg; vit. B₁, 1,98 mg; vit. B₂, 6,6 mg; B₆, 3,08 mg vit. B₁₂, 13,2 µg.

² Concentração por kg de ração: manganês, 75 mg; zinco, 70 mg; ferro, 50 mg; cobre, 8 mg; iodo, 075 mg.

³ Betafin S1 (96% de pureza).

⁴ Avizyme 1502.

⁵ Nicarbazina (100%).

⁶ Etoxiquim Pó (66,6%).

⁷ Virginiamicina, 40 mg/kg; Halquinol (98%), 20 mg/kg de ração.

Nota: Sinal convencional utilizado:

- Dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento.

Tabela 3 – Composição percentual e nutricional calculada das rações experimentais fornecidas às aves na fase inicial (7 a 21 dias)

Ingredientes	Tratamentos			
	Controle	Enz	Bet	Enz+Bet
Milho grão	56,346	56,245	56,303	56,202
Farelo de soja	36,651	36,668	36,685	36,702
Óleo de soja	3,039	3,073	3,108	3,142
Fosfato bicálcico	1,899	1,899	1,900	1,900
Calcário calcítico	0,981	0,981	0,981	0,981
Sal refinado	0,415	0,415	0,415	0,415
DL-Metionina 98%	0,314	0,314	0,198	0,198
L-Lisina.HCl 78%	0,113	0,113	0,113	0,113
Cloreto de Colina 60%	0,045	0,045	-	-
L-Treonina 98%	0,026	0,026	0,026	0,026
Supl. vitamínico ¹	0,100	0,100	0,100	0,100
Supl. mineral ²	0,050	0,050	0,050	0,050
Betaína ³	-	-	0,100	0,100
Enzimas ⁴	-	0,050	-	0,050
Agente anticoccidiano ⁵	0,005	0,005	0,005	0,005
Antioxidante ⁶	0,010	0,010	0,010	0,010
Promotor de crescimento ⁷	0,006	0,006	0,006	0,006
Total (kg)	100	100	100	100
Composição nutricional calculada				
EM (kcal/kg)	3.050	3.050	3.050	3.050
PB (%)	21,50	21,50	21,40	21,40
Met. + cis. dig. (%)	0,898	0,897	0,784	0,784
Metionina dig. (%)	0,606	0,606	0,492	0,491
Lisina dig. (%)	1,150	1,150	1,150	1,150
Treonina dig. (%)	0,724	0,725	0,725	0,725
Colina (mg/kg)	1.600	1.600	1.363	1.362
Fósforo disp. (%)	0,664	0,664	0,664	0,664
Cálcio (%)	0,925	0,925	0,925	0,925

¹ Quantidade por kg de ração: ác. fólico, 1 mg; ác. pantotênico, 15 mg; antioxidante, 0,05 mg; biotina, 0,06 mg; niacina, 40 mg; selênio, 0,3 mg; vit. A, 8000 UI; vit. D₃, 2000 UI; vit. E, 15 UI; vit. K₃, 1,8 mg; vit. B₁, 1,8 mg; vit. B₂, 6 mg; vit. B₆, 2,8 mg; vit. B₁₂, 12 µg.

² Quantidade por kg de ração: manganês, 75 mg; zinco, 70 mg; ferro, 50 mg; cobre, 8 mg; iodo, 075 mg.

³ Betafín S1 (96% de pureza).

⁴ Avizyme 1502.

⁵ Nicarbazina (100%).

⁶ Etoxiquim Pó (66,6%).

⁷ Virginiamicina, 40 mg/kg; Halquinol (98%), 20 mg/kg de ração.

Nota: Sinal convencional utilizado:

- Dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento.

Tabela 4 – Composição percentual e nutricional calculada das rações experimentais fornecidas às aves na fase de crescimento (21 a 35 dias)

Ingredientes	Tratamentos			
	Controle	Enz	Bet	Enz+Bet
Milho grão	60,898	-	60,842	-
Milho valorizado 140 kcal/kg	-	62,819	-	62,755
Farelo de soja	30,124	29,804	30,149	29,830
Óleo de soja	4,968	3,314	5,019	3,370
Fosfato bicálcico	1,799	1,797	1,800	1,797
Calcário calcítico	0,842	0,844	0,842	0,844
Sal refinado	0,419	0,418	0,419	0,418
DL-Metionina 98%	0,340	0,338	0,300	0,300
L-Lisina.HCl 78%	0,243	0,249	0,243	0,249
Cloreto de Colina 60%	0,056	0,055	-	-
Treonina 98%	0,090	0,091	0,090	0,091
Supl. vitamínico ¹	0,100	0,100	0,100	0,100
Supl. mineral ²	0,050	0,050	0,050	0,050
Betaina ³	-	-	0,075	0,075
Enzimas ⁴	-	0,050	-	0,050
Agente anticoccidiano ⁵	0,055	0,055	0,055	0,055
Antioxidante ⁶	0,010	0,010	0,010	0,010
Promotor de crescimento ⁷	0,006	0,006	0,006	0,006
Total (kg)	100	100	100	100
Composição nutricional calculada				
EM (kcal/kg)	3.230	3.230	3.230	3.230
PB (%)	19,00	19,00	18,90	18,90
Met. + cis. dig. (%)	0,865	0,867	0,827	0,830
Metionina dig. (%)	0,600	0,599	0,560	0,561
Lisina dig. (%)	1,090	1,090	1,090	1,090
Treonina dig. (%)	0,698	0,698	0,698	0,698
Colina (mg/kg)	1.500	1.500	1.207	1.210
Fósforo disp. (%)	0,420	0,420	0,420	0,420
Cálcio (%)	0,860	0,860	0,860	0,860

¹ Quantidade por kg de ração: ác. fólico, 1 mg; ác. pantotênico, 15 mg; antioxidante, 0,05 mg; biotina, 0,06 mg; niacina, 40 mg; selênio, 0,3 mg; vit. A, 8000 UI; vit. D₃, 2000 UI; vit. E, 15 UI; vit. K₃, 1,8 mg; vit. B₁, 1,8 mg; vit. B₂, 6 mg; vit. B₆, 2,8 mg; vit. B₁₂, 12 µg.

² Quantidade por kg de ração: manganês, 75 mg; zinco, 70 mg; ferro, 50 mg; cobre, 8 mg; iodo, 075 mg.

³ Betafin S1 (96% de pureza).

⁴ Avizyme 1502.

