

Curso de Tecnologia em Biocombustíveis

EFEITO DA CAMA DE FRANGO DE CORTE SOBRE A PRODUÇÃO DE BIOGÁS, DE AVES QUE RECEBERAM DIETAS CONTENDO PROBIÓTICO E ENZIMAS EXÓGENAS.

NATASHA PANOSSO OKUSHIRO

Orientador: Jorge de Lucas Junior

Coorientador: Maria Fernanda Meneguicci Praes

Coorientador: Mariana Carina Frigieri

**Trabalho apresentado a Faculdade de Tecnologia
de Jaboticabal - Fatec, para obtenção do título de
Tecnólogo em Biocombustíveis.**

Okushiro, Natasha Panosso

O41e Efeito da cama de frango de corte sobre a produção de biogás, de aves que receberam dietas contendo probiótico e enzimas exógenas / Natasha Panoso Okushiro — Jaboticabal: Fatec, 2012.

49f.

Orientador: Jorge de Lucas Junior

Coorientadora: Maria Fernanda Meneguicci Praes

Coorientadora: Mariana Carina Frigieri

Trabalho (graduação) – Apresentado ao Curso de Tecnologia em Biocombustíveis, Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal, 2012.

1. Biogestão Anaeróbia. 2. Aditivos. 3. *Bacillus subtilis*. I. Lucas Junior, J. II. Doutor.

CDU 662.767.2

Curso de Tecnologia em Biocombustíveis

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: EFEITO DA CAMA DE FRANGO DE CORTE SOBRE A PRODUÇÃO DE BIOGÁS, DE AVES QUE RECEBERAM DIETAS CONTENDO PROBIÓTICO E ENZIMAS EXÓGENAS.

AUTOR: NATASHA PANOSSO OKUSHIRO

ORIENTADOR(A): PROF(o). DR(). JORGE DE LUCAS JUNIOR

COORIENTADOR(A): PROF.(a) MS(a) MARIA FERNANDA MENEGUCCI PRAES

COORIENTADOR(A): PROF(a) MARIANA CARINA FRIGIERI

Trabalho de Graduação aprovado pela Banca Examinadora como parte das exigências para conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Biocombustíveis, apresentado à FATEC-JB para a obtenção do título de Tecnólogo.

MARIA FERNANDA MENEGUCCI PRAES

JULIANA BEGA JUNQUEIRA

JOÃO ROBERTO DA SILVA

Data da apresentação: 22 de Junho de 2012.

Presidente da Comissão Examinadora

“É melhor atirar-se à luta em busca de dias melhores, mesmo correndo o risco de perder tudo, do que permanecer estático, como os pobres de espírito, que não lutam, mas também não vencem, que não conhecem a dor da derrota, nem a glória de ressurgir dos escombros. Esses pobres de espírito, ao final de sua jornada na Terra não agradecem a Deus por terem vivido, mas desculpam-se perante Ele, por terem apenas passado pela vida.”

(Bob Marley)

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que, as grandes coisas do homem, foram conquistadas do que parecia impossível.”

(Charles Chaplin)

Dedicatória

Dedico este trabalho á meus pais, Tadao e Nilda, á minha irmã, Raissa, os quais sempre me apoiaram, e me encorajaram a nunca desistir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelas graças concedidas por ele em minha vida, aos meus pais, Tadao e Nilda, por sempre me apoiarem e entenderem o tão quão importante esse trabalho, aos sacrifícios cometidos por eles para que minha criação fosse a melhor possível, aos ensinamentos e as conversas, e ao me guiarem e me protegerem sempre.

Ao clube da Luluzinha, Ana Paula, Natália Ramos (baby), Mah Delgado, Nah Miassi, por sempre me ajudarem, e me proporcionarem momentos de grande felicidade nesses anos, principalmente a Ana Paula que sempre esteve lá, sem me abandonar, e quando preciso me chacoalhava para a vida.

Ao pessoal do Laboratório de Biomassa e Biodigestão Anaeróbia, a Mirela Buzolli (Cabrita), que tornou as manhãs animadas, ajudou muito e sacrificou-se por esse trabalho também, aos funcionários Luizinho, Francisco, a Mestranda Livia (txuca).

Agradeço a Laura (lady) e a Juliana Bega (líder), por me receberem no laboratório, por me ensinar tudo o que sei hoje, aprender com vocês foi um grande prazer.

Ao Professor Jorge de Lucas Junior, por aceitar ser meu orientador, por conceder essa oportunidade, e o mais importante, se tornar um grande amigo, pelo qual tem todo o meu respeito.

Agradeço a Maria Fernanda, pela sua amizade, e seu lado psicóloga, por aturar todas as manhãs, as minhas perguntas e me co-orientar sempre nesse trabalho, empenhando o mais importante papel, o meu muito obrigado de coração Fernanda.

Agradeço ao pessoal da direção da Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal, aos Professores desta instituição que além de serem grandes mestres, foram também grandes amigos e de certa forma orientadores em minha vida acadêmica, a Professora Mariana pela qual me apoiou.

A todos que não mencionei, mas que de alguma forma contribuíram para esse trabalho, muito obrigada.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	IX
LISTA DE FIGURAS	XI
LISTA DE TABELAS	XII
RESUMO.....	XIII
ABSTRACT.....	XIV
INTRODUÇÃO	15
1 Emprego de enzimas.....	15
1.1 Fitase.....	16
1.2 Protease.....	17
1.3 Xilanase	18
1.4 Complexo Enzimático	18
2 Probióticos.....	19
2.1 Bacillus subtilis	21
3 Cama de frango e biodigestão anaeróbia.....	21
4 Produtos da Biodigestão Anaeróbia	25
5 Tipos de Biodigestores	26
OBJETIVO	15
DESENVOLVIMENTO	15
6 Condições de Criação	27
7 Tratamentos Experimentais	29
8 Delineamento experimental.	33
9 Biodigestores	34
10 Ensaio de biodigestão anaeróbia com cama de frango	36
10.1 Abastecimento dos Biodigestores.	36
11 Características avaliadas	37
11.1 Teores de Sólidos Totais e Voláteis	37

11.2	Determinação do volume de biogás e cálculo dos potenciais de produção de biogás	
	39	
11.3	Análise da composição do biogás produzido	40
12	Determinação do volume de biogás e cálculo dos potenciais de produção	42
13	Produção de Cama das aves	40
	CONCLUSÃO	44
	LITERATURA CONSULTADA	44

LISTA DE ABREVIATURA

CA	CONVERSÃO ALIMENTAR
CRESC	CRESCIMENTO
COBB	LINHAGEM DO FRANGO
CR	CONSUMO DE RAÇÃO
Cr	COEFICIENTE DE RESÍDUO
CO ₂	DIÓXIDO DE CARBONO
CH ₄	METANO
CRD	CONSUMO DE RAÇÃO DIÁRIA
DIC	DELINEAMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADO
DQO	DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO
GP	PESO DA AVE
GPD	PESO DA AVE DIÁRIA
H ₂ S	SULFETO DE HIDROGÊNIO
IEP	INDICICE DE EFICIENCIA DE PRODUTIVIDADE
M ³	METROS CÚBICOS
MC	MASSA DE COLHEITA
MS	MATERIA SECA
NH ₃	AMÔNIA
P	FÓSFORO
PCAMS	PRODUÇÃO DE CAMA POR AVE POR MATERIA SECA
PCMN	PRODUÇÃO DE CAMA MATÉRA NATURAL
PCMS	PRODUÇÃO DE CAMA E MATERIA SECA
PBA	PRODUÇÃO DE BIOGÁS ACUMULADO
PBD	PRODUÇÃO DE BIOGÁS DIÁRIA

PBSTA	PRODUÇÃO DE BIOGÁS E SÓLIDOS TOTAIS ADICIONAIS
PBSTR	PRODUÇÃO DE BIOGÁS E SÓLIDOS TOTAIS REDUZIDOS
PBSVA	PRODUÇÃO DE BIOGÁS E SÓLIDOS VOLÁTEIS ADICIONAIS
PBSVR	PRODUÇÃO DE BIOGÁS E SÓLIDOS VOLÁTEIS REDUZIDOS
Pm	PESO MEDIO
PM	PRODUÇÃO DE METANO
PSTA	PRODUÇÃO SÓLIDOS TOTAIS ADICIONADOS
PSTR	PRODUÇÃO DE SÓLIDOS TOTAIS REDUZIDOS
PSVA	PRODUÇÃO SÓLIDOS VOLÁTEIS ADICIONADOS
PSVR	PRODUÇÃO DE SÓLIDOS VOLÁTEIS REDUZIDOS
Pu	PESO UMIDO
Ps	PESO SECO
P0	PRESSÃO CORRIGIDA DO BIOGÁS
P1	PRESSAO DO BIOGÁS NO INSTANTE DE LEITURA
QEA	QUALIDADE DE EXCRETA NA MATÉRIA SECA POR AVE
RE	QUANTIDADE TOTAL DE RESÍDUO
ST	SOLIDOS TOTAIS
SV	SOLIDOS VOLÁTEIS
T0	TEMPERATURA CORRIGIDA DO BIOGÁS
T1	TEMPERATURA DO BIOGÁS EM K
TGI	TRATO GÁTRICO INTESTINAL
VC	VIABILISADE CRIATÁRIA
V0	VOLUME DO BIOGÁS
V1	VOLUME DO GÁS NO GASOMETRO
U	UMIDADE

