



JÉSSICA CARLA DAS DORES RIBEIRO

**EFEITO DAS ENZIMAS PROTEASE E FITASE SOBRE O
DESEMPENHO PRODUTIVO E QUALIDADE DOS OVOS DE
POEDEIRAS COMERCIAIS LEVES NO PICO DE
PRODUÇÃO**

LAVRAS - MG

2019

JÉSSICA CARLA DAS DORES RIBEIRO

**EFEITO DAS ENZIMAS PROTEASE E FITASE SOBRE O DESEMPENHO
PRODUTIVO E QUALIDADE DOS OVOS DE POEDEIRAS COMERCIAIS LEVES
NO PICO DE PRODUÇÃO**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Zootecnia, para obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Antônio Gilberto Bertechini
Orientador

LAVRAS-MG

2019

JÉSSICA CARLA DAS DORES RIBEIRO

**EFEITO DAS ENZIMAS PROTEASE E FITASE SOBRE O DESEMPENHO
PRODUTIVO E QUALIDADE DOS OVOS DE POEDEIRAS COMERCIAIS LEVES
NO PICO DE PRODUÇÃO**

**EFFECTS OF PROTEASE AND PHYTASE ENZYMES SUPPLEMENTATION ON
PERFORMANCE AND EGG QUALITY OF COMMERCIAL LAYING HENS AT
PEAK PRODUCTION**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Zootecnia, para obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 26 de junho de 2019.
Dr. Antônio Gilberto Bertechini - UFLA
Me. Andressa Carla de Carvalho - UFLA
Me. Alisson Hélio Sampaio Clemente - UFLA

Prof. Dr. Antônio Gilberto Bertechini
Orientador

LAVRAS-MG

2019

*A minha filha Aylla, que apesar das
dificuldades enfrentadas foi um
incentivo para eu vencer.*

*Aos meus pais, Iára (in memoriam) e
Carlos que sempre sonharam
por mais essa conquista.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por me conceder força e coragem para vencer os obstáculos durante todos esses anos de graduação.

A Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade e ensinamentos.

A PRP/UFLA, pela concessão de bolsa de iniciação científica durante a graduação.

Ao professor Antônio Gilberto Bertechini, pela orientação e participação na minha carreira acadêmica.

A professora Raquel Moura, que me acolheu em momentos especiais e também contribuiu para minha formação.

Aos meus pais, Iára (*in memoriam*) e Carlos pelo apoio, suporte e que sempre torceram para que este dia especial chegasse.

A minha filha, Aylla que é a razão de minha vida, pelo carinho, amor e alegrias.

A minhas amigas, Ana Elisa (*in memoriam*) e Andressa pela paciência, amizade, força, ensinamentos e companheirismo em todos os momentos, tanto na vida acadêmica como pessoal ao longo de todos esses anos.

Ao NECTA, pela oportunidade do crescimento pessoal e profissional e também pelas novas amizades.

Ao NEQUI, pelos conhecimentos e experiências vividas.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