⁵ Salinomicina, 66 mg/kg.

⁶ Etoxiquim Pó (66,6%).

⁷ Virginiamicina, 40 mg/kg; Halquinol (98%), 20 mg/kg de ração.

Nota: Sinal convencional utilizado:

- Dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento.

Tabela 5 – Composição percentual e nutricional calculada das rações experimentais fornecidas às aves na fase final (35 a 41 dias)

Ingredientes	Tratamentos			
	Controle	Enz	Bet	Enz+Bet
Milho grão	63,288	-	63,205	-
Milho valorizado 140 kcal/kg	-	65,288	-	65,196
Farelo de soja	27,778	27,446	27,803	27,472
Óleo de soja	5,186	3,466	5,238	3,522
Fosfato bicálcico	1,708	1,705	1,708	1,706
Calcário calcítico	0,861	0,862	0,860	0,862
Sal refinado	0,420	0,420	0,420	0,420
DL-Metionina 98%	0,289	0,287	0,268	0,268
L-Lisina.HCl 78%	0,201	0,207	0,200	0,206
Cloreto de Colina 60%	0,046	0,046	-	-
L-Treonina 98%	0,063	0,063	0,063	0,063
Supl. vitamínico ¹	0,100	0,100	0,100	0,100
Supl. mineral ²	0,050	0,050	0,050	0,050
Betaina ³	-	-	0,075	0,075
Enzimas ⁴	-	0,050	-	0,050
Antioxidante ⁵	0,010	0,010	0,010	0,010
Total (kg)	100	100	100	100
Composição nutricional calculada				
EM (kcal/kg)	3.270	3.270	3.270	3.270
PB (%)	18,00	18,00	17,99	17,99
Met. + cis. dig. (%)	0,798	0,800	0,783	0,780
Metionina dig. (%)	0,539	0,538	0,518	0,519
Lisina dig. (%)	1,000	1,000	1,000	1,000
Treonina dig. (%)	0,640	0,640	0,640	0,640
Colina (mg/kg)	1.400	1.400	1.156	1.159
Fósforo disp. (%)	0,400	0,400	0,400	0,400
Cálcio (%)	0,840	0,840	0,840	0,840

¹ Quantidade por kg de ração: ác. fólico, 1 mg; ác. pantotênico, 15 mg; antioxidante, 0,05 mg; biotina, 0,06 mg; niacina, 40 mg; selênio, 0,3 mg; vit. A, 8000 UI; vit. D₃, 2000 UI; vit. E, 15 UI; vit. K₃, 1,8 mg; vit. B₁, 1,8 mg; vit. B₂, 6 mg; vit. B₆, 2,8 mg; vit. B₁₂, 12 µg.

² Quantidade por kg de ração: manganês, 75 mg; zinco, 70 mg; ferro, 50 mg; cobre, 8 mg; iodo, 075 mg.

³ Betafin S1 (96% de pureza).

⁴ Avizyme 1502.

⁵ Etoxiquim Pó (66,6%).

Nota: Sinal convencional utilizado:

- Dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento.

Aos sete, 21, 35 e 41 dias de idade, as aves e as sobras de ração foram pesadas para avaliar o consumo médio de ração, o peso médio, o ganho de peso médio e a conversão alimentar. Também foram determinadas a viabilidade criatória, o custo e o fator de produção.

2.7.3 Delineamento experimental e análise dos dados

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso composto por quatro tratamentos e sete repetições, com 33 aves em cada boxe.

Para a análise estatística as variáveis foram submetidas à análise de variância pelo PROC GLM (General Linear Model) do SAS (Statistical Analysis System, 2001) e no caso de diferenças significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey em nível de significância de 5%.

2.8 Resultados e discussão

2.8.1 Desempenho

Os resultados de peso médio (PM), consumo médio de ração (CMR), ganho de peso médio (GPM), conversão alimentar (CA) e viabilidade (VC) dos animais submetidos aos tratamentos relativos aos períodos 1 a 7, 1 a 21, 1 a 35 e 1 a 41 dias encontram-se nas Tabelas 6, 7, 8 e 9, respectivamente.

Tabela 6 – Peso médio (PM) e viabilidade criatória (VC) aos 7 dias, consumo médio de ração (CMR), ganho médio de peso (GMP) e conversão alimentar (CA) de 1 a 7 dias de idade

Tratamentos	PM (kg)	CMR (kg)	GMP (kg)	CA	VC (%)
Controle	0,190	0,153	0,143	1,064	100
Enz	0,188	0,156	0,142	1,098	100
Bet	0,184	0,154	0,138	1,115	100
Enz+Bet	0,189	0,157	0,143	1,098	99,57
CV (%) ¹	2,65	3,75	3,44	3,89	0,57

¹ Coeficiente de variação

No período de 1 a 7 dias, em que betaína e enzimas foram incorporadas na ração “over the top”, não se detectou diferença significativa ($P>0,05$) para as variáveis analisadas. Entretanto, em outro estudo com frangos de corte suplementados com enzima alfa-amilase foi observado maior ganho diário de peso ($P<0,05$) e melhor conversão alimentar ($P<0,05$) (GRACIA et al., 2003).

Tabela 7 – Peso médio (PM) e viabilidade criatória (VC) aos 21 dias, consumo médio de ração (CMR), ganho médio de peso (GMP) e conversão alimentar (CA) de 1 a 21 dias de idade

Tratamentos	PM (kg)	CMR (kg)	GMP (kg)	CA	VC (%)
Controle	0,934 ^a	1,274 ^{ab}	0,889 ^a	1,434 ^a	99,13 ^a
Enz	0,932 ^a	1,303 ^a	0,886 ^a	1,471 ^a	99,13 ^a
Bet	0,923 ^a	1,278 ^{ab}	0,872 ^a	1,466 ^a	100 ^a
Enz+Bet	0,910 ^a	1,232 ^b	0,864 ^a	1,442 ^a	98,27 ^a
CV (%) ¹	2,29	2,68	2,53	3,60	1,83

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

¹ Coeficiente de variação

Para o período de 1 a 21 dias de idade, em que enzimas foram incorporadas na ração de modo “over the top”, detectou-se o menor consumo médio de ração ($P<0,05$) para o tratamento Enz+Bet quando comparado com o tratamento acrescido apenas de enzimas, porém sem afetar o ganho diário de peso ($P>0,05$) e a conversão alimentar ($P>0,05$). Não houve diferença significativa ($P<0,05$) para as variáveis de desempenho analisadas quando os frangos de corte foram suplementados com complexo enzimático (amilase, protease e xilanase). Resultados

semelhantes foram encontrados por Fischer et al. (2002), que, estudando rações à base de milho e farelo de soja, superestimando a energia, proteína e aminoácidos em 5%, com e sem enzimas (protease, amilase e celulase) não obteve melhora no desempenho ($P>0,05$) de frangos de corte. Entretanto, Brum et al. (2007), apesar de não observarem diferenças significativas ($P>0,05$) para o consumo de ração, peso médio e ganho de peso, relataram que a conversão alimentar de frangos de corte apresentou efeito linear ($P<0,05$) dos níveis de superestimação da EMAn do farelo de soja (3, 5, 7 e 9%) no período de 1 a 21 dias de idade.