LISTA DE FIGURAS

Figura1 – Biodigestores experimentais dispostos em uma bancada	35
Figura2 – Biodigestor contínuo	35
Figura 3 - Gasômetro do Biodigestor Contínuo	36
Figura4 – Gráfico da produção de biogás diária em m ³ , durante 85 dias ou aproximadamente 14 semanas, nos diferentes tratamentos. (Produção de metano (m ³) / semanas)	43

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Composição calculada das rações experimentais para a fase inicial, crescimento (Cresc) e abate.**31**
- Tabela 2** - Análise calculada dos níveis nutricionais das rações experimentais. ...**32**
- Tabela 3** - Média, valores de F e P e coeficiente de variação para, PCMN (kg), PCMS (kg), PCAMS (kg/ave), Cr (kg de resíduo/kg de ave) e QEA (kg/bird), de frangos de corte alimentados com probiótico (*Bacillus subtilis*) e enzimas exógenas (fitase, xilanase e protease).**41**
- Tabela 4** - Média, valores de F e P e coeficiente de variação para, PBD (m³), PBA (m³), PBSTA (m³/kg de ST adicionado), PBSVA (m³/ kg SV adicionado), PBSTR (m³/ kg de ST reduzido), PBSVR (m³/ kg de SV reduzido), e PM (m³), de cama de frango de aves que recebem uma dieta contendo probiótico (*Bacillus subtilis*) e enzimas exógenas (fitase, xilanase e protease).**42**

RESUMO

EFEITO DA CAMA DE FRANGO DE CORTE SOBRE A PRODUÇÃO DE BIOGÁS, DE AVES QUE RECEBERAM DIETAS CONTENDO PROBIÓTICO E ENZIMAS EXÓGENAS.

Um total de 900 pintos de corte foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 9 repetições com 25 aves. Diferentes tratamentos foram testados: um controle negativo (T1, uma dieta de controle sem aditivos); probiótico (T2, a dieta NC + 500 ppm de um produto contendo *Bacillus subtilis*); mistura enzima exógena (T3, a dieta NC + 20 ppm de uma mistura de fitase, 200 ppm de protease e xilanase), e um tratamento combinar ambos os aditivos na dieta T1 T4. No dia 42 de vida, as aves foram pesadas e removido. No dia 42 de idade, as aves foram pesadas e retirados das caixas, como camas foram pesadas e UMA Amostra de 10% FOI Retirada De CADA caixa do Pará Análise de Matéria Seca de e posterior cálculo De Produção de resíduos. As camas de frango foram separados de acordo com os diferentes tratamentos realizados e armazenado para a carga diária dos digestores contínuos. Digestores foram distribuídos em um esquema casual com 4 tratamentos diferentes camas de frango (obtido a partir de dietas diferentes) e 4 repetições. Cargas diárias foram preparados utilizando ninhadas de frangos de corte como substrato, separando o sólido do líquido. A fração líquida foi utilizado para a carga diária dos digestores. O deslocamento vertical dos detentores de gás foi medido para a determinação dos volumes de produção de biogás diariamente. Para analisar a qualidade da produção de biogás, amostras de gás foram coletadas semanalmente em cada digestor e analisados em cromatógrafo a gás GC-2001 Finigan, para determinação dos níveis de metano produzido. Os dados obtidos da análise de variância wentthrouht empregando o procedimento General Linear Model através do software SAS. As médias foram então comparadas com base em teste de Tukey (5% de significância) Foi observado que para todas as características de produção de resíduos não houve diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$), no entanto para as características de produção de biogás e metano foram observadas diferenças entre os tratamentos ($P < 0,05$), mostrando que os biodigestores que receberam camas do T3 tiveram a maior produção e potencial de produção de biogás e a qualidade do metano foi melhor.

Palavra-chave: 1. Biodigestão anaeróbia; 2. Aditivos; 3. *Bacillus subtilis*

ABSTRACT

EFFECT OF BROILER CHICKS LITTER OVER BIOGÁS PRODUCTION, FROM BIRDS FED WITH DIETS CONTAINING PROBIOTICS AND EXOGENOUS ENZYMES ON THEIR COMPOSITION.

A total of 900 broiler chicks, were distributed in a completely randomized design with 4 treatments and 9 replicates, with 25 birds each. Different treatments were tested: a negative control (T1, a control diet without feed additives); probiotic (T2, the NC diet + 500 ppm of a product containing *Bacillus subtilis*); exogenous enzyme blend (T3, the NC diet + 20 ppm of a blend of phytase, 200 ppm of protease and xylanase); and a treatment combined with both feed additives in the T1 and T4 diets. At the 42 day of age, birds were weighed and removed from the boxes. The poultry litters were also weighed and it was taken a sample of 10% of the weight of each box for: dry matter analysis and further calculations over the residues production. The poultry litters were separated according to different treatments performed and stored for the daily load of the continuous digesters. Anaerobic digesters were distributed on a casual scheme with 4 different treatments (poultry litters obtained from different diets) with 4 repetitions. Daily loads were prepared using the poultry litters as substrate, also doing a separation of the solid from liquid. The liquid fraction was used on the daily load of the digesters. The vertical displacement of the gas holders was measured for the determination of the volumes of the daily biogas production and the temperature of gas. To test the quality of biogas production, gas samples were collected weekly from each digester and analyzed in a gas chromatograph GC-2001 Finigan, for determining the levels of methane produced. Afterwards, data went through a variance analysis test by employing the *General Linear Model* procedure with the known software SAS. Averages were then compared based on Tukey test (with 5% of significance). It was observed that for all residues production characteristics, there was no difference between treatments ($P>0,05$), meanwhile for the characteristics of biogas and methane productions, there were some differences between treatments ($P<0,05$), showing us that the digesters who received litters from T3 obtained a larger production, a bigger biogas potential production and also a better quality of the methane produced.

Keywords: 1. Anaerobic digesters; 2. Additives; 3. Poultry litter; 4. *Bacillus subtilis*

INTRODUÇÃO

A avicultura vem crescendo em grande escala, conseqüentemente, a produção de dejetos também tem aumentado. A questão ambiental adquiriu relevância mundial, refletindo em todos os níveis e setores da sociedade, deixando de ser uma discussão meramente acadêmica para adquirir contornos políticos.

Grande preocupação tem-se, com o destino a ser dado aos dejetos decorrentes da exploração avícola e com a importância de se criar uma cultura para a sua correta utilização. Diante dessa evolução, os zootecnistas esforçam-se na busca de alternativas que tornem possível a formulação de rações mais eficientes, que causem baixo impacto ambiental e ao mesmo tempo se obtenha produção de energia.

Os resíduos dos aviários podem ser tanto um recurso como um poluente, o manejo adequado destes resíduos com altos conteúdos de nutrientes possibilita um impacto ambiental mínimo. Estes resíduos têm o potencial de poluir as águas superficiais e o lençol freático. Os resíduos avícolas podem aumentar os nutrientes minerais, as substâncias orgânicas que demandam oxigênio, materiais em suspensão e em algumas ocasiões microorganismos patogênicos (SEIFFERT, 2000). Os resíduos sólidos de frangos incluem a cama ou crostas ao final de cada ciclo de produção e a mortalidade diária.

A finalidade de toda tecnologia de manejo de resíduos é aproveitar todos os nutrientes disponíveis com mínimas perdas para o ambiente durante o seu processo de aproveitamento.

1 Emprego de enzimas

Melhorar a eficiência de utilização de nutrientes e elaborar uma formulação mais precisa são as metodologias mais efetivas para reduzir as perdas de nutrientes no ambiente que ocasionam contaminação. Estas metodologias têm sido descritas em detalhe por

vários autores (FERKET *et al.*, 2002; NAHM & CARLSON, 1998; NAHM, 2004). Alguns exemplos destes métodos incluem a suplementação de enzimas que resulta em reduções de 12 a 15% na matéria fecal dos frangos.

Segundo GUENTER (2002), a suplementação enzimática para os animais tem como metas, remover ou destruir os fatores anti-nutricionais dos grãos, aumentar a digestibilidade total da ração, potencializar a ação das enzimas endógenas e diminuir a poluição ambiental causada por nutrientes excretados nas fezes. As enzimas exógenas caracterizam-se por aumentar a disponibilidade de polissacarídeos de reserva, gorduras e proteínas, protegidas da atividade digestória, pelos polissacarídeos da parede celular, além de minimizar os efeitos negativos provocados pelos fatores anti-nutricionais presentes nos diversos ingredientes e otimizar a atividade enzimática endógena, principalmente em animais jovens que possuem um sistema enzimático imaturo.

1.1 Fitase

A fitase é uma fosfatase que hidrolisa um ou mais grupos fosfato do fitato. Sabe-se que a maior parte do fósforo (P) contido nos ingredientes de origem vegetal, que são os principais componentes das dietas de suínos e aves, está na forma de fitato. Por isso, considera-se que apenas 30% do P dos vegetais esteja disponível para não-ruminantes. A indisponibilidade deve-se à quantidade de fósforo que está ligada à molécula de ácido fítico, ou ácido mio-inositol hexafosfórico, ou simplesmente fitato. O fitato, além de não disponibilizar o P, quelata cátions bivalentes, interfere na absorção de aminoácido e pode também inibir a atividade da tripsina, pepsina e amilase. Segundo COUSINS (1999), a presença de complexos fitato-proteína pode ter uma influência negativa na digestibilidade e na absorção de proteínas e aminoácidos.