As dietas normalmente utilizadas para a nutrição das aves são compostas principalmente por ingredientes de origem vegetal (milho e farelo de soja). Estes ingredientes possuem fatores antinutricionais como o ácido fítico, o qual limita a exploração do máximo potencial produtivo das aves. Diversas pesquisas na área de nutrição animal, buscam inovações por meio da utilização de aditivos tecnológicos, como as enzimas exógenas, que possibilitam que os ingredientes presentes nas rações sejam melhor aproveitados pelas aves durante o processo digestivo proporcionando maior rentabilidade no sistema de produção de ovos. Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes níveis das enzimas exógenas fitase e protease sobre o desempenho produtivo e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais leves em pico de produção. O experimento foi realizado utilizando-se 420 poedeiras leves da linhagem Lohmann LSL Lite com 30 semanas de idade, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, alojadas em 42 gaiolas sendo 10 aves em cada unidade experimental. O ensaio experimental foi dividido em três períodos de 21 dias, totalizando 63 dias de avaliação. Foram utilizados seis tratamentos com sete repetições sendo: controle positivo (CP) - níveis de Ca e P recomendados, controle negativo 1 (CN1) - matriz da fitase com redução dos níveis de Ca e P, controle negativo 2 (CN2) - matriz da protease com redução do nível de proteína bruta, CN1 + 125 g/t de protease + 60 g/t de fitase (300 FTU/kg), CN1 + 125g/t de protease + 120 g/t de fitase (600 FTU/kg) e CN2 + 125 g/t de protease. As variáveis mensuradas para avaliar o desempenho produtivo foram: consumo de ração, conversão alimentar (kg/kg e kg/dz), produção de ovos e peso médio dos ovos. Já para avaliar a qualidade dos ovos analisou-se: espessura de casca, unidade haugh, peso específico e coloração da gema. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o pacote computacional SAS (2002), considerando-se os períodos de avaliação como sub-parcela e o período total experimental. A comparação entre os tratamentos foi realizada por meio do teste de SNK 5% de probabilidade. Houve efeito ($P < 0,05$) nas variáveis de desempenho produtivo (produção de ovos e conversão alimentar por massa de ovos e por dúzia) quando utilizou-se enzimas fitase e protease na dieta das aves. Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) nas variáveis analisadas para qualidade dos ovos (unidade Haugh, cor e peso específico), apenas a espessura de casca foi influenciada pelos tratamentos ($P < 0,05$). Assim, pode-se concluir que a utilização da enzima fitase em menor nível (60 g/t) recuperou o desempenho produtivo das aves em relação ao controle negativo 1. A utilização de 120 g/t de fitase obteve resultados semelhantes ao menor nível de inclusão da enzima. Em relação a enzima protease utilizada de forma isolada, observou-se que a produção de ovos e a conversão alimentar foram melhoradas em relação ao controle negativo 2.

Palavras-chave: Avicultura. Ácido fítico. Fatores antinutricionais. Nutrição. Enzimas exógenas.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Evolução brasileira da produção de ovos de galinha por trimestres, 2014-2019	12
Figura 2 - Estrutura molecular do ácido fítico (fitato).	15
Figura 3 - Hidrólise do fitato pela fitase em inositol e minerais.	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tratamentos Experimentais.	22
Tabela 2 - Composição das rações experimentais.	22
Tabela 3 - Desempenho produtivo das poedeiras de acordo com os tratamentos.	26
Tabela 4 - Qualidade de ovos das poedeiras de acordo com os tratamentos.....	27

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	Produção de ovos e idade de postura	11
2.2	Utilização de enzimas na avicultura	12
2.3	Fitato ou ácido fítico (hexafosfato de inositol)	14
2.4	A enzima fitase	16
2.5	A enzima protease	18
3	MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1	Local de execução.....	20
3.2	Animais e Instalações.....	20
3.3	Manejo experimental	21
3.4	Delineamento e tratamentos experimentais	21
3.5	Dietas experimentais	22
3.6	Procedimento experimental.....	23
3.6.1	Variáveis analisadas para desempenho produtivo	24
3.6.2	Variáveis analisadas para qualidade dos ovos	24
3.7	Análises Estatísticas	25
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5	CONCLUSÃO.....	28
	REFERÊNCIAS.....	29

1 INTRODUÇÃO

A avicultura de postura vem se destacando, principalmente, devido ao fato de que o ovo é um alimento completo e de extrema importância para a alimentação humana sendo seu consumo estimulado por apresentar em sua composição nutricional proteína de excelente valor biológico e baixo custo ao consumidor.

A indústria brasileira de produção avícola é considerada avançada no agronegócio mundial, devido à evolução nas diversas áreas, principalmente na nutrição, buscando melhorias no resultado zootécnico e mantendo ou reduzindo o custo de produção (JUNQUEIRA et al., 2013).

De acordo com o relatório anual da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2018), a produção brasileira de ovos em 2017 foi aproximadamente de 39,9 bilhões de unidades, sendo que 99,74 % da produção total é destinada ao mercado interno, onde o consumo per capita atingiu 192 unidades. A estimativa da ABPA para 2018 é que o consumo per capita de ovos brasileiro deve alcançar 212 unidades.