Em recente pesquisa, Santos et al. (2006) não relataram diferenças significativas ($P>0,05$) para o consumo diário de ração, ganho diário de peso e conversão alimentar quando alimentaram frangos de corte com rações à base de sorgo e farelo de soja suplementados com protease, amilase e xilanase. Estes resultados estão de acordo com Costa (1996), que utilizando ração à base de milho e farelo de soja suplementada com carboidrase e protease também não obtiveram diferenças significativas para estas variáveis.

Os resultados encontrados na literatura são bastante controversos e pouco conclusivos. Como a resposta dos animais ao complexo enzimático é dependente do nível utilizado nas rações, bem como do tipo de enzima presente, torna-se difícil estabelecer uma comparação de resultados obtidos por diferentes autores.

No presente estudo, não foi detectada diferença significativa ($P>0,05$) para as variáveis de desempenho quando os frangos de corte foram alimentados com rações contendo betaína. Diferentemente deste resultado, Niang (2005), estudando níveis de inclusão de betaína (0,00, 0,05, 0,10 e 0,15%) nas rações de frangos de corte inoculados com *Eimeria acervulina*, durante 21 dias, relatou que as aves que receberam 0,10% de betaína apresentaram menor consumo de ração ($P<0,05$), porém sem afetar o ganho de peso ($P>0,05$) e a conversão alimentar ($P>0,05$). Entretanto, frangos de corte criados em baterias metálicas de 1 a 21 dias de idade inoculados aos 14 dias com uma mistura de *E. acervulina*, *E. máxima* e *E. tenella*, observaram que a adição de 0,15% de betaína contribuiu para a melhora do peso vivo ($P<0,05$) e conversão alimentar ($P<0,05$) (AUGUSTINE et al., 1997).

Tabela 8 – Peso médio (PM) e viabilidade criatória (VC) aos 35 dias, consumo médio de ração (CMR), ganho médio de peso (GMP) e conversão alimentar (CA) de 1 a 35 dias de idade

Tratamentos	PM (kg)	CMR (kg)	GMP (kg)	CA	VC (%)
Controle	2,258 ^a	3,539 ^a	2,212 ^a	1,599 ^b	98,26 ^a
Enz	2,236 ^a	3,570 ^a	2,190 ^a	1,630 ^{ab}	96,52 ^a
Bet	2,225 ^a	3,506 ^a	2,173 ^a	1,613 ^{ab}	98,26 ^a
Enz+Bet	2,108 ^b	3,392 ^b	2,061 ^b	1,644 ^a	96,53 ^a
CV (%) ¹	1,75	1,74	1,83	1,44	2,78

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

¹Coefficiente de variação

No período de 1 a 35 dias de idade, quando as suplementações de enzimas foram feitas considerando a supervalorização da composição energética do milho, a partir do 21º dia de experimento (de 21 a 35 dias) e de betaína com a valorização total e parcial, respectivamente, de colina e metionina, as aves recebendo os tratamentos Enz ou Bet tiveram desempenho semelhante ao controle ($P>0,05$). Este resultado pode ser interpretado como positivo pelo fato de a ração de crescimento do tratamento Enz conter 1,65% de óleo a menos e cerca de 2% de milho a mais do que a ração controle. Com base nos valores de EMAn dos ingredientes milho, farelo de soja 45 e óleo constantes das Tabelas Brasileiras (ROSTAGNO et al., 2005), essa alteração na composição da ração Enz da fase de crescimento resultou em uma redução de 152 kcal/kg. Desta forma, pode-se supor que tal diferença energética foi suprida pela suplementação enzimática. Entretanto, é possível que a liberação de energia do milho não tenha atingido plenamente o valor previsto (140 kcal/kg), uma vez que a conversão alimentar no período de 1 a 35 dias passou de cerca de 1,60 para o tratamento controle a 1,63 para o tratamento Enz.

A ração correspondente ao tratamento Bet na fase de crescimento continha 750 g/tonelada de betaína, a qual entrou na formulação substituindo parcialmente a suplementação de metionina (3,410 kg/tonelada) e totalmente o cloreto de colina 60 (560 g/tonelada). O ganho médio de peso aos 35 dias foi próximo de 40 g mais baixo que o do Controle, embora a diferença não tenha sido significativo ($P>0,05$).

Em vista da ausência de diferença significativa ($P>0,05$) no desempenho dos tratamentos Enz e Bet aos 35 dias, não há uma justificativa plausível para o menor consumo médio de ração e ganho médio de peso ($P<0,05$) das aves do tratamento Enz+Bet.

Tabela 9 – Peso médio (PM) e viabilidade criatória (VC) aos 41 dias, consumo médio de ração (CMR), ganho médio de peso (GMP) e conversão alimentar (CA) de 1 a 41 dias de idade e fator de produção (FP)

Tratamentos	PM (kg)	CMR (kg)	GMP (kg)	CA	VC (%)	FP
Controle	2,872 ^a	4,760 ^a	2,825 ^a	1,685 ^{ab}	97,40 ^a	398,46 ^a
Enz	2,869 ^a	4,823 ^a	2,822 ^a	1,709 ^a	98,10 ^a	385,34 ^{ab}
Bet	2,891 ^a	4,726 ^{ab}	2,831 ^a	1,670 ^b	95,67 ^a	397,61 ^a
Enz+Bet	2,767 ^b	4,617 ^b	2,717 ^b	1,699 ^{ab}	95,67 ^a	373,43 ^b
CV (%) ¹	1,50	1,58	1,55	1,25	3,38	4,16

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

¹Coefficiente de variação

No período experimental total de 41 dias os frangos de corte recebendo rações formuladas com enzimas ou betaína tiveram desempenho muito próximo ao das aves do tratamento Controle, indicando que as substituições tiveram o efeito desejado.

