



## Perfil bioquímico do soro de frangos de corte alimentados com dieta suplementada com alfa-amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM2003

Cibele Silva Minafra<sup>1</sup>, Sonaide Faria Ferreira Marques<sup>2</sup>, José Henrique Stringhini<sup>2,4</sup>, Cirano José Ulhoa<sup>3,4</sup>, Cíntia Silva Minafra e Rezende<sup>2</sup>, Januária Silva Santos<sup>2,4</sup>, George Henrique Kling de Moraes<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde.

<sup>2</sup> Escola de Veterinária da UFG.

<sup>3</sup> Instituto de Ciências Biológicas, Enzimologia, UFG.

<sup>4</sup> Bolsista do CNPq.

<sup>5</sup> Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFV.

**RESUMO** - Avaliou-se o perfil bioquímico do soro de frangos de corte alimentados com a enzima  $\alpha$ -amilase produzida por dois microrganismos. Produziram-se dois extratos, um com  $\alpha$ -amilase obtida a partir de *Cryptococcus flavus* em meio de levedura comercial e outro com *Aspergillus niger* HM2003 em meio de proteína de soja e amido comercial, com atividade de 9,58 U/mL e 10,0 U/mL, respectivamente. Utilizaram-se 360 pintos de corte Cobb 500 de 1 dia de idade e com  $49,72 \pm 0,68$  g de peso vivo inicial. As aves foram alojadas em baterias e foram criadas até os 21 dias de idade. Foram utilizados três dietas, cada uma com cinco repetições de 12 aves, em delineamento inteiramente casualizado. A primeira dieta (basal) foi formulada sem adição de enzima e as outras duas receberam a suplementação de  $\alpha$ -amilase produzida por cultivo de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM2003. Dietas à base de milho e soja foram formuladas em duas fases: pré-inicial (1-7 dias) e inicial (8-21 dias). Na fase pré-inicial, foram observados os seguintes valores médios para cálcio (6,90 e 5,99 mg/dL), proteína plasmática (2,0 e 2,50 g/dL) e fosfatase alcalina (979,98 e 974,66 UI/L), respectivamente para *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM2003. A dieta acrescida de  $\alpha$ -amilase obtida a partir de *Aspergillus niger* HM2003 determinou maior concentração sérica de fósforo. Na fase inicial, os resultados significativos relacionaram-se a potássio quando avaliadas dietas com adição de  $\alpha$ -amilase pelas duas fontes. A incorporação das enzimas testadas não proporciona alterações metabólicas ou toxicidade nos animais.

Palavras-chave: *Aspergillus niger* HM2003, *Cryptococcus flavus*, frangos de corte, soro, suplementação enzimática

## Biochemical serum profile of broilers fed diets supplemented with alfa-amylase from *Cryptococcus flavus* and *Aspergillus niger* HM2003

**ABSTRACT** - It was evaluated the biochemical serum profile of broilers fed rations supplemented with  $\alpha$ -amylase produced by two microorganisms. Two extracts were produced, one was produced with  $\alpha$ -amylase obtained from *Cryptococcus flavus* in a commercial yeast-based medium and the other with *Aspergillus niger* HM2003 produced in soybean protein and commercial starch medium with activity of 9.58 U/mL and 10.0 U/mL, respectively. A total of 360 Cobb 500 male 1-d broiler chicks with  $49.72 \pm 0.68$  g of initial body weight were used in the experiment. Birds were housed in heated batteries from one to 21 days of age. It was used three diets, each one with five replicates of 12 birds in a complete random design. The first diet (basal) was formulated without the addition of enzyme and the other two were supplemented with  $\alpha$ -amylase produced by *Cryptococcus flavus* and *Aspergillus niger* HM2003 cultivation. Corn and soybean based diets were formulated in two phases: pre-starter phase (from 1 to 7 days of age) and starter phase (from 8 to 21 days). In pre-starter phase, it was observed the following average values for calcium (6.90 and 5.99 mg/dL), plasma protein (2.0 and 2.5 g/dL) and alkaline phosphatase activity (979.98 e 974.66 UI/L) for *Cryptococcus flavus* and *Aspergillus niger* HM2003, respectively. Diet added with  $\alpha$ -amylase obtained from *Aspergillus niger* HM2003 increased phosphorus serum concentration. In the starter phase, significant results were related to potassium when diets added with  $\alpha$ -amylase were evaluated by the two sources. Incorporation of tested enzymes does not provide metabolic changes neither toxicity in the animals.