A enzima fitase, produzida comercialmente por microorganismos do gênero *Aspergillus*, tem sido utilizada com sucesso nas rações de suínos e aves para aumentar a disponibilidade do fósforo presente na molécula de fitato. Além disso, a sua utilização tem possibilitado aumento na disponibilidade de outros minerais, melhorando a utilização

desses minerais, as características de desempenho e reduzindo a excreção de minerais poluentes ao ambiente.

A suplementação da enzima fitase resulta em reduções de 25 a 35% de fósforo nas rações, é feita uma redução na quantidade de fósforo inorgânico nas dietas (MAGUIRE et al., 2005).

A poluição ambiental, pela excreção fecal de nitrogênio e fósforo, pode ser maior ou menor, dependendo da capacidade de utilização desses nutrientes, pelos animais, que é minimizada com a adição de enzimas exógenas.

1.2 Protease

A proteína é o ingrediente de maior custo em dietas de aves. Nos últimos anos, o aumento do custo do farelo de soja, utilizado como fonte protéica, tem levado a uma busca por maneiras de melhorar seu valor nutricional. Com isso a inclusão de proteases exógenas na dieta pode melhorar a digestibilidade através da hidrólise das proteínas que resistem ao processo digestivo pela complementação e enzimas digestivas das próprias aves. A soja contribui com mais de 70% da proteína em dietas avícolas, mesmo contendo quantidades elevadas de substâncias pécticas na estrutura de sua parede celular. (TORRES et al., 2003).

Obviamente, as proteínas dietéticas não são utilizadas completamente pelas aves. Há potencial para melhorar a utilização dos aminoácidos das dietas pelo suplemento das enzimas, reduzindo os custos (WANG *et al.*, 2006), uma vez que as enzimas aumentam o aproveitamento dos alimentos, possibilitando assim uma redução nos níveis de inclusão de certos nutrientes, como aminoácidos e minerais.

Recentemente, a suplementação com protease em dietas para frangos de corte produziu melhorias significativas no crescimento das aves (ODETALLAH *et al.*, 2003). Isso pode ser explicado porque a inclusão de enzimas exógenas reduz a síntese das enzimas endógenas e, em consequência disso, o organismo teria a disposição maior quantidade de aminoácidos para a síntese protéica. De acordo com WANG *et al.*, (2006) as proteases são recomendadas para adição às dietas de frangos de corte, pois melhoram o

desempenho e rendimento da carcaça, sendo seus efeitos mais pronunciados quando as dietas são formuladas com baixos níveis de aminoácidos essenciais ou de proteína total, de forma a minimizar as excreções de nitrogênio.

1.3 Xilanase

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

Xilanases são glicosidases responsáveis principalmente pela hidrólise das ligações β -1,4 presentes na xilana vegetal (componente da hemicelulose). Tendo em vista que as hemiceluloses são constituídas de vários polímeros principalmente, xilana, formados por diferentes resíduos de açúcares, a sua degradação completa necessita da ação cooperativa de um consórcio de enzimas microbiais específicas. A enzima principal na despolimerização da xilana é a endo β -1,4 xilanase (COUGHLAN & HAZLEWOOD, 1993).

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

1.4 Complexo Enzimático

Há diversos produtos comerciais compostos de enzimas isoladas ou de complexos enzimáticos para uso na alimentação animal. Contudo, os efeitos benéficos da

suplementação enzimática têm melhor oportunidade de se expressarem pela utilização de coquetéis ou complexos enzimáticos do que de enzimas isoladas (DIERICK & DECUYPERE, 1994). Nas rações de não ruminantes, geralmente, há a mistura de compostos com características antinutricionais, que interagem entre si e com outros compostos da dieta. Assim, o uso de diversas enzimas conjuntamente, porém específicas para os substratos, tendem a conduzir a melhores resultados que enzimas isoladas.

2 Probióticos

Probióticos são produtos constituídos por microrganismos vivos que, uma vez introduzidos no organismo animal, influenciam benéficamente o hospedeiro através da melhoria do balanço microbiano intestinal (FULLER, 1989).

Segundo GIBSON & ROBERFROID (1995), um bom probiótico deve:

- a) Sobreviver às condições adversas do Trato Gástrico Intestinal - TGI (ação da bile e dos sucos gástrico, pancreático e entérico) e assim ter condições de permanecer no ecossistema intestinal;
- b) Não ser tóxico, nem patogênico para o homem e para os animais;
- c) Ser estável durante a estocagem e permanecer viável por longos períodos, nas condições normais de estocagem;
- d) Ter capacidade antagônica às bactérias intestinais indesejáveis;
- e) Promover efeitos comprovadamente benéficos ao hospedeiro.

Os mecanismos de ação dos probióticos não estão inteiramente elucidados. O equilíbrio entre os diferentes componentes da microbiota intestinal parece ser fundamental para o funcionamento normal e saudável da função digestiva e geral do hospedeiro. A intensificação dos sistemas de criação resultando no constante estresse a que estão

expostos os animais, invariavelmente, pode alterar o equilíbrio intestinal e predispor a diversas infecções, além de reduzir os índices de produtividade.

Segundo JIN *et al* (1997), as bactérias da microbiota intestinal, e/ou componentes dos probióticos podem produzir e liberar compostos como as bacteriocinas, ácidos orgânicos (acidificantes) e peróxidos de hidrogênio, que têm ação bactericida, especialmente em relação às bactérias patogênicas. Algumas bactérias secretam enzimas, como a β -glucuronidase e hidrolases de sais biliares, que liberam compostos como ácidos biliares com ação inibitória sobre as outras bactérias.

ANDREATTI FILHO & SAMPAIO (2000) relataram que os probióticos devem ser utilizados o mais cedo possível nas aves, a fim de que as bactérias presentes nos produtos colonizem e multipliquem-se no trato intestinal das aves. Iniciando suas atividades benéficas ao hospedeiro antes desse ser contaminado por algum patógeno. Os autores definiram probióticos, como uma cultura pura ou composta de microrganismos vivos que, fornecidos ao homem ou aos animais, beneficiam o hospedeiro pelo estímulo das propriedades existentes na microbiota natural. Os probióticos podem ser aplicados de várias formas, como: adicionado às rações, na água de bebida, pela pulverização sobre os animais, em cápsulas gelatinosas, através da inoculação em ovos de aves embrionados e na cama usada de aves.

Os prováveis mecanismos de ação dos probióticos na melhoria da digestibilidade e, conseqüentemente, na melhora no ganho de peso de frangos de corte podem ser resumidos à redução do pH, resultante da produção de ácidos orgânicos, e ao crescimento e desenvolvimento diferenciados das bactérias, criando-se um ambiente de exclusão competitiva.

A utilização de aditivos como alguns probióticos baseados em *Lactobacillus* (CHANG & CHEN, 2003) nas dietas de frangos tem resultado em reduções significativas de amônia e odor das excretas das aves. Porém, outros pesquisadores não observaram efeitos significativos destes aditivos (ULLMAN *et al.*, 2004). Os métodos biológicos utilizados para diminuir bactérias de camas de frango são a fermentação ou compostagem e a inibição competitiva. Um método de manejo biológico da cama de frango é a inibição competitiva por inoculação da cama com bactérias como o *Bacillus subtilis* que inibe competitivamente as populações de bactérias patogênicas, diminui a formação de crostas,

e reduz a formação de amônia por transformação de amônia a nitratos e nitritos (PAGANINI, 2004).

No entanto a utilização de probióticos seria uma ótima alternativa ao uso do antibiótico, proporcionando melhoras no trato gastrointestinal aumentando o desempenho e melhorando a qualidade da cama das aves.

2.1 *Bacillus subtilis*

Os organismos da espécie *Bacillus subtilis* não são patogênicos, são gram-positivos, saprófitos, podem ser encontrados tanto em solo como em água, pois toleram condições ambientais atípicas. Por não ser considerado um patógeno humana, o *B. subtilis* vem sendo utilizado como probiótico na alimentação animal. A expectativa em relação a sua utilização é a melhora da digestibilidade dos alimentos e conseqüente aumento nas taxas de ganho de peso dos animais.

3 Cama de frango e biodigestão anaeróbia

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

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

As camas de frangos podem ser utilizadas para produção de biogás (LUCAS & SANTOS, 2000) ou como combustível para geração de energia elétrica (FIBROWATT, 2005). O biogás é constituído por 60% CH₄, 38% CO₂ e 2% da mistura entre vapor de água, NH₃ e H₂S. Sendo que estes dados podem variar dependendo do substrato utilizado na biodigestão.

Conforme relata COLDEBELA (2004), a utilização do biogás como insumo energético, deve-se principalmente ao gás metano (CH₄), estando este último, puro e em condições normais de pressão e temperatura, pode obter um poder calorífico de aproximadamente 9,9kWh/m³, ainda o biogás, como produto final, com um teor de metano entre 50 e 80%, terá um poder calorífico entre 4,95 e 7,92 kWh/m³.