O tratamento Enz+Bet mostrou uma recuperação satisfatória para conversão alimentar ($P>0,05$), porém, não ocorreu a equiparação dos resultados, persistindo o menor peso médio, ganho médio de peso e consumo médio de ração ($P<0,05$) em relação ao tratamento Controle. Um ponto importante que deve ser salientado é que na última semana do experimento, 35 a 41 dias, as aves dos tratamentos Bet e Enz+Bet apresentaram elevado ganho médio de peso, sendo 658 e 656 g, respectivamente, equivalendo a cerca de 7,3 e 7,0% a mais de ganho médio de peso comparado com os animais do tratamento Controle, que obteve 613 g neste período. Este valor corresponde a 102 g de ganho de peso por dia, indicando que as aves do tratamento Controle tiveram, nessa fase, um crescimento acima do previsto no manual da linhagem Cobb 500, que é de 97,7 g para frangos machos. Portanto, pode-se sugerir que a ração do tratamento Controle continha os níveis nutricionais adequados para atender as exigências dos animais.

A suplementação de betaína nesses dois tratamentos pode ter beneficiado os frangos criados em condições comerciais no presente estudo, os quais, na última semana, podem ter sido expostos a desafio de coccidiose após a retirada do agente anticoccidiano da dieta. Possivelmente, os animais que se alimentaram com rações contendo betaína, foram favorecidos pela capacidade da mesma em agir como um osmólito, mantendo a integridade da mucosa intestinal e dos vilos, melhorando a digestibilidade e a capacidade de absorção dos nutrientes, conforme os resultados descritos por Niang (2005). Assim, a suplementação com betaína pode ter reduzido indiretamente

o suprimento nutricional à microflora gastrointestinal, proporcionando boas condições ao animal durante o desafio de coccidiose.

Frangos inoculados com *Eimeria acervulina* que receberam rações contendo níveis de 0,10 e 0,15% de betaína não apresentaram diferença no ganho de peso ($P>0,05$) em relação ao controle positivo que foram tratados com promotor de crescimento - penicilina G potássica e com coccidiostático - salinomicina (NIANG, 2005), embora a conversão alimentar tenha piorado ($P<0,05$). O mesmo autor relata que foi observada uma tendência de aumento no ganho de peso dos frangos à medida que se adicionou betaína na dieta. Waldenstedt et al. (1999) descreveram que a adição de 0,10% de betaína aumentou significativamente o peso vivo ($P<0,05$) das aves com coccidiose em 5,7; 5,4 e 5,6% aos 22, 29 e 36 dias de idade, respectivamente, comparada com as aves sem a suplementação deste aditivo. Augustine et al. (1997), por sua vez, observaram maior peso vivo ($P<0,05$) quando frangos de corte tiveram a inclusão de 0,15% de betaína na ração durante o período de 1 a 45 dias de idade.

Essas respostas positivas encontradas para as variáveis analisadas podem ser justificadas pela presença dos aditivos nas rações e suas ações no trato digestório das aves. No tratamento Enz, em que enzimas foram adicionadas à ração com déficit energético, as enzimas exógenas podem ter diminuído os fatores antinutricionais presentes nos ingredientes e também favorecido no aumento da disponibilidade de glicose e proteínas. Dessa maneira, indiretamente, a saúde dos animais pode ter sido beneficiada, resultante de uma menor variabilidade no processo digestivo e máximo aproveitamento dos nutrientes (FERNANDES, 2005).

De modo geral, no período total até 41 dias de idade, os frangos submetidos à criação experimental apresentaram excelentes resultados criatórios comparando com as demais aves do aviário, as quais receberam dietas comerciais da empresa de integração. Comparativamente aos resultados do lote da integração, o tratamento Enz+Bet, que foi o menos satisfatório, apresentou semelhança em algumas variáveis como o peso médio final, ganho médio diário de peso e conversão alimentar (2,767 kg, 67,5 g e 1,699, respectivamente), sendo os valores da integração de 2,757 kg, 67 g e 1,735. Para o fator de produção e viabilidade criatória (373,4 e 95,67%) os resultados foram ligeiramente superiores aos da integração (366,2 e 94,47%, respectivamente).

Para todos os tratamentos, o fator de produção foi calculado pelo resultado da multiplicação do ganho médio diário de peso (g) com a viabilidade criatória (%) e dividido pelo resultado da multiplicação da conversão alimentar multiplicado por dez. Neste sentido,

decorrente do bom desempenho durante os períodos de criação, tanto o tratamento Enz quanto o tratamento Bet não apresentaram diferenças significativa ($P>0,05$) para o fator de produção quando comparados com o tratamento Controle, porém, este diferindo ($P<0,05$) do tratamento Enz+Bet.

A viabilidade das aves criadas nas condições de aviário comercial não foi afetada pelos tratamentos, com média próxima de 97%.

Os coeficientes de variação obtidos ao longo do período experimental, e especialmente no período total, para as variáveis analisadas foram bastante baixos, sendo que os valores próximos a 1,5% obtidos para ganho médio de peso, consumo médio de ração e conversão alimentar no período total indicam um baixo erro experimental, decorrente de cuidados na condução do experimento.

2.8.2 Análise de custo da alimentação

A análise do custo da alimentação por kg de ave encontra-se na Tabela 10 e foi calculada pela multiplicação do custo do kg da ração pelo consumo médio de ração por ave, em cada fase - pré-inicial (PI), inicial (I), crescimento (C) e final (F) - obtendo-se o valor do custo da ração por ave, sendo este dividido pelo peso médio final das aves de cada unidade experimental.

Tabela 10 – Análise do custo da alimentação por kg de ave

Tratamentos	Custo da ração (R\$/kg)				Custo da alimentação (R\$/kg)
	PI	I	C	F	
Controle	0,493	0,500	0,533	0,517	0,870 ^a
Enz	0,499	0,507	0,510	0,494	0,864 ^a
Bet	0,502	0,500	0,536	0,521	0,873 ^a
Enz+Bet	0,509	0,507	0,514	0,498	0,858 ^a
CV (%)	-	-	-	-	1,97

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

¹Coefficiente de variação

PI – pré-inicial

I – inicial

C – crescimento

F – final

Nota: Sinal convencional utilizado:

- Dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento.