Key Words: *Aspergillus niger* HM2003, broilers, *Cryptococcus flavus*, enzymatic supplementation, serum

## Introdução

Os constituintes bioquímicos do sangue refletem as condições de saúde dos animais, assim como diversos fatores, como tipo de nutrição, clima e manejo, que podem refletir nos resultados das análises sorológicas. Por essa razão que a determinação dos parâmetros bioquímicos sanguíneos em aves devem ser traçados nas condições em que o animal foi submetido.

No Brasil, há escassez de dados sobre níveis de referência para valores hematológicos e bioquímicos em frangos de corte, por isso a importância de se traçar esse perfil sanguíneo das aves nas diversas situações de experimentação.

Em aves, a análise do soro é um bom indicativo para se verificar alterações em seus sistemas fisiológicos (Gaw et al., 2001). Análises sanguíneas podem ser realizadas a partir de sangue total, no entanto, o soro e o plasma são amostras preferenciais para a maioria das mensurações (Motta, 2003).

Cardoso & Tessari (2003) mencionaram que a idade das aves, condições ambientais e diferentes regiões ou países são fatores que podem afetar o estudo dos parâmetros hematológicos. Afirmaram, ainda, que mesmo com o crescimento da atividade avícola, ocorreu grande desenvolvimento de métodos de diagnósticos e de profilaxia das doenças aviárias. Entretanto, aspectos básicos relacionados à fisiologia e às avaliações clínicas e laboratoriais foram pouco estudados.

A análise de eletrólitos e diferentes enzimas no soro sanguíneo oferecem informações valiosas para o diagnóstico de uma série de condições mórbidas (Lehninger et al., 2002). Borsa et al. (2006) afirmaram que variáveis bioquímicas têm sido usadas como auxiliares do diagnóstico das enfermidades nos animais domésticos, contudo, existem poucos trabalhos sobre os níveis de referência dessas variáveis em aves, sendo talvez a causa da não utilização de exames de laboratório na área de patologia aviária.

Na tentativa de controlar as disfunções ósseas e bioquímicas e as alterações do metabolismo, vários estudos são conduzidos para avaliar nutrientes, a fim de obter informações sobre cálcio, fósforo, fosfatase alcalina no soro sanguíneo (Minafra et al., 2008).

Tendo em vista que trabalhos relacionando a utilização de enzimas exógenas em dietas animais com parâmetros bioquímicos sanguíneos são escassos na literatura, propôs-se este experimento. Neste trabalho avaliou-se o efeito sérico da suplementação do extrato contendo  $\alpha$ -amilase em dietas pré-iniciais e iniciais para frangos de corte sobre os parâmetros sanguíneos: cálcio (Ca), fósforo (P), cloro (Cl), potássio (K), proteína (Prot) e as atividades das enzimas fosfatase alcalina e  $\alpha$ -amilase.

## Material e Métodos

Para condução dos ensaios, foram utilizadas três baterias de aço galvanizado com cinco andares e divisões com  $0,80 \times 0,75 \times 0,25$  m (comprimento  $\times$  largura  $\times$  altura) cada.

O aquecimento de cada andar das baterias foi realizado com lâmpadas incandescentes de 60 W, a iluminação foi constante, sendo natural e artificial. Os comedouros e bebedouros foram do tipo calha, sendo limpos e abastecidos duas vezes ao dia. O aquecimento interno foi monitorado diariamente com termômetro de máxima e mínima e umidostato, sendo associado ao manejo das cortinas para manter a temperatura interna do galpão adequada às aves.