As dietas normalmente utilizadas para a nutrição das aves são compostas principalmente por ingredientes de origem vegetal (milho e farelo de soja). Estes ingredientes possuem fatores antinutricionais como o ácido fítico, o qual limita a exploração do máximo potencial produtivo das aves. Diversas pesquisas na área de nutrição animal, buscam inovações por meio da utilização de aditivos tecnológicos, como as enzimas exógenas, que possibilitam que os ingredientes presentes nas rações sejam melhor aproveitados pelas aves durante o processo digestivo proporcionando maior rentabilidade no sistema de produção de ovos.

As aves são capazes de produzir enzimas endógenas, porém, essa quantidade não é suficiente para atender toda a demanda do organismo. Assim, a suplementação das dietas com enzimas exógenas vem crescendo nos últimos anos de forma a intensificar a ação das enzimas já produzidas por síntese endógena.

A utilização de enzimas exógenas, principalmente, a fitase e a protease, utilizadas individualmente ou associadas na forma de complexos enzimáticos atuam minimizando o efeito dos fatores antinutricionais presentes nos ingredientes da ração, melhorando a disponibilidade e o aproveitamento de nutrientes como minerais, aminoácidos e energia. As enzimas também são utilizadas como alternativa para reduzir a contaminação ambiental por meio da excreção de nutrientes (fósforo, nitrogênio, cobre e zinco) presentes nas excretas das

aves (JUNQUEIRA et al., 2013). Além disso podem aumentar os índices zootécnicos e otimizar os custos de produção, visto que a alimentação representa 70% do custo total.

Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes níveis de suplementação das enzimas exógenas fitase e protease em rações para poedeiras comerciais leves (Lohmann LSL Lite) em pico de produção (30 semanas de idade) sobre o desempenho produtivo e qualidade dos ovos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Produção de ovos e idade de postura

O setor avícola de postura tem apresentado crescimento significativo nos últimos anos. Com a evolução da nutrição associada ao manejo, sanidade e genética, as poedeiras comerciais se tornaram mais precoces e aumentaram sua produtividade, com média de 300 ovos no 1º ciclo de produção. Esses fatores quando associados de maneira correta resultam em melhor desenvolvimento do aparelho reprodutivo e peso corporal das aves.

De acordo com os dados do IBGE (2019), a produção de ovos no 1º trimestre de 2019 foi de 912,64 milhões de dúzias, correspondendo a um aumento de 6 % comparado ao 1º trimestre de 2018 (Figura 1). A produção de 51,57 milhões de dúzias a mais, no comparativo entre os 1ºs trimestres 2019/2018 foi impulsionada por aumentos na produção principalmente pelos estados do Ceará (+9,64 milhões de dúzias), Espírito Santo (+8,78 milhões de dúzias) e Paraná (+7,90 milhões de dúzias). O estado que se destaca com maior produção no 1º trimestre de 2019 é São Paulo, representando 27,9 % da produção nacional, seguido respectivamente pelos estados: Espírito Santo (9,9%), Minas Gerais (9,4%) e Paraná (9,1%).