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

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

Os aditivos podem melhorar o aproveitamento dos alimentos e reduzir a excreção de nutrientes. No entanto, poucos estudos têm sido realizados visando avaliar as características da cama quando se utilizam aditivos nas dietas. Além disso, pouco se conhece sobre a ação dos mesmos sobre a cama e produção de biogás. No presente estudo

vem-se buscar alternativas para melhorar o desempenho animal, buscando reduzir o impacto ambiental tratando as camas em biodigestores e ainda avaliando a influencia dos mesmos sobre a produção de biogás e conseqüentemente sua qualidade para gerar energia limpa.

A biodigestão anaeróbia é um processo que ocorre na ausência de oxigênio e luz, no qual ocorre um consorcio de vários microrganismos, que interagem estreitamente e transformam os compostos orgânicos complexos em compostos simples., resultando assim os gases; metano, dióxido de carbono (FORESTI 1999 *et al*). Segundo LUCAS JUNIOR E SILVA (1998), pode ser usada para tratamento de dejetos sólidos e líquidos, representando uma alternativa na geração de energia e de fertilizante.

A biodigestão anaeróbia geralmente é dividida em três fases: A hidrólise enzimática, acidogênese e metanogênese. Alguns autores citam uma quarta fase, sendo a acetogênese, que intermedia entre a acidogênese e a metanogênese (CAMARERO *et al.*, 1996; SINGH, 1996; STERLING *et al.*, 2001)

Segundo SOUZA, C. G. 2010 a primeira fase da digestão anaeróbia, chamada de hidrólise, envolve transformações dos compostos complexos em compostos solúveis, como a dos compostos com alto peso molecular (carboidratos, proteínas, lipídios e ácido nucléico) em compostos mais simples (como monossacarídeos, aminoácidos e ácidos graxos), mediante a ação de enzimas extracelulares.

Na segunda fase, ocorre a acidogênese, onde outro grupo de microrganismos (bactérias saprófilas) transformam os produtos resultantes da fase anterior em ácido acético, hidrogênio, dióxido de carbono e outros ácidos orgânicos. A maioria das bactérias nessa fase, se constitui em espécie anaeróbia estritas além das facultativas.

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

O processo pode ser influenciado por uma série de fatores, os quais favorecem ou não a produção de biogás, a degradação do substrato, crescimento e declínio de microrganismos envolvidos, a produção de biogás, podem determinar o sucesso ou a falência do tratamento. Entre esses fatores destacam-se, temperatura, pH, tempo de retenção hidráulica. A presença de inoculo, de nutrientes, composição do substrato, teor de sólidos totais, e como consequência, ocorre a interações de microrganismos envolvidos no processo (STEIL, 2001). Segundo LUCAS JUNIOR(1994), a melhor produção de biogás (quantidade e velocidade) ocorre em faixas termofilas (45°C a 60°C) quando comparada as outras.

As mudanças bruscas de temperatura podem prejudicar os microrganismos, pois esses são sensíveis a variação de temperatura (SOUZA, 2001). Segundo FORESTI(1999) o monitoramento da alcalinidade nos reatores torna-se mais importante que pequenos abaixamentos de pH, implicam no consumo de elevada quantidade de alcalinidade, diminuindo o tamponamento do meio.

A maioria dos autores considera uma condição ótima quando o pH está entre 6,6 e 7,4. Este assume valores maiores que o normal quando os dejetos apresentarem alto teor de sólidos voláteis (ITODO & AWULU,1999).

O valor de pH aumenta quando ocorre a digestão do nitrogênio, onde há um aumento da concentração de amônia, a qual pode elevar o pH ao valor 8. Quando o nível de produção de metano atinge a estabilidade, o pH alcança valores entre 7,2 a 8,2 (FAO, 1996). O pH varia em relação ao tempo de retenção no processo contínuo. (MATA-ALVAREZ et al., 2000).

De acordo com CHERNICHARO (1997), são seguintes nutrientes necessários a estimulação nutricional de *Arquéas metanogênicas*: nitrogênio, enxofre, fósforo, cobalto, níquel, molibdênio, selênio, riboflavina e vitamina B12. O autor afirma que uma relação de DQO:N:P de 500:5:1 é suficiente para as necessidades macro nutricionais.

4 Produtos da Biodigestão Anaeróbia

O processo de biodigestão anaeróbia tem como produtos, o biofertilizante e o biogás, o qual pode ser utilizado como energia em substituições ao combustível fóssil, diminuindo o impacto ambiental causado tanto pela utilização desse, quanto a emissão de CH_4 e CO_2 na atmosfera. O biofertilizante é o nome dado ao material orgânico mineral estabilizado, o qual pode ser empregado nas culturas como meio de obtenção de nutrientes pelas plantas e o biogás é uma mistura gasosa produzida durante a biodigestão anaeróbia da matéria orgânica. (YADVIKA *et al.*, 2004)

Na forma como é produzido o biogás, é constituído basicamente de 60% a 70% de metano, 30% a 40% de dióxido de carbono, além de traços de oxigênio, azoto e sulfeto de hidrogênio, segundo RUIZ *et al.*, (1992). O biogás pode substituir o gás liquefeito de petróleo, a gasolina e o óleo diesel em motores estacionários de combustão interna, sistemas de geração de energia elétrica ou térmica, e até a lenha ou óleo combustível em caldeiras. Em termos de equivalência energética, 1,68; 1,80; 1,26 e 0,70 m^3 de biogás são equivalentes a 1 L de gasolina, óleo diesel e álcool combustível e 1 KWh de energia elétrica, respectivamente (COMASTRI FILHO, 1981 citado por TEIXEIRA, 2003).

De acordo com SWEETEN *et al.* (1986), essencialmente todos os nutrientes presentes no dejetos fresco estão presentes no efluente do biodigestor. O diferencial é que a biodigestão anaeróbia aumenta a solubilidade de alguns nutrientes, tornando-os mais facilmente assimiláveis pelas plantas (SILVA, 2001). O biofertilizante utilizado para fertilização agrônômica promove a devolução de nutriente ao solo além de acarretar melhorias nas propriedades físicas, biológicas e químicas do solo (SWEETEN *et al.*, 1986).

Além dos nutrientes presentes no biofertilizante, devemos levar em consideração um número relativamente pequeno ou até mesmo a ausência de patógenos e de seus ovos, bem como de sementes da maioria das plantas invasoras.

O pH médio do biofertilizante é de 7,5; ou seja, levemente alcalino. Este é extremamente favorável ao crescimento de microrganismos úteis para o solo. Alguns

estudiosos acreditam que o biofertilizante não corrige o solo, mas cria condições favoráveis a esses microrganismos, para sua proliferação, os quais restabelecem vida no solo, proporcionando o equilíbrio de pH (BARRERA, 1993). Porém, PERDOMO(1996) afirmou que a aplicação de biofertilizante no solo tem mostrado efeito benéfico na redução da acidez do solo, ou seja, no aumento de pH ainda, aumento do teor de fósforo disponível, melhoria das propriedades físicas do solo e menos disseminação de plantas invasoras.

5 Tipos de Biodigestores

São propostos diversos modelos de biodigestores os quais diferem, principalmente, nas tecnologias associadas para obtenção de melhores rendimentos e nas características que os torna mais adequado ao tipo de resíduo que se pretende utilizar e á frequência com que são obtidos.

Dentre os biodigestores utilizados no Brasil, são encontrados o batelada, quando o resíduo é obtido com periodicidade; o indiano e o chinês, no caso dos resíduos produzidos diariamente, com uso mais recente, encontram-se o tubular, também biodigestor do tipo contínuo e o batelada seqüencial, quando há interesse em grande quantidade de biogás em curto intervalo de tempo e no uso de inoculo (COSTA, 2005).

O biodigestor batelada será abastecido uma vez só e em seguida fechado por um período conveniente, sendo a matéria orgânica fermentada descarregada posteriormente. Este modelo, apesar de simples pode ser utilizado em situações em que o resíduo é obtido periodicamente, como no caso das camas obtidas em galpões de frangos de corte (LUCAS JR, 1995).

O biodigestor contínuo, ao qual foi utilizado nesse trabalho, tem abastecimento diário e produção de biogás contínua, utilizado geralmente quando a demanda de resíduo é diária, tendo após cada abastecimento o recolhimento do biofertilizante.

Descrever mais sobre os Biodigestores.

OBJETIVO

Esse trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de enzimas exógenas e *Bacillus subtilis*, adicionados a dietas em frango de corte, sobre produção de resíduos e sua ação na cama de frango em relação ao seu potencial de produção de biogás.

DESENVOLVIMENTO

O experimento teve início dia 09 de Agosto de 2011, no Laboratório de Biomassa e Biodigestão Anaeróbia, no departamento de Engenharia Rural, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/Unesp), Campus de Jaboticabal, com abastecimento dos biodigestores contínuos, obtendo então uma espera de aproximadamente 15 dias para o início do abastecimento diário dos mesmos. Teve um período de desenvolvimento em campo de 42 dias dividido em 3 fases (inicial, crescimento e abate). Após 42 dias as aves foram retiradas e as camas foram pesadas e coletadas para o processo de biodigestão, obtendo término no dia 17 de Novembro de 2011, com a “falência” dos biodigestores.