Produziu-se a enzima  $\alpha$ -amilase a partir de *Cryptococcus flavus*, em meio à base de extrato de levedura no Laboratório de Enzimologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás. A outra enzima  $\alpha$ -amilase, proveniente de *Aspergillus niger* HM2003, foi produzida com proteína de soja e amido comercial no Centro de Biotecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. As enzimas foram aplicadas às rações na forma líquida, por aspersão e com homogeneização posterior, em extrato puro quando proveniente do *Cryptococcus flavus* e parcialmente purificada quando oriunda de *Aspergillus niger* HM2003, sendo ambas nas concentrações de 0,5%. As atividades determinadas para as enzimas avaliadas neste experimento foram de 9,58 U/mL para a  $\alpha$ -amilase de *Cryptococcus flavus* e de 10,0 U/mL para a  $\alpha$ -amilase de *Aspergillus niger* HM2003.

A produção da  $\alpha$ -amilase de *Cryptococcus flavus* foi feita em meio líquido, consistindo no pré-inóculo, com colônias inoculadas em 10 mL de meio contendo 1% de extrato de levedura e 2% de glicose e tampão fosfato 5,5 que foi incubado sob agitação constante de 180 rpm, a 28°C, por 24 horas. Foi transferido 1,0 mL do pré-inóculo para frascos Erlenmeyer de 500 mL, contendo 100 mL do meio de indução contendo extrato de levedura (0,34%) e ração pré-inicial (1%). A partir desta fase, produziu-se a enzima em agitador com rotação de 180 rpm e 28°C, com produção de 48 horas de indução.

A produção de  $\alpha$ -amilase de *Aspergillus niger* HM2003 foi feita com suspensão de esporangiósporos na concentração de 106 esporos/mL (Raimbault & Alazard, 1981). O meio de cultivo foi preparado com 10 g/L de proteína de soja comercial, desengordurada PS 60 da empresa Ovebra S.A. e 10 g/L de amido solúvel. O meio foi ajustado para pH 7,0 antes do processo de esterilização. Os mesmos foram cultivados em triplicata em 25 mL de meio,

utilizando frasco Erlenmeyer de 125 mL e incubados por 72 horas, em agitador de plataforma, regulado a 200 rpm e 28°C. A solução foi colocada no reator de 2,0 L esterilizado, Posteriormente, utilizou-se outro reator de 6,0 L esterilizado com meio de indução de 1% de proteína de soja e 1% de amido comercial e depois houve a inoculação no reator de 100 L.

Foram utilizados 360 pintos da linhagem Cobb, machos, de um dia de idade para o experimento, no período de outubro a novembro de 2006, na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, no setor de Avicultura do Departamento de Produção Animal. Foram conduzidas duas avaliações, uma na fase pré-inicial (1<sup>o</sup> ao 7<sup>o</sup> dia) e outra na fase inicial (8<sup>o</sup> ao 21<sup>o</sup> dia de idade). As dietas foram formuladas seguindo as recomendações de Rostagno et al. (2005). Foram utilizados três tratamentos e cinco repetições de 12 aves cada, no delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos utilizados foram: dieta basal sem adição de enzima; dieta basal suplementada com  $\alpha$ -amilase produzida por *Cryptococcus flavus*; dieta basal suplementada com  $\alpha$ -amilase produzida por *Aspergillus niger* HM2003 (Tabela 1). Ração e água foram oferecidos *ad libitum*.

Coletou-se o sangue, de uma ave por repetição de cada tratamento, aos sete dias de idade na fase pré-inicial e aos 21 na fase inicial, por punção cardíaca. O sangue disposto em tubo identificado foi centrifugado a 6.000 rpm por 10 minutos, para obtenção do soro. As análises de cálcio (mg/dL), fósforo (mmol/L), cloro (mmol/L), potássio (mmol/L), das atividades das enzimas fosfatase alcalina (UI/L),  $\alpha$ -amilase (U/dL) e de proteína (g/dL) foram efetuadas por meio de *kits* comerciais Doles, fundamentado nos princípios da espectrofotometria.

O cálcio foi determinado colorimetricamente pelo complexo corado com cresoltaleína em meio alcalino.

O fósforo inorgânico reage com molibdato em meio ácido, formando o complexo fosfomolibdato. A adição da solução alcalina permite que esse complexo seja reduzido pelo ácido ascórbico, dando origem a um novo complexo fosfomolibdato de cor azul. Paralelamente, as proteínas anteriormente precipitadas se dissolvem.