Não houve efeito significativo ($P>0,05$) entre os tratamentos para o custo da alimentação. O tratamento Enz+Bet apresentou custo 1,4% inferior ($P>0,05$) comparado ao tratamento Controle, porém não se equiparou ao desempenho deste último.

3 CONCLUSÕES

A suplementação independente das rações com enzimas (amilase, protease e xilanase) ou com betaína natural resultou em desempenho semelhante ao das aves do tratamento Controle, quando os frangos de corte foram criados em condições de aviário comercial. Esses aditivos podem ser usados em função de considerações econômicas.

A associação entre os aditivos não se constituiu uma alternativa satisfatória para melhorar o desempenho das aves, embora tenha resultado em custo de alimentação mais baixo, que os demais tratamentos nas condições do presente estudo.

REFERÊNCIAS

ACAMOVIC, T. Commercial applications of enzymes technology for poultry production. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca , v. 57, p. 225-243, 2001.

ALMQUIST, H.J.; GRAU, C.R. Interrelation of methionine, choline, betaine and arsenocholine in the chick. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 27, p. 263-269, 1944.

AUGUSTINE, P.C.; DANFORTH, H.D. Influences of betaine and salinomycin on intestinal absorption of methionine and glucose and on the ultrastructure of the intestinal cells and parasite developmental stage in chicks infected with *Eimeria acervulina*. **Avian Diseases**, Kennett Square, p. 89-97, 1999.

BARKER, I.K. Pathological processes associated with coccidiosis. In: INTERNATIONAL COCCIDIOSIS CONFERENCE, 6., 1993, Guelph. **Proceedings...**Guelph, 1993. p. 81-94.

BEDFORD, M.R.; MORGAN, A.J. The use of enzymes in poultry diets. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 52, p. 61-68, 1996.

BETANCOURT, R. **Betafin**: conceitos básicos e novas aplicações na nutrição de suínos. [s.l.: s.n.],1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Apoio Rural e Cooperativismo. Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004. **Sistema de Legislação Agrícola Federal**. Brasília: MAPA, 2004. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=10195>>. Acesso em: 15 set. 2008.

BRITO, C.O.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S. Adição de complexo enzimático em dietas à base de soja extrusada e desempenho de pintos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.2, p. 457-461, 2006.

BRUM, P.R.; LIMA, G.J.M.M.; COLDEBELLA, A.; PIRACÉS, F. Efeito da suplementação de enzimas à base de milho e farelo de soja sobre os valores de energia metabolizável e o desempenho de frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Resumo expandido...** Goiânia: SBZ, 2005. 1 CD-ROM.

BUCHANAN, N.P.; KIMBLER, L.B.; PARSONS, A.S. The effects of nonstarch polysaccharide enzyme addition and dietary energy restriction on performance and carcass quality of organic broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 16, p. 1-12, 2007.

BUTOLO, J.E. Uso de aditivos na alimentação de aves: frangos de corte. In: SIMPÓSIO SOBRE AS IMPLICAÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS DO USO DE ADITIVOS NA PRODUÇÃO ANIMAL, 1999, Piracicaba. **Anais ...** Piracicaba: UNIMEP, 1999. p. 85-98.

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

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V.T.M.; DA, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 6, p. 254-267, 2005.

CANTOR, A. Enzimas: usadas na Europa, Estados Unidos e Ásia. Possibilidades para uso no Brasil. In: RONDA LATINOAMERICANA DE BIOTECNOLOGIA, 1995, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Alltech, 1995. p. 31-42.

CHAMBERS, S.T.; KUNIN, C.M. The osmoprotective proprieties of urine for bacteria: the protective effect of betaine and human urine against low pH and high concentrations of electrolytes, sugars, and urea. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 152, p. 1308-1316, 1985.

CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significative. **Feed Milling International**, London, p.13-27, 1997.

_____. Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 62, p. 5-15, 2006.

COON, C.N.; LESKE, K.L.; AKAVANICHAN, O.; CHENG, T.K. Effect of oligosaccharide-free soybean meal on true metabolisable energy and fibre digestion in adult roosters. **Poultry Science**, Champaign, v. 69, p.787-793, 1990.

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

COUSINS, B. Enzimas na nutrição de aves. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL ACAV – EMBRAPA SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES, 1., 1999, Concórdia. **Anais...** Concórdia: EMBRAPA, 1999. p. 118-132.

COWAN, W.D. Understanding the manufacturing, distribution, application, and overall, quality of enzymes in poultry feeds. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 2, p. 93-99, 1993.

COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Supplementation of diets containing pea meal with exogenous enzymes: effects on weight gain, feed conversion, nutrient digestibility and gross morphology of the gastrointestinal tract of growing broiler chicks. **British Poultry Science**, London, v. 44, p. 427-437, 2003.

FERNANDES, E.A. Pontos críticos na nutrição e manejo de frangos de corte In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS E TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE RAÇÕES, 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2001. p. 39-60.

_____. Utilização de grãos de sorgo na nutrição de frangos de corte In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2002, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: CBNA, 2002. p. 59-72.

_____. **Avaliação da suplementação de enzimas exógenas na nutrição de frangos de corte.** 2005. 85 p. Tese (Doutorado em Genética e Bioquímica) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.

FERNANDES, P.C.C.; MALAGUIDO, A. Uso de enzimas em dietas de frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2004, Santos. **Anais...** Santos: APINCO, 2004. p. 117-120.

FERRARIS, J.D.; BURG, M.B.; WILLIAMS, C.K.; PETERS, E.M.; GARCÍA, P. Betaine transporter cDNA cloning and effect of osmolytes on its mRNA induction. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 39, p. C650-C654, 1996.

FIREMAN, F.A.T.; FIREMAN, A.K.B.A.T. Enzimas na alimentação de suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, p. 173-178, 1998.

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

GARCIA, O. Enzimas: recentes contribuições para a sua aplicação em nutrição animal. In: ENCONTRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 3., 1997, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 1997. p. 1-9.

GIACOMETTI, R.A. **Valores energéticos e digestibilidade de nutrientes do farelo de arroz integral suplementado com complexos enzimáticos para frangos de corte.** 2002. 54 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

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

GUENTER, W. Impact of feed enzymes on nutrient utilization of ingredients in growing poultry. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, v. 2, p. 82-84, 1993.