6 Condições de Criação

Utilizaram-se 900 pintos de corte (Cobb®), provenientes de um mesmo lote de matrizes, com idade e linhagem iguais. As aves foram alojadas no Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – campus de Jaboticabal – São Paulo, em um galpão de alvenaria com 36 boxes, com cobertura de telha de barro, piso de concreto, paredes laterais com 0,30 m de altura, completados com tela de arame até o telhado e

cortinado externo móvel, dividido em boxes de 3,2 x 1,4m, separados por muretas de alvenaria de 0,40 m de altura e completadas com tela de arame até uma altura de 1,80 m.

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

A cama utilizada foi a maravalha com uma quantidade de 0,7 kg de matéria seca/ave alojada, de modo que todos os tratamentos obtiveram a mesma quantidade (20 Kg de cama) adicionada em todos os box. Antes de sua distribuição foi realizada a análise de matéria seca da cama.

Foram registradas as temperaturas ambientes e umidade relativa do ar. Foi usado o manejo de cortinas e de ventiladores para a garantia do conforto térmico das aves. O programa de luz adotado foi o de 24 horas de luz, durante todo o período experimental. As aves receberam água e ração *ad libitum* durante todo o período.

Obtiveram três fases de criação: inicial (1 – 21 dias de idade), crescimento (21 – 35 dias de idade) e abate (35 – 42 dias de idade). O manejo adotado foi o mesmo para todas as aves.

Para início do experimento com biodigestores, as camas provenientes de cada tratamento com suas respectivas repetições foram pesadas após a saída do lote de frangos de corte (43 dias de idade) onde posteriormente foram feitas as análises de produção de cama. A cama de cada box foi acondicionada em baldes plásticos e identificadas para o início do abastecimento.

A cama de frango foi levada ao Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal / UNESP, no dia 22 de julho de 2011. O abastecimento, dos biodigestores iniciou em 09 de agosto de 2012.

A cama produzida foi destinada ao abastecimento diário de biodigestores contínuos, para análise de produção de biogás. Foram realizados cálculos para o abastecimento, utilizando 70% de água e 30% de cama, misturados e peneirados, assim a mistura obtida era dividida em 4 partes para os biodigestores de cada tratamento, e a cada biodigestor 2 litros eram abastecidos. Com estes procedimentos, a aquisição de dados permitirá o conhecimento dos efeitos das enzimas e *Bacillus* sobre o potencial de produção de biogás para aproveitamento em forma contínua (biodigestores com cargas diárias). Estes dados são particularmente importantes para o dimensionamento de sistemas de biodigestão.

Os substratos utilizados para o abastecimento dos biodigestores foram as camas de frangos de corte alimentados com enzimas e *Bacillus*, o volume da carga foi o mesmo para todos os biodigestores. Em cada abastecimento o substrato foi preparado com teor de sólidos totais próximo a 4,0%, segundo modelo proposto por LUCAS JR., (1994).

7 Tratamentos Experimentais

As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, suplementadas com mineiras, vitaminas e aminoácidos, para atenderem às exigências nutricionais de cada fase de criação das aves (inicial, crescimento e abate) de acordo com as recomendações de ROSTAGNO et al. (2005).

Foi utilizada a matriz nutricional de cada enzima para a devida formulação das dietas (Tabela 1 e 2). O *Bacillus* adicionado a dieta está presente em um produto comercial que está sendo testado em aves, tendo um nível de inclusão de 0,5 Kg por tonelada de ração.

Foram formuladas as seguintes alimentações:

Alimentação 1: Ração testemunha, a base de milho e farelo de soja sem a adição de *Bacillus* e enzimas exógenas.

Alimentação 2: Ração com adição de *Bacillus* sem adição de enzimas exógenas.

Alimentação 3: Ração com adição de enzimas exógenas (protease, xilanase e fitase) sem a adição do *Bacillus*.

Alimentação 4: : Ração com adição de enzimas (protease, xilanase e fitase) exógenas e *Bacillus*.

Tabela 1 - Composição calculada das rações experimentais para a fase inicial, crescimento (Cresc) e abate.

Macro Ingredientes	Inicial T1	Inicial T2	Inicial T3	Inicial T4	Cresc T1	Cresc T2	Cresc T3	Cresc T4	Abate T1	Abate T2	Abate T3	Abate T4
Milho Triturado	50,36	50,36	55,04	55,04	58,24	58,24	62,90	62,90	62,95	62,95	67,53	67,53
Farelo de Soja	40,80	40,80	38,30	38,30	32,60	32,60	30,10	30,10	28,60	28,60	26,30	26,30
Oleo de Soja	4,70	4,70	3,10	3,10	4,80	4,80	3,20	3,20	4,60	4,60	2,90	2,90
Fosfato Bicalcico	1,86	1,86	1,05	1,05	1,90	1,90	1,09	1,09	1,75	1,75	0,94	0,94
Calcário Fino	1,24	1,24	1,43	1,43	1,26	1,26	1,46	1,46	0,97	0,97	1,16	1,16
Sal	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,41	0,41	0,41	0,41
DL-Metionina 99	0,22	0,22	0,20	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,18	0,18	0,16	0,16
L-Lisina HCl 78	0,09	0,09	0,14	0,14	0,22	0,22	0,27	0,27	0,20	0,20	0,25	0,25
L-Treonina 98	0,05	0,05	0,02	0,02	0,10	0,10	0,06	0,06	0,09	0,09	0,05	0,05
Ronozyme WX Aves 200*	0,00	0,00	0,02	0,02	0,00	0,00	0,02	0,02	0,00	0,00	0,02	0,02
HiPhos(M) 20g/t Ca,P**	0,00	0,00	0,002	0,002	0,00	0,00	0,002	0,002	0,00	0,00	0,002	0,002
Ronozyme ProAct***	0,00	0,00	0,02	0,02	0,00	0,00	0,02	0,02	0,00	0,00	0,02	0,02
MicroSource S	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05
Inerte	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00
Suplemento Vit ****	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Suplemento Min*****	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Salinomicina	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

* Produto comercial contendo a enzima xilanase e está contribuindo com 40 kcal/kg de ração. **Produto comercial contendo a enzima fitase e esta contribuindo com 0.15% de Pd e 0.12%. ***Produto comercial contendo a enzima protease e está contribuindo com 3.8% da PB; 3.8% Arg Dig; 1.2%Lys Dig; 3.6% M+C Dig; 7.9% Thr Dig; e 3% Trp Dig. **** Enriquecimento por quilograma de ração: 8.000 UI vitamina A, 1.800 UI vitamina D₃, 12 mg vitamina E, 2 mg vitamina K₃, 1 mg vitamina B₁, 4 mg vitamina B₂, 1 mg vitamina B₆, 10 mcg vitamina B₁₂, 0,40 mg ácido fólico, 0,04 mg biotina, 28 mg niacina, 11 mg pantotenato de cálcio, 6 mg Cu, 0,10 mg Co, 1 mg I, 50 mg Fe, 65 mg Mn, 45 mg Zn, 0,21 mg Se, 500 mg cloreto de colina 50%, 12 mg antioxidante.