O cloro, em meio ácido, na presença de sulfocianeto de mercúrio e nitrato férrico, os íons cloreto formam um complexo corado (sulfocianeto férrico) que absorve luz em 510 nm, sendo a absorção de luz proporcional à concentração de cloreto.

O potássio, em meio alcalino, reage especificamente com o tetrafenilborato de sódio. O tetrafenilborato de potássio formado é insolúvel, gerando uma suspensão homogênea e estável de microcristais. A turbidez resultante é proporcional a concentração de potássio na amostra.

Tabela 1 - Dietas experimentais fornecidas nas fases pré-inicial (1 a 7 dias) e inicial (8 a 21 dias), em porcentagem da matéria natural

Ingrediente (kg)	Dieta pré-inicial	Dieta inicial
Milho	58,95	60,21
Farelo de soja	34,88	33,95
Óleo vegetal	1,69	1,77
Fosfato bicálcico	1,91	1,83
Calcário	0,92	0,89
Sal	0,45	0,43
L-lisina HCl (%)	0,35	0,19
DL-metionina 99(%)	0,35	0,23
Premix mineral/vitamínico <sup>1</sup>	0,50	0,50
Composição química		
Energia metabolizável (kcal/kg)	2.950	3.000
Proteína (%)	22,00	20,79
Triptofano (%)	0,29	0,28
Lisina (%)	1,47	1,26
Metionina + cistina (%)	1,04	0,90
Metionina (%)	0,68	0,55
Treonina (%)	0,85	0,81
Sódio (%)	0,22	0,21
Cálcio (%)	0,94	0,88
Fósforo disponível (%)	0,47	0,44

<sup>1</sup>Suplemento mineral e vitamínico. Micromim Aves (suplemento mineral em mg): manganês - 150.000; zinco - 100.000; ferro - 100.000; cobre - 16.000; cloreto de colina - 60.000; e iodo - 1.500. Premix inicial (suplemento vitamínico): vitamina A - 8.000.000 UI; vitamina D<sub>3</sub> - 2.000.000 UI; vitamina E - 15.000 UI; vitamina K - 1.800 mg; vitamina B<sub>1</sub> - 1.800 mg; vitamina B<sub>2</sub> - 6.000 mg; vitamina B<sub>6</sub> - 2.800 mg; vitamina B<sub>12</sub> - 12.000 mg; niacina - 40.000 mg; ácido fólico - 1.000 mg; ácido pantotênico - 15.000 mg; biotina - 60 mg; selênio - 300 mg; antioxidante - 30 g.

Na determinação da fosfatase alcalina, o soro é incubado com p-nitrofenilfosfato, sal ciclohexilamina (substrato). Sob ação das fosfatases, dá-se a hidrólise do sal com a liberação de p-nitrofenol. Com adição de soda à reação e alcalinização do meio, o p-nitrofenol liberado torna-se amarelo. A atividade de fosfatase é proporcional à quantidade de p-nitrofenol neoformado.

Para  $\alpha$ -amilase, o soro é incubado com solução de amido tamponado em pH 7. Em contato com o iodo, a solução de amido torna-se azulada. À medida que a molécula de amido é hidrolisada pela  $\alpha$ -amilase o tom azulado esmaece. Dentro de certos limites, a alteração produzida na cor pelo amido degradado com o iodo é proporcional à concentração de  $\alpha$ -amilase no soro.

A proteína utiliza-se o reagente do biureto, uma solução de sulfato de cobre, citrato trissódico, carbonato de sódio e hidróxido de sódio, reage com as proteínas da amostra, formando um complexo corado de cor violeta, que é proporcional à concentração protéica da amostra.

A análise estatística foi feita por programa SAEG 9.5 (SAEG, 2007) e as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 10% de probabilidade.

## Resultados e Discussão

Perfis séricos de eletrólitos e enzimas são apresentados na literatura para diferentes dietas, linhagens e metodologias analíticas empregadas. Além disso, os valores referentes às enzimas e aos minerais no soro diferem entre alguns autores, devido, também, à aparelhagem usada para as dosagens e o método de obtenção do soro.