HENN, J. D. **Aditivos enzimáticos em dietas de suínos e aves.** Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002. Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/aditiv_enzimas.pdf>. Acesso em: 23 ago. 2008

HOLMSTRÖM, K.O.; SOMERSALO, S.; MANDAL, A.; PALVA, T.E.; WELIN, B. Improved tolerance to salinity and low temperature in transgenic tobacco producing glycine betaine. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 51, p. 177-185, 2000.

HRUBY, M. **Increasing breast meat yield in broilers and turkeys.** Watt Publishing Company, Poultry International, 2002.

JORGE NETO, G. Soja integral na alimentação de aves e suínos. **Avicultura e Suinocultura Industrial**, Porto Feliz, v. 82, n. 988, p. 4-15, 1992.

KANG, C.W.; SWICK, R.A. Evaluation of various soybeans meal for broilers. **Poultry Science**, Ithaca, v. 74, p. 52, 1995.

KETTUNEN, H.; PEURANEN, S.; TIIHONEN, K. Betaine aids in the osmoregulation of duodenal epithelium of broiler chicks, and affects the movement of water across the small intestinal epithelium *in vitro*. **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part A: Molecular & Integrative Physiology, Oxford, v. 129, p.595-603, 2001.

KETTUNEN, H.; TIIHONEN, K.; PEURANEN, S.; SAARINEN, M.T.; REMUS, J.C. Dietary betaine accumulates in the liver and intestinal tissue and stabilizes the intestinal epithelial structure in healthy and coccidian-infected broiler chicks. **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part A: Molecular & Integrative Physiology, Oxford, v. 130, p.759-769, 2001.

KOCHER, A.; CHOCT, M.; MORRISROE, L.; BROZ, J. Effects of enzyme supplementation on the replacement value of canola meal for soybean meal in broiler diets. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.52, n.4, p.447-52, 2001.

KLASING, K.C.; ADLER, K.L.; REMUS, J.C.; CALVERT, C.C. Dietary betaine increases intraepithelial lymphocytes in the duodenum of coccidian-infected chicks and increases functional properties of phagocytes. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 132, p. 2274-2282, 2002.

LÁZARO, R.; GARCÍA, M.; MEDEL, P.; MATEOS, G.G. Influence of enzymes on performance and digestive parameters of broilers fed rye-based diets. **Poultry Science**, Ithaca, v. 82, p. 132-140, 2003.

LEHNINGER, A.L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvie, 1984. 37 p.

LESKE, K.L.; AKAVANICHAN, O.; CHENG, T.K.; COON, C.N. Effect of ethanol extract on nitrogen-corrected true metabolizable energy for soybean meal with broilers and roosters. **Poultry Science**, Champaign, v. 70, n. 4, p. 892-895, 1991.

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

MAIORKA, A.; LUQUETTI, B.C.; ALMEIDA, J.G. DE; MACARI, M. Idade da matriz e qualidade do pintainho. In: MACARI, M.; GONZALES, E. (Ed.). **Manejo da incubação**. Campinas: FACTA, 2003. cap. 4.2, p. 362-372.

MATTHEWS, J.O.; WARD, T.L.; SOUTHERN, L. L. Interactive effects of betaine and monensin in uninfected and *Eimeria acervulina* – infected chicks. **Poultry Science**, Ithaca, v. 76, p.1014-1019, 1997.

McBRIDE, B.W.; KELLY, J.M. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant portal-drained viscera and liver: a review. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 68, p. 2997-3010, 1990.

MOONEY, M.; BELAY, T.; TEETER, R.G.; VIRTANEN, E.; REMUS, J. Effect of betaine on loss of corporal water. In: SOUTHERN POULTRY SCIENCE SOCIETY AND SOUTHERN CONFERENCE ON AVIAN DISEASES, 1998, Atlanta, **Proceedings...**Atlanta, 1998. p. 19-20.

NAGARAJ, M.; HESS, J.J.; BILGILI, S.F. Evaluation of a feed-grade enzyme in broiler diets to reduce pododermatitis. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 16, p. 52-61, 2007.

NAGASHIRO, C. Enzimas na nutrição de aves. In: CONFERENCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2007, Santos. **Anais...** Santos: APINCO, 2007. p. 307-327.

OUHIDA, I.; PEREZ, J.F.; GASA, J.; PUCHAL, F. Enzyems (β -glucanase and arabinoxylanase) and/or sepiolite supplementation improve the nutritive value of barley-wheat based diets for broiler chickens. **British Poultry Science**, Cambridge, v. 41, n. 5, p. 617-624. 2000

PARSONS, C.M.; ZHANG, Y.; JOHNSON, M.L.; ARABA, M. Nutritional evaluation of soybean meals varying in oligosaccharide content. **Poultry Science**, Ithaca, v. 75, p. 39 - 45, 1996.

PARTRIDGE, G. Betaine from sugarbeet gives na energy boost. **Pig International**, Mount Morris, v. 32, n. 1, p. 21-24, 2002.

_____. Betaine's dual role. **Pig Progress**, Doetinchen, v. 19, n. 10, p. 25–32, 2003.

PETRONINI, P.G.; De ANGELIS, E.M.; BORGHETTI, P.; BORGHETTI, A.F.; WHEELER, K.P. Modulation by betaine of cellular responses to osmotic stress. **Biochemical Journal**, Colchester, v. 282, p. 69-73, 1992.

PENZ JÚNIOR, A.M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRAS DE ZOOTECNIA, 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. p. 165-178.

PENZ JÚNIOR, A.M.; DARI, R. Enzimas em dietas vegetais para frangos de corte. **Revista Aveworld**, Campinas, v.17, p. 58-64, 2005.

PETRONINI, P.G.; DE ANGELIS, E.M.; BORGHETTI, P.; BORGGUETTI, A.F.; WHEELER, K.P. Modulation by betaine of cellular responses to osmotic stress. **Journal of Biochemistry**, Bristol, v. 282, p. 69-73, 1992.

REMUS, J.; VIRTANEN, E.; ROSI, L.; McNAUGHTON, J. Effect of betaine on nutrient utilization of 21 day-old broilers during coccidiosis. In: EUROPEAN SYMPOSIUM ON POULTRY NUTRITION, 10., 1995, Antalya, Turkey. **Proceedings...** Antalya, 1995. p. 371-372.

REMUS, J.C. Betaine for increased breast meat yield in turkeys. **International Poultry Production**, Surrey, v. 9, n. 2, p. 22-23, 2001.