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

	Inicial T1	Inicial T2	Inicial T3	Inicial T4	Cresc T1	Cresc T2	Cresc T3	Cresc T4	Abate T1	Abate T2	Abate T3	Abate T4
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3.000	3.000	3.000	3.000	3.100	3.100	3.100	3.100	3.200	3.200	3.200	3.200
Proteína Bruta (%)	23,00	23,00	23,00	23,00	20,00	20,00	20,00	20,00	18,50	18,50	18,52	18,52
Arginina Total (%)	1,57	1,57	1,55	1,55	1,32	1,32	1,30	1,30	1,20	1,20	1,18	1,18
Arginina Digestível Aves (%)	1,45	1,45	1,44	1,44	1,22	1,22	1,21	1,21	1,11	1,11	1,10	1,10
Lisina Total (%)	1,37	1,37	1,40	1,40	1,25	1,25	1,28	1,28	1,14	1,14	1,16	1,16
Lisina Digestível Aves (%)	1,25	1,25	1,25	1,25	1,15	1,15	1,15	1,15	1,04	1,04	1,05	1,05
Metionina Total (%)	0,60	0,60	0,60	0,60	0,56	0,56	0,56	0,56	0,51	0,51	0,51	0,51
Metionina + Cistina Total (%)	0,98	0,98	0,98	0,98	0,90	0,90	0,90	0,90	0,83	0,83	0,83	0,83
Metionina Digestível Aves (%)	0,57	0,57	0,56	0,56	0,54	0,54	0,52	0,52	0,49	0,49	0,47	0,47
Metionina + Cistina Digestível (%)	0,89	0,89	0,89	0,89	0,82	0,82	0,82	0,82	0,75	0,75	0,75	0,75
Treonina Total (%)	0,93	0,93	0,89	0,89	0,85	0,85	0,81	0,81	0,78	0,78	0,75	0,75
Treonina Digestível Aves (%)	0,80	0,80	0,80	0,80	0,74	0,74	0,74	0,74	0,68	0,68	0,68	0,68
Triptofano Total (%)	0,28	0,28	0,28	0,28	0,24	0,24	0,23	0,23	0,21	0,21	0,21	0,21
Triptofano Digestível Aves (%)	0,24	0,24	0,24	0,24	0,20	0,20	0,20	0,20	0,18	0,18	0,18	0,18
Isoleucina Total (%)	0,98	0,98	0,94	0,94	0,83	0,83	0,79	0,79	0,76	0,76	0,75	0,75
Isoleucina Digestível Aves (%)	0,78	0,78	0,78	0,78	0,67	0,67	0,66	0,66	0,61	0,61	0,61	0,61
Leucina Total (%)	4,02	4,02	4,18	4,18	4,14	4,14	4,30	4,30	4,24	4,24	4,55	4,55
Leucina Digestível Aves (%)	3,57	3,57	3,72	3,72	3,71	3,71	3,87	3,87	3,82	3,82	3,98	3,98
Valina Total (%)	1,08	1,08	1,04	1,04	0,93	0,93	0,89	0,89	0,86	0,86	0,85	0,85
Valina Digestível Aves (%)	0,93	0,93	0,94	0,94	0,80	0,80	0,81	0,81	0,74	0,74	0,75	0,75
Fenilalanina Total (%)	1,15	1,15	1,11	1,11	0,99	0,99	0,95	0,95	0,91	0,91	0,88	0,88
Fenilalanina Digestível (%)	1,04	1,04	1,00	1,00	0,90	0,90	0,86	0,86	0,83	0,83	0,80	0,80
Fibra Bruta (%)	2,76	2,76	2,72	2,72	2,51	2,51	2,47	2,47	2,40	2,40	2,37	2,37
Cálcio (%)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,85	0,85	0,85	0,85
Fósforo Total (%)	0,68	0,68	0,68	0,68	0,66	0,66	0,66	0,66	0,63	0,63	0,63	0,63
Fósforo Disponível (%)	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,42	0,42	0,42	0,42
Sódio (%)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,18	0,18	0,18	0,18
Cloro (%)	0,32	0,32	0,33	0,33	0,35	0,35	0,36	0,36	0,33	0,33	0,34	0,34
Potássio (%)	1,07	1,07	1,03	1,03	0,91	0,91	0,86	0,86	0,83	0,83	0,79	0,79
Colina (%)	1.248	1.248	1.227	1.227	1.133	1.133	1.112	1.112	1.082	1.082	1.064	1.064

Durante todo o experimento, foi desenvolvido uma rotina diária onde, todos os 16 biodigestores era abastecidos no período da manhã, durante a semana e nos finais de semana no período da tarde, o mesmo acontecia com as leituras.

Para o abastecimento foram utilizadas balanças para pesagem da cama e da água, tambores para a mistura dos dois componentes, eram peneirados assim obtendo uma maior retenção de sólidos, e em seguida o substrato obtido era pesado em baldes e abastecido nos biodigestores, cada balde tinha capacidade para 5 litros, eram utilizados apenas 2 litros para afluente e 2 litros para efluente, cada tratamento tinha seu respectivo material para abastecimento, assim diminuindo o risco de contaminação e erro no experimento.

O Experimento foi dividido em 4 Tratamentos:

Tratamento 1: Testemunha (cama sem adição)

Tratamento 2: Cama com *Bacillus* e sem enzimas

Tratamento 3: Cama com enzimas exógenas e sem *Bacillus*.

Tratamento 4: Cama com enzimas exógenas e *Bacillus*.

8 Delineamento experimental.

Os biodigestores foram distribuídos em um DIC (delineamento inteiramente casualizado), com 4 tratamentos, 4 repetições cada, sendo assim um total de 16 biodigestores contínuos. Os dados recolhidos durante todo o experimento foram analisados pelo programa SAS ® (SAS Institute, 2002). As médias foram comparadas pelo teste de Tuckey a um nível de significativo de 5 %.

9 Biodigestores

Foram construídos os biodigestores (figura 1), de forma poder armazenar os resíduos, e analisar o potencial de produção de biogás das camas de aves alimentadas com *Bacillus* e enzimas exógenas. Os biodigestores contínuos são constituídos de duas partes distintas; sendo um deles o recipiente com o material em fermentação e o outro o gasômetro. O recipiente com o material em fermentação é composto por um cilindro reto de PVC com diâmetro de 300 mm e com 1 m de comprimento tendo as extremidades fixadas com duas placas de PVC com 1,5 cm de espessura de cada lado. Em uma placa foi fixado o cano de entrada por se fez o abastecimento e na outra extremidade foram fixados dois canos, sendo um destinado à saída do biofertilizante e outro a saída do gás.

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



Figura 1. Biodigestores experimentais dispostos em uma bancada



Figura 2: Biodigestor contínuo utilizado.



Figura 3: Gasômetro do Biodigestor Contínuo

10 Ensaio de biodigestão anaeróbia com cama de frango

10.1 Abastecimento dos Biodigestores.

As camas foram separadas por tratamento, e armazenadas para utilização no fornecimento diário de biodigestores contínuos. Cargas diárias foram preparadas utilizando-se como substrato as camas de frango, onde cada mistura foi diluída em água, misturando os componentes em uma proporção que o teor de sólidos totais ficasse em torno de 4 % e peneirada (malha de 3 mm), separando a fração sólida e líquida. A fração líquida foi adicionada nos biodigestores (2 litros de carga diária por biodigestor, correspondendo a tempo de retenção hidráulica de 30 dias). Foram coletadas amostras dos

afluentes e efluentes (biofertilizante) de cada tratamento para análise de sólidos totais e voláteis.

11 Características avaliadas

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

Para cada lote foi determinado o coeficiente de resíduo (Cr), o qual foi utilizado para se determinar o potencial de geração de resíduo em um sistema de produção. O Cr foi calculado como a relação entre a quantidade total do resíduo (Re) na base seca e a massa de colheita com umidade no campo (Mc), assim: $Cr = Re/Mc$.

Na avicultura de corte, significa a relação entre a quantidade de cama gerada (MS) e o peso vivo dos frangos produzidos no sistema ($Cr = \text{kg de cama de frango (MS)} / \text{kg de peso vivo das aves}$), conforme adaptado de RISSER (1985) e STREHLER & SUTZLE (1987).

11.1 Teores de Sólidos Totais e Voláteis

Foram avaliados semanalmente os teores de sólidos totais e sólidos voláteis dos afluentes e efluentes dos biodigestores, a fim de analisar a redução de sólidos no substrato após submissão ao processo de biodigestão anaeróbia. Sendo utilizadas metodologias descritas em AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA (1998).

Para a determinação do teor de sólidos, cada amostra foi colocada em recipiente de alumínio com tara previamente conhecida e pesada para obtenção do peso úmido (Pu) em balança com precisão de 0,001g. Depois de secas em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de aproximadamente 105° C até atingir peso constante.

Em seguida após atingir temperatura ambiente, pesou-se na mesma balança, para a determinação do peso seco (Ps). Os teores de sólidos em porcentagem foram determinados por meio da seguinte equação:

$$ST = 100 - U$$

$$U = (Pu - Ps) / Pu \times 100 \text{ onde:}$$

ST = teor de sólidos totais, em %;

U = teor de umidade da amostra, em %;

Pu = peso úmido da amostra, em g;

Ps = peso seco da amostra, em g.

Os teores de sólidos voláteis foram determinados a partir do material seco na estufa, que serviu para determinação do teor de sólidos totais.

As amostras foram colocadas em cadinhos de porcelanas, com tara (T) previamente conhecidas e pesadas para determinação do peso inicial (Pi) em balança de precisão 0,001g. Esses cadinhos foram levados a mufla e mantidos a temperatura de 575°C por duas horas e após este período de queima inicial na mufla, a mesma foi parcialmente aberta para em seguida, ocorrer o resfriamento até atingir a temperatura ambiente. Após os cadinhos serem pesados em balança analítica para determinação do peso final (Pf), obteve-se o peso das cinzas ou matéria mineral.

$$SV = ST - \text{cinzas}$$

$$\text{Cinzas} = \{(1 - Pu - Pm) * 100\} / Pu \text{ onde}$$

SV = teor de sólidos voláteis, em %;

Pm = peso obtido após queima na mufla, em g;

Pu = peso úmido da amostra, em g.

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

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

Para a correção do volume de biogás, utilizou-se a expressão resultante da combinação das leis de Boyle e Gay-Lussac, onde:

$$\frac{V_0 \times P_0}{T_0} = \frac{V_1 \times P_1}{T_1}$$

Sendo que:

V₀= volume do biogás corrigido, m³;

P₀ = pressão corrigida do biogás, 10322,72 mm de coluna d'água;

T₀ = temperatura corrigida do biogás, 293,15 K;

V₁= volume do gás no gasômetro,

P₁ = pressão do biogás no instante da leitura, 9652,10 mm de água;

T₁ = temperatura do biogás, em K, no instante da leitura.

As leituras eram realizadas diariamente. O teste de queima foi realizado no dia posterior ao abastecimento, no intuito identificar a presença de metano no biogás produzido. Acoplou-se a saída de gás do biodigestor uma mangueira ligada a um bico de bunsen. Verificou-se a persistência da chama, iniciou-se a coleta de amostra para avaliação do gás em cromatografo.