Quando se avalia a aplicação de  $\alpha$ -amilase sobre a biodisponibilidade de nutrientes presentes nas dietas, há certa dificuldade pelo uso em geral dos complexos enzimáticos; mesmo assim, é importante considerar sua participação individual, em fases iniciais de vida e como suporte às fases posteriores. De acordo com Leite et al. (2008), tendo em vista a indisponibilidade parcial ou total de nutrientes dos alimentos presentes em rações, para enzimas endógenas a exemplo dos polissacarídeos não-amiláceos (PNA), determina a importância de alternativas alimentares para aves, particularmente, quanto à aplicação de enzimas exógenas para melhoria do desempenho e maior rentabilidade no sistema de produção. Também esses autores, em trabalho experimental para avaliar o efeito da peletização e adição de enzimas, vitaminas e minerais sobre o desempenho e aproveitamento da energia e nutrientes em frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, empregaram um complexo enzimático formado por  $\alpha$ -amilase, protease e celulase e observaram que o ganho de peso foi melhorado num percentual de 3,31 quando foi utilizada a ração farelada com enzimas. Por outro lado, quando se adotou ração peletizada com adição de enzimas, associadas a vitaminas e minerais antes da peletização, observou-se melhora de 1,78% no ganho de

peso comparado às dietas não suplementadas. Esses resultados evidenciam o efeito positivo das enzimas quando adicionadas às rações dos animais, na fase de vida analisada. Ainda, pode acentuar a biodisponibilidade das vitaminas e minerais, mesmo em menor percentual, mas ressaltando principalmente as questões relacionadas à bioquímica fisiológica destas aves para a fase de vida posterior à analisada que se referiu a 1 e 21 dias de idade.

No comparativo entre espécies e novamente sobre a ação associada da enzima  $\alpha$ -amilase, em leitões, Nery et al. (2000) verificaram que a adição do complexo enzimático contendo  $\alpha$ -amilase, protease e lipase na ração incrementou a digestibilidade dos nutrientes na fase de desenvolvimento entre 10 e 30 kg de peso vivo, e atribuíram essa melhora principalmente a biodisponibilidade das proteínas. Por outro lado, a aplicação de enzimas individualmente não alterou tal variável. Portanto, pode-se considerar que a ação das enzimas complexadas é fator positivo para leitões nessa fase.

Strada et al. (2005), ao avaliarem um complexo multienzimático, composto por protease,  $\alpha$ -amilase e xilanase, em dietas de frangos de corte de oito a 21 dias de idade e, num segundo experimento, em frangos de 22 a 42 dias. Os autores verificaram que a aplicação das enzimas na dieta de aves, na fase inicial, não alterou a biodisponibilidade dos nutrientes e não acarretou benefícios às aves. No entanto, para aves de 22 a 42 dias de vida, a adição de complexo multienzimático nas dietas à base de farelo de soja e milho melhorou a eficiência de utilização da energia metabolizável e dos aminoácidos sulfurados (metionina+cistina), lisina em 9 e 7%, respectivamente.

Tabela 2 - Concentração de minerais, proteína, fosfatase alcalina e  $\alpha$ -amilase em frangos de corte

Concentração sérica	Dieta			Valor de P	CV (%)
	Dieta basal	Com $\alpha$ -amilase de <i>Cryptococcus flavus</i>	Com $\alpha$ -amilase de <i>Aspergillus niger</i> HM2003		
Fase pré-inicial (7 dias de idade)					
Cálcio (mg/dL)	5,71b	6,90a	5,99ab	0,044	11,10
Fósforo (mmol/L)	5,12b	4,76b	6,24a	0,011	12,45
Cloro (mmol/L)	153,08a	124,43b	141,49ab	0,033	10,76
Potássio (mmol/L)	6,39	6,54	6,12	>>0,10	11,02
Proteína (g/dL)	1,85b	2,00b	2,50a	0,0005	9,05
Fosfatase alcalina (UI/L)	969,69	979,98	974,66	0,353	1,11
$\alpha$ -amilase (U/dL)	583,41	553,69	554,50	>>0,10	8,29
Fase inicial (8 a 21 dias de idade)					
Cálcio (mg/dL)	6,05	5,55	5,47	0,098	7,35
Fósforo (mmol/L)	5,72a	4,98b	4,99b	0,011	6,96
Cloro (mmol/L)	123,95	137,43	138,65	0,345	12,67
Potássio (mmol/L)	4,48c	5,89b	6,74a	0,0001	9,60
Proteína (g/dL)	3,65a	2,97b	3,12b	0,022	10,70
Fosfatase alcalina (UI/L)	969,08	961,08	970,56	>>0,10	1,48
$\alpha$ -amilase (U/dL)	589,11	548,80	542,70	0,204	7,47