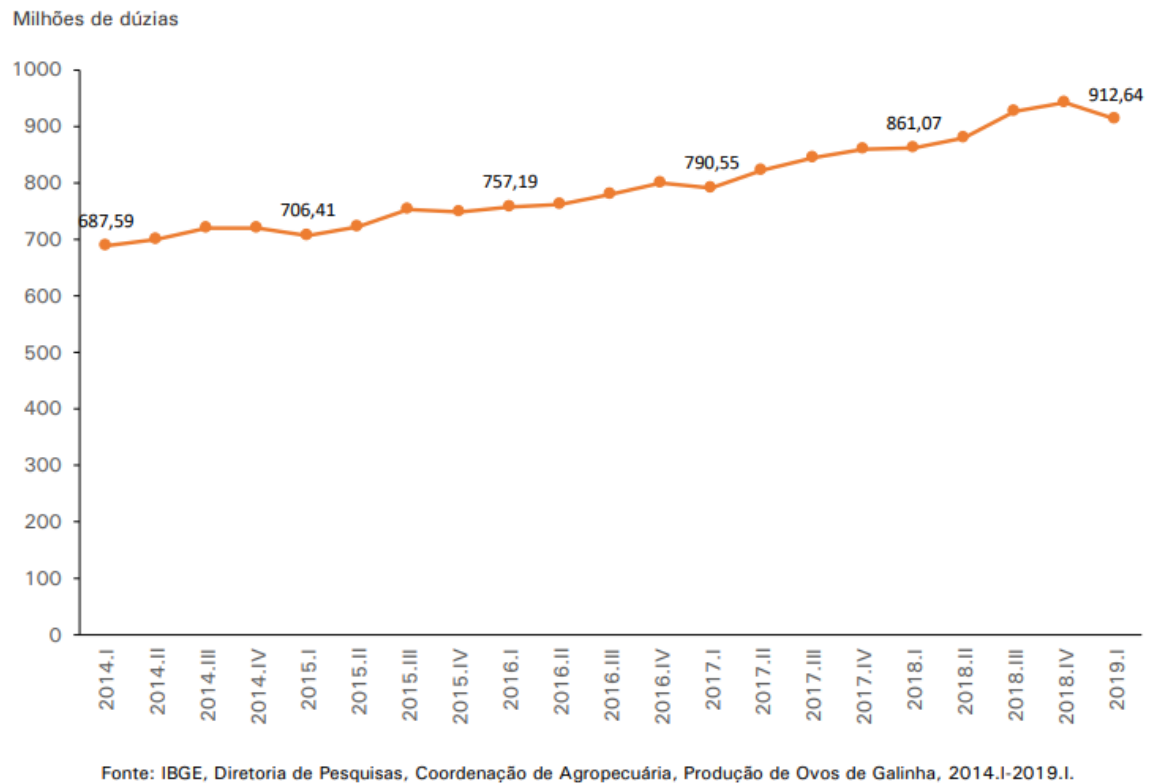


Figura 1- Evolução brasileira da produção de ovos de galinha por trimestres, 2014-2019.

Fonte: IBGE (2019).

As aves iniciam a postura com aproximadamente 18 semanas de idade e em torno de 20-21 semanas, estas atingem 50% de produção de ovos considerando-se o início da postura do plantel. O pico de produção ocorre próximo à 25ª semana de idade, período no qual as poedeiras modernas têm atingido em torno de 95% de produção e alta persistência de postura com mais de 30 semanas, com 90% de produção (BERTECHINI, 2013). Assim o uso de dietas balanceadas faz-se necessário para atender a grande demanda das aves em produção, mantendo alta produtividade por período mais longo.

2.2 Utilização de enzimas na avicultura

De acordo com Mcknight (1996) e Rostagno et al. (2005), o fósforo presente nos grãos dos ingredientes de origem vegetal apresenta-se em torno de 70% indisponível, na forma de fitato ou ácido fítico. O ácido fítico ainda pode se quelatar com outros minerais como cálcio, zinco, ferro, magnésio e também com outros nutrientes como aminoácidos e lipídeos, tornando-os indisponíveis ao animal (SNOW; DOUGLAS; PARSONS, 2003).

Os minerais são de extrema importância, pois, além de atuarem em rotas metabólicas, na reprodução e no crescimento das aves, influenciam diretamente na produção e qualidade dos ovos, sendo componentes necessários para sua formação (FREITAS, 2017). A casca do ovo é considerada proteção natural contra agentes patogênicos e tem como função manter a qualidade do produto. A mesma tem como principal constituinte o carbonato de cálcio (CaCO_3), além de minerais como Ca, P, Mg (ORNELLAS, 2001). Os requerimentos para formação da casca são de 2100 mg de Ca e 20 mg de P (na forma de fosfato de cálcio), que quando fornecidos em níveis inadequados na dieta podem provocar má qualidade de casca com altos índices de quebra (LIGEIRO, 2007).