REMUS, J.C.; QUARLES, C.L. The effect of betaine on lesion scores and tensile strength of coccidia-challenged broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, suppl. 1, p. 118, 2000.

RITZ, C.W.; HULET, R.M.; SELF, B.B.; DENBOW, D.M. Growth and intestinal morphology of male turkeys as influenced by dietary supplementation of amylase and xylanase. **Poultry Science**, Champaign, v. 74, p. 1329-1334, 1995.

ROSE, M.E.; HESKETH, P.; OGILVIE, B.M. Peripheral blood leukocyte response to coccidial infection: a comparison of the response in rats and chickens and its correlation with resistance to reinfection. **Immunology**, Oxford, v. 36, p. 71-79, 1979.

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. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 186 p.

SANTOS, F.R. **Efeito da suplementação com fitase sobre o desempenho e digestibilidade de nutrientes para frangos de corte.** 2005. 99 p.. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2005.

SCHUTTE, J.B.; DE JONG, J.; SMINK, W.; PACK, M. Replacement value of betaine for DL-methionine in male broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, p. 321-325, 1997.

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, cooper and zinc in broilers chickens fed corn-soybean diets. **Poultry Science**, Champaign, v. 75, n. 6, p. 729-736, 1996.

SOTO-SALANOVA, M.F.; GARCIA, O.; GRAHAM, H. Uso de enzimas em dietas de milho e soja para frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Curitiba. **Anais...** Curitiba: APINCO, 1996. p. 71-76

STRADA, E.S.O.; ABREU, R.D.; OLIVEIRA, G.J.C.; COSTA, M.C.M.M.; CARVALHO, G.J.L.; FRANCA, A.S.; CLARTON, L.; AZEVEDO, J.L.M. Uso de enzimas na alimentação de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, p. 2369-2375, 2005.

STRYER, L. **Biochemistry.** 3rd ed. New York : W.H. Freeman, 1988. 1089 p.

TORRES, D.M. **Suplementação de rações com protease, amilase e xilanase.** 1999. 80 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

TRALDI, A.B.; OLIVEIRA, M.C.; DUARTE, K.F.; MORAES, V.M.B. Avaliação de probióticos na dieta de frangos de corte criados em cama nova ou reutilizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, p. 660-665, 2007.

TURKER, M.; MUJDAT, A.L.P.; KOCABAGLI, N. Performance of broiler chicks fed on reduced methionine diets supplemented with betaine. **Poultry Science**, Ithaca, v. 75, n. 6, p. 729-736, 1996.

VIRTANEN, E.; ROSI, L. Effects of betaine on methionine requirements of broilers under various environmental conditions. In: AUSTRALIAN POULTRY SCIENCE SYMPOSIUM, 1995, Sidney. **Proceedings...** Sidney: University of Sidney, 1998. v. 3, n. 1, p. 12-17, 1995.

VIRTANEN, E.; REMUS, J.; ROSI, L.; McNAUGHTON, J.; AUGUSTINE, P. The effect of betaine and salinomycin during coccidiosis in broilers. **Poultry Science**, Ithaca, v. 75, suppl. 1, p. 149, 1996.

WALDENSTEDT, L.; ELWINGER, K.; THEBO, P. Effect of betaine supplement on broiler performance during an experimental coccidial infection. **Poultry Science**, Ithaca, v. 78, p. 182-189, 1999.

WALDENSTEDT, L.; THEBO, P.; LUDEN, A. Broiler production without coccidiostats. **Svensk – Veterinartidning**, v. 52, n. 2, p. 77-84, 2000.

WYATT, C.L.; BEDFORD, M. O uso de enzimas nutricionais para maximizar a utilização de nutrientes pelo frango de corte em dietas à base de milho: recentes processos no desenvolvimento e aplicação prática. In: SEMINÁRIO TÉCNICO FINNFEEDS, 1998, Curitiba. **Anais...Curitiba: FINNFEEDS**, 1998. p. 2-12.

YU, B.; CHUNG, T.K. Effects of multiple-enzyme mixtures on growth performance of broiler fed corn-soybean diets. **Journal Applied Poultry Research**, Savoy, v. 13, p. 178-182. 2004.

ZANELLA, I. **Efeito da suplementação de enzimas em dietas a base de milho e sojas processadas sobre a digestibilidade e desempenho de frangos de corte**. 1998. 179 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita, Jaboticabal, 1998.

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

APÊNDICES

APÊNDICE A – Peso médio (PM) aos 7 dias e ganho médio de peso (GMP), consumo médio de ração (CMR) e conversão alimentar (CA) de 1 a 7 dias de idade

Tratamentos	Repetições	PM (g)	CMR (g)	GMP (g)	CA (g/g)
Controle	1	193,94	155,15	148,48	1,045
Controle	2	192,73	154,55	147,27	1,049
Controle	3	191,52	153,03	144,55	1,059
Controle	4	190,61	156,36	145,15	1,077
Controle	5	185,45	147,58	138,48	1,066
Controle	6	181,52	148,79	136,36	1,091
Controle	7	190,91	154,85	146,06	1,060
	Média	189,52	152,90	143,76	1,064
Enz	1	189,39	157,27	143,33	1,097
Enz	2	188,18	154,85	142,73	1,085
Enz	3	191,21	156,67	145,15	1,079
Enz	4	188,48	157,88	142,12	1,111
Enz	5	185,15	164,85	139,70	1,180
Enz	6	190,61	151,21	144,24	1,048
Enz	7	184,85	151,52	139,70	1,085
	Média	188,26	156,32	142,42	1,098
Bet	1	190,61	156,67	143,03	1,095
Bet	2	186,67	153,94	140,91	1,092
Bet	3	180,91	150,91	135,45	1,114
Bet	4	193,33	161,52	147,88	1,092
Bet	5	184,85	150,30	139,39	1,078
Bet	6	175,76	150,61	128,79	1,169
Bet	7	176,67	153,03	130,91	1,169
	Média	184,11	153,85	138,05	1,116
Enz+Bet	1	188,48	161,82	143,33	1,129
Enz+Bet	2	187,58	150,61	141,21	1,067
Enz+Bet	3	201,25	163,00	154,28	1,060
Enz+Bet	4	184,24	147,88	139,39	1,061
Enz+Bet	5	186,67	153,03	141,21	1,084
Enz+Bet	6	188,48	150,61	142,42	1,057
Enz+Bet	7	188,18	173,64	141,52	1,227
	Média	189,27	157,23	143,34	1,098