abc - Médias seguidas por letras distintas na mesma linha são diferentes ( $P < 0,10$ ) pelo teste Tukey.

A menor concentração do íon cálcio sérico, aos 7 dias de idade, foi encontrada nas dietas isentas de enzimas (5,71 mg/dL), o que reforça o aumento de cálcio sérico pela inclusão das enzimas nas dietas, independentemente da fonte (Tabela 2). Ainda, este menor valor é preocupante quando se avalia as questões fisiológicas relacionadas a este mineral que dentre suas funções ressalta-se a mineralização óssea e a força de contração do músculo cardíaco, principalmente para aves jovens. No entanto, não se observou alteração dos níveis médios de cálcio sérico em função da suplementação das enzimas ao final dos 21 dias de idade, revelando uma possível adaptação das aves.

A concentração média de fósforo foi influenciada pelas dietas aos sete dias e 21 dias de idade, todavia o perfil foi invertido com o tempo. Aos sete dias, o maior valor foi encontrado na dieta com adição de enzima de *Aspergillus niger* HM2003 (6,24 mmol/L) e aos 21 dias, na dieta isenta de enzimas (5,72 mmol/dL), o que sugere alteração da biodisponibilidade em função da idade das aves e suas alterações do trato gastrointestinal e assimilação de nutrientes.

A concentração sérica de cloro, aos sete dias de idade, foi maior para dietas sem adição de  $\alpha$ -amilase. Pode-se relacionar esse aumento sanguíneo na fase de imaturidade das vilosidades intestinais associada às altas temperaturas encontradas no período de execução do experimento, uma vez que cloro sérico aumenta em virtude do aumento de temperatura ou estresse (Belay & Teeter, 1993). Essa ocorrência pode ser um fator comprometedor quando se avalia que teores de cloro aumentados predispõem à incidência maior de alterações da matriz óssea e problemas de pernas em pintos. Aos 21 dias de idade não houve influência da adição enzimática na concentração deste íon no soro.

Não houve diferença estatística na concentração de potássio no soro aos sete dias com média de 6,39 mmol/L. Todavia, aos 21 dias de idade, sua concentração foi alterada significativamente apresentando maiores valores para dietas com suplementação de enzima proveniente de *Aspergillus niger* HM2003. Scott et al. (1976) relataram que o potássio apresenta função de transporte para proteínas na membrana celular, atua junto com sódio e magnésio e sua disponibilidade favorece o catabolismo da lisina.

Tanto aos 7 como aos 21 dias de idade, houve diferença para proteína plasmática. Aos sete dias, a maior concentração sérica foi encontrada na dieta com adição de enzima de *Aspergillus niger* HM2003 (2,50 g/dL). Sugere-se com este resultado que na fase pré-inicial a biodisponibilidade das proteínas contribui significativa-

mente para o transporte de nutrientes. Aos 21 dias, o valor médio maior relacionou-se à dieta isenta de enzima (3,65 g/dL).

Os valores de fosfatase alcalina para as diferentes dietas não foram diferentes aos sete dias e 21 dias de idade, contrariando os achados de Kanashiro et al. (2001) que encontraram valores de 1.029,67 UI/L para fosfatase alcalina aos sete dias de idade e 736,72 UI/L aos 23, ao suplementarem continuamente dietas de frangos de corte com probióticos. Também é importante considerar a afirmação de Kramer (1989) de que a atividade da fosfatase alcalina decresce à medida que ocorre a maturação óssea. No presente estudo, todos os valores mostraram-se menores quando comparados entre as categorias de dietas e idade. Ainda, os valores maiores foram 979,98 UI/L para dieta com enzima de *Cryptococcus flavus* aos sete dias de idade e 970,56 UI/L para dieta com enzima de *Aspergillus niger* HM2003, aos 21 dias de idade.