O nível de energia das rações também é importante, estando relacionado ao ganho de peso das aves, tamanho do ovo e eficiência alimentar, sendo que poedeiras na fase de produção possuem controle da ingestão calórica por meio da variação do consumo de ração. Já o nível protéico tem influência principalmente no tamanho do ovo, sendo que o consumo extra de 1 g de proteína resulta em aumento de 1,4 g no peso dos ovos (BERTECHINI, 2013). Assim faz-se necessário, para poedeiras, o ajuste dos níveis nutricionais para que assim haja máxima produção com o menor ganho de peso das aves.

As enzimas exógenas são substâncias protéicas que têm a capacidade de auxiliar na degradação de componentes específicos presentes nos alimentos. Elas atuam por meio de alguns mecanismos, ligando-se a um substrato específico e formando complexos enzima-substrato. A enzima protease tem como substrato as proteínas, obtendo efeito de degradação mais eficiente das proteínas presentes nos vegetais pelo organismo dos animais. Já a enzima fitase apresenta o ácido fítico como substrato, proporcionando melhor utilização do fósforo presente nos vegetais (JUNQUEIRA et al., 2013).

Diversos estudos com fitases produzidas por fungos foram iniciadas em 1962, mas somente a partir de 1991 é que a fitase obtida por meio da fermentação por *Aspergillus niger* foi comercialmente produzida e utilizada na nutrição animal (SELLE; RAVINDRAN, 2008). O desenvolvimento de enzimas exógenas tem como objetivo principal a complementação das enzimas endógenas já produzidas no trato gastrointestinal, removendo ou hidrolisando os fatores antinutricionais dos ingredientes de forma a aumentar a digestibilidade de nutrientes. O fósforo (P) por exemplo, é absorvido pelas aves na forma de ortofosfato e, assim, a utilização de P presente no fitato por monogástricos depende em grande parte da capacidade das enzimas em hidrolisá-lo e torná-lo disponível para utilização pelo animal (AUGSPURGER et al, 2003).

O intestino delgado dos animais monogástricos possui capacidade limitada em hidrolisar o fitato (IQBAL; LEWIS; COOPER, 1994), devido à baixa população microbiana na parte superior do trato digestivo (FERREIRA; LOPES, 2012) e produção não significativa de enzimas endógenas para aproveitar o fósforo na forma de fitato. Assim é necessário a suplementação com outras fontes de fósforo inorgânico nas dietas para suprir as exigências das aves. Com isso, a utilização da enzima fitase apresenta-se como alternativa econômica na produção de rações para animais monogástricos, pois diminui a inclusão de outras fontes de fósforo, como o fosfato bicálcico que possui custo elevado de comercialização, otimizando os custos de produção (MULLANEY; ULLAH, 2003). Além disso, melhora a disponibilidade e o aproveitamento dos nutrientes, aumentando os índices zootécnicos e reduzindo a excreção de fósforo dietético e outros componentes presentes nas excretas das aves, evitando a contaminação ambiental.

2.3 Fitato ou ácido fítico (hexafosfato de inositol)

De acordo com Bertechini (2013), 2/3 do fósforo presente nos ingredientes de origem vegetal estão indisponíveis para as aves, sendo que sua biodisponibilidade varia de acordo com o teor de ácido fítico presente no alimento. Esse mineral, tem grande importância na alimentação de poedeiras, pois é componente essencial na formação óssea, na produção e qualidade dos ovos.

O ácido fítico é a combinação do fósforo com o inositol, um composto orgânico com grande potencial de complexação, que diminui a solubilidade e a digestibilidade dos nutrientes. Este composto está presente nos grãos de vegetais, cereais e oleaginosas, e é utilizado como reserva pelas plantas como principal forma de armazenamento de fósforo (ZENG et al., 2011). O acúmulo do fitato ocorre durante o amadurecimento dos grãos e sementes, juntamente com substâncias de armazenamento, tais como amido e lipídeos (ALVES, 2014) e sua concentração no vegetal pode variar de 1 a 5% (LEI; PORRES, 2003).