APÊNDICE B – Peso médio (PM) aos 21 dias e ganho médio de peso (GMP), consumo médio de ração (CMR) e conversão alimentar (CA) de 1 a 21 dias de idade

Tratamentos	Repetições	PM (kg)	CMR (kg)	GMP (kg)	CA (kg/kg)
Controle	1	0,900	1,298	0,854	1,520
Controle	2	0,961	1,307	0,915	1,428
Controle	3	0,967	1,296	0,919	1,409
Controle	4	0,936	1,268	0,890	1,424
Controle	5	0,938	1,263	0,890	1,418
Controle	6	0,900	1,241	0,854	1,452
Controle	7	0,938	1,247	0,892	1,397
	Média	0,934	1,274	0,888	1,435
Enz	1	0,930	1,261	0,884	1,426
Enz	2	0,952	1,304	0,906	1,439
Enz	3	0,909	1,263	0,863	1,463
Enz	4	0,921	1,274	0,874	1,456
Enz	5	0,929	1,352	0,883	1,530
Enz	6	0,958	1,298	0,911	1,425
Enz	7	0,924	1,370	0,879	1,559
	Média	0,932	1,303	0,886	1,471
Bet	1	0,924	1,273	0,876	1,452
Bet	2	0,933	1,242	0,887	1,400
Bet	3	0,936	1,283	0,890	1,440
Bet	4	0,955	1,320	0,909	1,452
Bet	5	0,891	1,324	0,845	1,566
Bet	6	0,924	1,270	0,877	1,448
Bet	7	0,897	1,236	0,851	1,452
	Média	0,923	1,278	0,876	1,466
Enz+Bet	1	0,885	1,224	0,839	1,457
Enz+Bet	2	0,888	1,194	0,841	1,419
Enz+Bet	3	0,923	1,286	0,875	1,469
Enz+Bet	4	0,928	1,225	0,883	1,387
Enz+Bet	5	0,915	1,211	0,869	1,392
Enz+Bet	6	0,906	1,228	0,860	1,428
Enz+Bet	7	0,924	1,260	0,877	1,435
	Média	0,910	1,232	0,864	1,442

APÊNDICE C – Peso médio (PM) aos 35 dias e ganho médio de peso (GMP), consumo médio de ração (CMR) e conversão alimentar (CA) de 1 a 35 dias de idade

Tratamentos	Repetições	PM (kg)	CMR (kg)	GMP (kg)	CA (kg/kg)
Controle	1	2,291	3,589	2,245	1,599
Controle	2	2,269	3,594	2,223	1,616
Controle	3	2,312	3,545	2,265	1,565
Controle	4	2,270	3,593	2,224	1,616
Controle	5	2,209	3,510	2,162	1,623
Controle	6	2,191	3,509	2,146	1,636
Controle	7	2,269	3,616	2,224	1,626
	Média	2,258	3,565	2,213	1,612
Enz	1	2,267	3,568	2,221	1,607
Enz	2	2,200	3,441	2,155	1,597
Enz	3	2,209	3,554	2,163	1,643
Enz	4	2,213	3,592	2,166	1,658
Enz	5	2,255	3,627	2,209	1,642
Enz	6	2,291	3,600	2,244	1,604
Enz	7	2,223	3,452	2,177	1,585
	Média	2,236	3,558	2,191	1,619
Bet	1	2,218	3,477	2,171	1,602
Bet	2	2,294	3,496	2,248	1,555
Bet	3	2,268	3,606	2,222	1,623
Bet	4	2,259	3,556	2,214	1,606
Bet	5	2,158	3,461	2,112	1,639
Bet	6	2,197	3,505	2,150	1,630
Bet	7	2,185	3,446	2,139	1,611
	Média	2,225	3,507	2,180	1,609
Enz+Bet	1	2,118	3,422	2,073	1,651
Enz+Bet	2	2,073	3,397	2,027	1,676
Enz+Bet	3	2,140	3,494	2,093	1,669
Enz+Bet	4	2,094	3,310	2,049	1,616
Enz+Bet	5	2,116	3,364	2,070	1,625
Enz+Bet	6	2,124	3,399	2,078	1,636
Enz+Bet	7	2,097	3,361	2,050	1,639
	Média	2,109	3,392	2,063	1,644

APÊNDICE D – Peso médio (PM) aos 41 dias e ganho médio de peso (GMP), consumo médio de ração (CMR) e conversão alimentar (CA) de 1 a 41 dias de idade

Tratamentos	Repetições	PM (kg)	CMR (kg)	GMP (kg)	CA (kg/kg)
Controle	1	2,919	4,837	2,874	1,683
Controle	2	2,847	4,626	2,801	1,651
Controle	3	2,933	4,773	2,886	1,654
Controle	4	2,879	4,816	2,833	1,700
Controle	5	2,858	4,838	2,811	1,721
Controle	6	2,806	4,832	2,761	1,750
Controle	7	2,863	4,653	2,818	1,652
	Média	2,872	4,768	2,826	1,687
Enz	1	2,855	4,712	2,808	1,678
Enz	2	2,838	4,777	2,792	1,711
Enz	3	2,828	4,799	2,782	1,725
Enz	4	2,856	4,773	2,810	1,699
Enz	5	2,852	4,726	2,806	1,684
Enz	6	2,952	4,844	2,905	1,667
Enz	7	2,903	4,860	2,858	1,700
	Média	2,869	4,784	2,823	1,694
Bet	1	2,874	4,659	2,827	1,648
Bet	2	2,978	4,684	2,932	1,597
Bet	3	2,942	4,744	2,896	1,638
Bet	4	2,866	4,578	2,820	1,623
Bet	5	2,819	4,684	2,773	1,689
Bet	6	2,916	4,699	2,869	1,638
Bet	7	2,844	4,554	2,798	1,628
	Média	2,891	4,657	2,845	1,637
Enz+Bet	1	2,761	4,656	2,715	1,715
Enz+Bet	2	2,752	4,667	2,705	1,725
Enz+Bet	3	2,787	4,679	2,740	1,708
Enz+Bet	4	2,759	4,521	2,715	1,665
Enz+Bet	5	2,761	4,584	2,716	1,688
Enz+Bet	6	2,800	4,652	2,754	1,689
Enz+Bet	7	2,748	4,562	2,702	1,689
	Média	2,767	4,617	2,721	1,697