Os potenciais de produção de biogás foram calculados utilizando-se os dados de PBD e as quantidades de substrato, de sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV)

adicionados (PSTA e PSVA) nos biodigestores, além das quantidades de ST e SV reduzidos (PSTR e PSVR) durante o processo de biodigestão anaeróbia. Os valores foram expressos em m³ de biogás por kg de substrato de ST e SV.

11.3 Análise da composição do biogás produzido

As análises da composição do biogás produzido em biodigestores abastecidos com cama de frango foram realizadas semanalmente para determinação dos teores de metano (CH₄). O biogás contido no gasômetro era retirado e injetado, com o auxílio de seringas, no cromatografo de fase gasosa Finigan GC-2001, equipado com as colunas Porapak Q e Peneira Molecular, e detector de condutividade térmica. Os percentuais dos componentes da mistura gasosa foram determinados com o auxílio de um integrador processador.

RESULTADOS DE DESENVOLVIMENTO

12 Produção de Cama das aves

Na tabela 3, estão apresentados os dados das características de produção de resíduo, PCMN, PCMS, PCAMS, Cr e QEA.

O ideal é que a produção de resíduo seja a menor possível para diminuir assim, o impacto ambiental da atividade avícola. Uma das estratégias é o uso de aditivos para aumentar a digestibilidade da dieta melhorando o desempenho com conseqüente redução no coeficiente de resíduo.

No presente estudo não foi observado diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos para as características, PCMS, PCMN, PCAMS, Cr e QEA. Mostrando que

os tratamentos que receberam aditivos, tiveram a mesma produção de resíduos, quando comparados ao tratamento controle.

Esses dados não estão de acordo com SILVA et al. (2007), que verificaram uma redução de 10% no Cr, com o uso de enzimas na dieta de frangos de corte. SANTOS (2010) também encontraram um declive na produção de resíduo (5,3%) quando se adicionou enzimas isoladas ou em combinação com um probiótico.

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

Dessa maneira, os resultados encontrados neste trabalho poderiam estar relacionados, também, ao nível de inclusão das enzimas e do probiótico, que pode não ter sido suficiente para promover melhor aproveitamento dos nutrientes das rações e, conseqüentemente, a redução na produção de resíduos.

Tabela 3. Média, valores de F e P e coeficiente de variação para, PCMN (kg), PCMS (kg), PCAMS (kg/ave), Cr (kg de resíduo/kg de ave) e QEA (kg/bird), de frangos de corte alimentados com probiótico (*Bacillus subtilis*) e enzimas exógenas (fitase, xilanase e protease).

Tratamento/ Característica	PCMN (kg)	PCMS (kg)	PCAMS (kg/bird)	Cr (kg/kg)	QEA (kg/bird)
T1	55,03	45,84	1,87	0,64	1,42
T2	53,90	44,53	1,82	0,66	1,38
T3	55,95	44,84	1,81	0,65	1,45
T4	55,22	45,02	1,83	0,67	1,44
Valores de F	0,48	0,22	0,24	0,29	0,34
Valores de P	0,697	0,88	0,86	8,60	0,79
CV	6,68	7,89	7,82	0,83	10,45

T1= dieta controle sem aditivos; T2= T1 + 500 ppm do produto contendo *Bacillus subtilis*; T3= T1 + 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease and xilanase); T4= T1+T2+T3.

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

Na Tabela 4 estão apresentados os dados das características de produção e qualidade do biogás.

Ao analisar os dados observou-se que houve efeito significativo ($P < 0,05$) para todas as características de produção de biogás (PBD, PBA, PBSTA, PBSVA, PBSTR e PBSVR) e produção de metano (PM). Assim os biodigestores que possuíam camas advindas de animais que receberam dietas contendo enzimas tiveram uma maior PBD, PBA, PBSTA, PBSVA, PBSTR, PBSVR E PM, em relação aos demais tratamentos.

Tabela 4. Média, valores de F e P e coeficiente de variação para, PBD (m^3), PBA (m^3), PBSTA (m^3/kg de ST adicionado), PBSVA (m^3/ kg SV adicionado), PBSTR (m^3/ kg de ST reduzido), PBSVR (m^3/ kg de SV reduzido), e PM (m^3), de cama de frango de aves que receberam uma dieta contendo probiótico (*Bacillus subtilis*) e enzimas exógenas (fitase, xilanase e protease).

Treatment/ Feature	PBD (m^3)	PBA (m^3)	PBSTA (m^3/kg)	PBSVA (m^3/kg)	PBSTR (m^3/kg)	PBSVR (m^3/kg)	PM (m^3)
T1	0,0045BA	0,53 AB	0,44 AB	0,72 B	0,88 B	1,02 C	0,38BA
T2	0,0040C	0,47 C	0,38 C	0,76 B	0,80 B	1,40 B	0,34C
T3	0,0046A	0,55 A	0,46 A	0,94 A	1,00 A	1,74 A	0,39A
T4	0,0041BC	0,48 BC	0,41 BC	0,75 B	0,88 A	1,25 B	0,35BC
F Values	6,96	6,99	10,17	21,25	11,92	65,48	8,37
P values	0,0058	0,0056	0,0013	<0,0001	0,0007	<0,0001	0,0028
CV	5,28	5,26	5,26	5,35	5,28	5,50	4,53

Médias com letras diferentes na mesma coluna são estatisticamente diferentes; T1= dieta controle sem aditivos; T2= T1 + 500 ppm do produto contendo *Bacillus subtilis*; T3= T1 + 20 ppm da enzima fitase, 200 ppm de protease and xilanase); T4= T1+T2+T3.

Na Figura 4, estão apresentados a variação de produção de biogás durante 85 dias do período experimental em biodigestores contínuos. Onde se observa que a produção diária entre os tratamentos foi semelhante, onde o tratamento que continha probiótico teve uma queda em relação aos demais tratamentos.

Essa redução pode ter sido causada pelos microorganismos adicionados a ração que teriam aumentado, de certa forma, a degradação do substrato, utilizando os nutrientes

presentes na cama de frango durante o período em que estas foram armazenadas para sua utilização. Assim o uso de *Bacillus subtilis* em dietas de frangos de corte e sua influência sobre a produção de biogás irão depender do tempo de armazenagem da cama, ou seja, quanto maior o período de armazenamento, menor será a produção de biogás.

Observou-se também que quando utilizamos enzimas (T3) em dietas animais aumentamos a produção de biogás e a produção de metano. As enzimas tornam os nutrientes prontamente disponíveis para as bactérias anaeróbias presentes dentro dos biodigestores. Esses nutrientes somente serão utilizados dentro dos biodigestores como substrato para as bactérias, não sendo utilizado pelos *bacillus* como no T2 e T4. Isso faz com que aumente a disponibilidade de nutrientes e conseqüentemente aumente a produção de biogás.

Poucas pesquisas se têm a respeito de aditivos em dietas de frangos de corte, que interfiram na biodigestão anaeróbia. Mas com o desenvolvimento dessa pesquisa, observou-se que quando adicionamos o complexo enzimático na ração obtemos resultados positivos na produção de biogás.

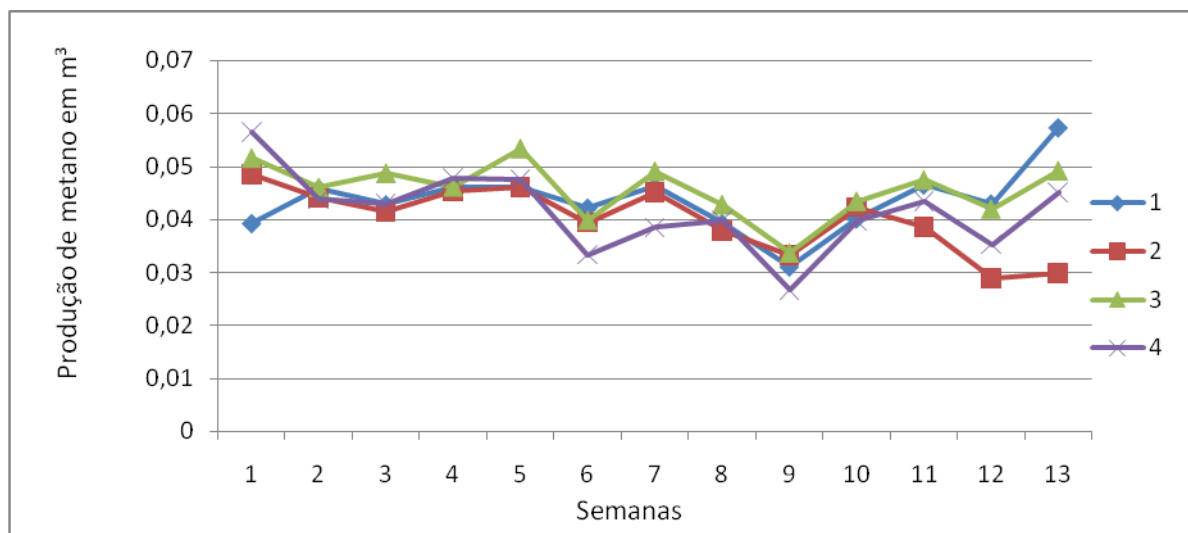


Figura 4. Gráfico da produção de biogás diária em m³, durante 85 dias ou aproximadamente 14 semanas, nos diferentes tratamentos. (Produção de metano (m³) / semanas)

CONCLUSÃO

Sendo assim conclui-se que ao adicionar enzimas exógenas na dieta de frangos de corte, podem-se influenciar as características das excretas e da cama de frango, e conseqüentemente aumentarem a produção de biogás e a qualidade do mesmo, com uma maior produção de metano, mantendo a produção de resíduos.