A atividade da  $\alpha$ -amilase no soro aos 7 dias de idade (583,41 U/dL) e aos 21 dias (589,11 U/dL) não diferiu estatisticamente nas três dietas avaliadas. No entanto, observou-se maior valor médio sérico para a dieta não acrescida de enzimas. Esses dados podem apresentar relação parcial às descrições de Nir et al. (1993), que determinaram maior atividade de  $\alpha$ -amilase em pâncreas ao nascimento, diminuindo com a idade.

## Conclusões

A utilização de extratos enzimáticos contendo  $\alpha$ -amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM2003 em dietas para frangos de corte nas fases pré-inicial e inicial não provoca alterações metabólicas sugestivas de toxicidade pela incorporação das enzimas testadas. Componentes séricos, como cálcio, proteínas plasmáticas e fosfatase alcalina, podem ser favorecidos pelo aproveitamento fisiológico pela incorporação desse tipo de enzima na primeira semana de vida.

## Referências

- BELAY, T.; TEETER, R.G. Broiler water balance and thermobalance during thermoneutral and high ambient temperature exposure. **Poultry Science**, v.72, p.116-124, 1993.
- BORSA, A.; KOHAYAGAWA, A.; BORETTI, L.P. et al. Serum levels of hepatic enzyme function in clinically healthy broiler chickens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.675-677, 2006.
- CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C. Estudo dos parâmetros hematológicos em frangos de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, n.4, p.419-424, 2003.
- GAW, A.; COWAN, R.A.; O'REILLY, D.S.J. et al. **Bioquímica clínica**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 165p.

- KANASHIRO, A.M.I.; BOTTINO, J.A.; CASTRO, A.G.M. et al. Influência da administração contínua de probióticos a frangos de corte sobre atividades enzimáticas séricas e concentração de colesterol plasmático. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.68, n.2, p.11-17, 2001.
- KRAMER, J.W. Clinical enzymology. In: KANEKO, J.J. (Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animal**. San Diego: Academic, 1989. p.338-363.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica**. 3.ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 725p.
- LEITE, J.L.B.; RODRIGUES, P.B.; FIALHO, E.T. et al. Efeito da peletização e adição de enzimas e vitaminas sobre o desempenho e aproveitamento da energia e nutrientes em frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.4, p.1292-1298, 2008.
- MINAFRA, C.S.; MORAES, G.H.K.; RODRIGUES, A.C.P. et al. Perfil bioquímico e nutricional do ácido glutâmico e da vitamina K no soro e no fígado de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.11, p.1973-1977, 2008.
- MOTTA, V.T. **Bioquímica clínica para o laboratório**. 4.ed. Porto Alegre: Médica Missau, 2003. 419p.
- NERY, V.L.H.; LIMA, J.A.F.; MELO R.C.A. et al. Adição de enzimas exógenas para leitões dos 10 aos 30 kg de peso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.794-802, 2000.
- NIR, I.; NITSAN, Z.; MAHAGANA, M. Comparative growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler and egg type chicks after hatching. **British Poultry Science**, v.34, p.522-532, 1993.
- RAIMBAULT, M.; ALAZARD, D. Culture method to study fungal growth in solid state fermentation. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, v.9, n.3, p.199-209, 1980.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Tabelas brasileiras para aves e suínos. 2.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2005. 186p.
- SAEG. **Sistema de análise estatísticas e genéticas - versão 9.5**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. (CD-ROM).
- SCOTT, M.L.; NESHEIN, M.C.; YOUNG, R.J. **Nutrition of the chicken**. 2.ed. Ithaca: M. L. Scott & Associates, 1976. p.285-304.
- STRADA, E.S.O.; ABREU, R.D.; OLIVEIRA, G.J.C. et al. Uso de enzimas na alimentação de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2369-2375, 2005 (supl.).
- VIEIRA, E.C.; FIGUEIREDO, E.A.; LEITE, J.I.A. et al. **Química fisiológica**. 2.ed. São Paulo: Ateneu, 1995. 345p.