LITERATURA CONSULTADA

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

APHA. 1995. Standard methods. 19th Edition. American Public Health Association, Washington, DC.

BARRERA, P. Biodigestores: energia, fertilidade e saneamento para a zona rural. São Paulo: Ícone Editora, 1993. 106 p.

BEDFORD, M.R. (2000). Exogenous enzymes in monogastric nutrition - their current value and future benefits. Animal Feed Science and Technology, v.86, p.1-13.

BRICE, R. E. & Morrison, I. M. 1991. Effect of the addition of D-xylose on xylanase activity and digestibility of fiber in an artificial rumen. App. Biochem. and Biotechnol., 30.

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

CAMARERO, L.; DIAZ, J. M; ROMERO, F. Final treatments for anaerobically digested piggery slurry effluents. **Biomass and bioenergy**. Oxford, v 11, n.6, p. 483-489, 1996

CHANG, H T & CHEN J L 2003. Eco-innovative examples for 40 TRIZ inventive

principles. The TRIZ J, Aug 8.

CHERNICHARO, C. A. **Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico em águas residuárias**. 1. Ed. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 1997, 246P.

COLDEBELA, A. Viabilidade do uso do biogás da bovinocultura e suinocultura para geração de energia elétrica e irrigação em propriedades rurais. Dissertação. 2006. 73 f. (Mestrado em Engenharia Agrícola / Engenharia de Sistemas Agroindustriais) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2004.

COMASTRI FILHO, J.A. [Biogás: independência energética do Pantanal Mato-Grossense](#). Corumbá: EMBRAPA-UEPAE Corumbá, 1981. 53 p. il. (EMBRAPA-UEPAE Corumbá. Circular Técnica, 09)

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

COUSINS, Bart. Enzimas na nutrição de aves. In: I Simpósio Internacional ACAV Embrapa sobre Nutrição de Aves, 1999, Concórdia – SC. Anais...Concórdia: 1999. 15p.

DIERICK, N.A.; DECUYPERE, J.A. Enzymes and growth in pigs. In: Cole, D.J.A.; Wiseman, J.; Varley, M.A. (Eds).Principles of pig science. Nottingham: Nottingham University Press, 1994. p.169-195.

FERKET, P. R.; VAN Heugten, E.; VAN Kempen, T. A. T. G; ANGEL, R. Nutritional strategies to reduce environmental emissions from nonruminants. **Journal of Animal Science** v.80 (E. Suppl. 2), p.168-E182, 2002.

FIBROWQATT USA. Power from Poultry Litter. <http://www.fibrowattusa.com/>
<http://www.bensonmn.org/fibrominn/flyer.pdf> (accessed from the web 28.02.08).

FORESTI, E. Fundamento do tratamento anaeróbio. In: VAN HAANDEL, A.C. et a. **Tratamento de esgoto sanitário por processos anaeróbios e disposição controlada no solo**. Rio de Janeiro: ABES, 1999. Cap.2, p. 31-35

FORESTI, E.: FLORENCIO, L.: VAN HAANDEL, A. C.: ZAIATI, M.: CAVALCANTI, P. F. F. Fundamento do tratamento anaeróbio. In: CAMPUS, J. R. (coord). **Tratamento de esgoto sanitário por processos anaeróbios e disposição controlada no solo**. Rio de Janeiro: ABES, 1999. Cap.2, p. 29-52

FULLER, R. Probiotics in man and animals. A review. *J. Appl. Bacteriol.*, v.66, p. 365-378, 1989.

GIBSON GR, ROBERFROID MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* 1995.

GUENTER, W. Pratical experience with the use of enzymes. Capturado em 2002 de <http://www.idrc.ca/books/focus/821/chp6.html>. In *Animal Nutrition*, pp.95-116. Haresign, W., Cole, D. J. A Butterworth Heinmann. Nottingham.

ITODO, I. N.; AWULU, J. O. Effects total solids concentration of poultry, cattle and piggery waste slurries on biogás yield. **Transactions of the ASAE**, v. 42, n. 6, p. 1853-1855, 1999

JIN, L.Z., HO, T.W., ABDULLAH, N., JALALUDIN, S. Probiotics in poultry: modes of action. *World's Poultry Sci-ence Journal*, v. 53, p. 351 – 368, 1997.

KULKARNI, S. R., FRAILI, D. A., SARI, R., MORIARTY-SCHIEVEN, G. H., SHEPHERS, D. S., UDOMPRASERT, P., READHEAD, A. C. S., BLOOM, J. S., FEROCI, M., and COSTA, E. Discovery of a Radio Flare from GRB 990123. *ApJ*, 522, L97–L100, (1999)

LUCAS JR., J. **Algumas considerações sobre o uso do estrume de suínos como substrato para três sistemas de biodigestores anaeróbios**. 1994. 113 f. Tese (Livre-Docência) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1994.

LUCAS JUNIOR, J.; SILVA, S. M. Aproveitamento de resíduos agrícolas para geração de energia. In: SIMPÓSIO DE ENERGIA, AUTOMAÇÃO E INSTRUMENTAÇÃO. CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 27, 1998, Poços de Caldas. **Palestra...** Lavras: SBEA, 1998. P. 63-135

LUCAS JUNIOR, J. Biodigestores para o meio rural. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 24, 1995, Viçosa. **Palestra...** UFV: SBEA 1995

LUCAS, J. Jr.; SANTOS, T. M. B. Aproveitamento de resíduos da indústria avícola para produção de biogás. In: Proceedings do Simpósio sobre resíduos da Produção Avícola. 12 Abril. Concórdia, SC., Brasil, 2000. p. 27-43.

MAGUIRE R.O.; Dou, z.; SIMS, J.T.; BRAKE, J.; JOERM, B.C. Dietary strategies for reduced phosphorus excretion and improved water quality. *Journal of Environmental. Quality* v.34, p.2093-2103, 2005.

MATA-ALVAREZ, J.; MACÉ, S.; LLABRÉ, P. Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 3-16, 2000

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

NAHM, K. H. Additives to reduce P excretion and P solubility in poultry and swine manure. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.44, n.8, p.717-728, 2004.

NAHM, K. H.; CARLSON, C. W. The possible minimum chicken nutrient requirements for protecting the environment and improving cost efficiency. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.11, n.6, p.755-768, 1998.

ODETALLAH N.H., Wang J.J., Garlich J.D. & Shih J.C. 2003. Keratinase in starter diets improves growth of broiler chicks. *Poultry. Sci.* 82:664-670.

PAGANINI, F. J. Manejo da cama. In: A. A. Mendes, I. A. Naas & M. Macari (Eds. **Produção de frangos de corte**. FACTA: Campinas, SP. Brasil, p. 107-116, 2004.

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

RUIZ, U.S. (2010). Complexo enzimático e níveis nutricionais das dietas para fêmeas suínas nas fases de crescimento e terminação. 2010. 87 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

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

SEIFFERT, N.F. Planejamento da atividade avícola visando qualidade ambiental. In: Proceedings do Simpósio sobre resíduos da Produção Avícola. Concórdia, SC., Brasil. pp. 1-20, 12 Abril, 2000.

SWEETEN, J.M.; FULHAGE, C; HUMENIK, FJ. State College, Miss. : The Service. Publication - Cooperative Extension Service, Mississippi State University (1519): 4 p. 1986

SILVA, F.M.; Lucas Junior, J. Biogás: produção e utilização. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, 7p., 2001.

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

Sterling DA, O'Connor JA, **Bonadies J. Geriatric falls: injury severity is high and disproportionate to mechanism.** Journal of Trauma-Injury, Infection and Critical Care 2001

SINGH, S.: SINGH, S. K. Effect of cupric nitrat on acceleration of biogas production. **Energy Conversion and Management**, oxford, v.37, n.4, p. 417-419 1996

SILVA, F. L. et al. Anthocyanins pigments in strawberry. LWT, v. 40, n. 2, p. 374-382, 2007

Torres D.M., Teixeira A.S., Rodrigues P.B. et al. 2003. Eficiência das enzimas amilase, protease e xilanase sobre o desempenho de frangos de corte. Ciênc. Agrotec. 27(6):1404-1408.

SOUZA, C. F. **Biodigestão anaerobia de dejetos de suínos: obtenção de dados e aplicação no desenvolvimento de um modelo dinâmico de simulação da produção de gás.** 2001. 140f. Tese (Doutorado em Zootecnia – Área de Concentração e Produção Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001

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

TORRES, A.C.; NASCIMENTO, W.M.; PAIVA, S.A.V.; ARAGÃO, F.A.S. Bioassay for detection of transgenic soybean seeds tolerant to glyphosate. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.9, p.1053-1057, 2003.

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

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

YADVIK, S. et al. Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques – a review **Bioresource Technology**, Essex, v. 95, n. 1, p. 1-10, 2004

WANG, T., DING, A., GAO, J., and WU, W. S.: Strong ozone production in urban plumes from Beijing, China, *Geophys. Res. Lett.*,33, L21806, doi:10.1029/2006GL027689, 2006.