O ácido fítico apresenta em sua estrutura seis grupos fosfato em uma única molécula de carbono e sob pH neutro esses grupos apresentam átomos de oxigênio carregados negativamente. Dessa forma, cátions são capazes de se ligar fortemente entre dois grupos fosfato, ou de forma mais fraca a um grupo fosfato (FRANCESCHINA et al., 2016). Sua fórmula molecular é $C_6H_{18}O_{24}P_6$ (hexafosfato de inositol) e está representada na figura a seguir:

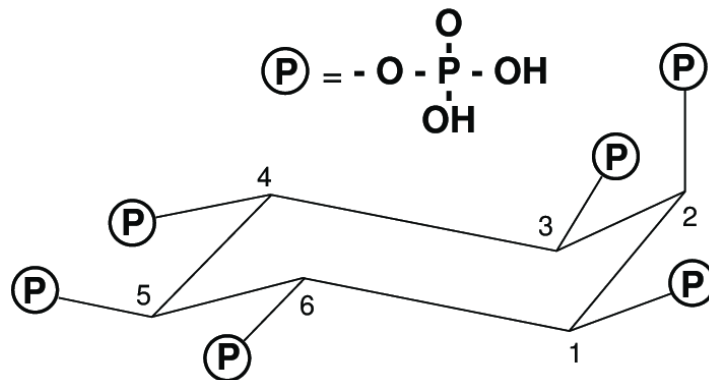


Figura 2- Estrutura molecular do ácido fítico (fitato).

Fonte: Faria et al. (2006).

O fitato, por ser um ânion reativo, ao se ligar com minerais (Ca, P, Zn, Mg, Cu) forma sais insolúveis tornando-se mais resistente ao processo de digestão, indisponibilizando esses nutrientes para utilização pelas aves (SINGH, 2008). O mesmo ainda pode formar complexos com proteínas e enzimas endógenas (tripsina, quimiotripsina e amilase), inibindo sua atividade no trato gastrointestinal, diminuindo a digestibilidade de carboidratos e proteínas devido ao fato de se quelatar com o cálcio que seria utilizado na atividade dessas enzimas (LIGEIRO, 2007; YU et al., 2012). Em pesquisa realizada com poedeiras, onde houve redução nutricional das dietas (nível de proteína bruta de 17 % para 15 % e nível de energia metabolizável de 2900 Kcal/Kg para 2800 Kcal/kg), De Lima et al. (2010) observaram que a produção de ovos das aves não foi influenciada quando as dietas foram suplementadas com 600 FTU/Kg de enzima fitase.

A interferência do fitato na digestibilidade de aminoácidos se dá pelo fato desse composto possuir carga negativa e assim interagir com aminoácidos básicos, como por exemplo, a lisina, histidina e arginina formando o complexo proteína-fitato quando o pH do estômago apresentar-se menor que o ponto isoelétrico das proteínas. Outra constatação é que o fitato induz aumento no fluxo de aminoácidos endógenos por estimular a secreção de mucoproteínas gastrointestinais, e assim ocorre maior perda de aminoácidos (RIBEIRO JUNIOR et al., 2015).

O Zinco (Zn) é um dos minerais mais vulneráveis à formação de complexo com o fitato. A presença de Ca^{2+} agrava esse efeito, proporcionando estabilidade na formação do complexo altamente insolúvel (fitato-Ca-Zn), no intestino delgado, onde ocorre maior absorção de minerais (FRANCESCHINA et al., 2016). Este é um efeito de muitos cátions

bivalentes (OBERLEAS; HARLAND, 2010), porém o Ca^{2+} é normalmente o cátion bivalente de maior concentração na dieta sendo assim o mais provável de estar envolvido na formação de complexos com o fitato (RIBEIRO JUNIOR et al., 2015).

Outro mineral geralmente indisponível pela atuação do fitato é o ferro (Fe^{3+}) (NIELSEN; TETENS; MEYER, 2013). O fitato pode se complexar com ferro para formar o fitato monoférrico, que é solúvel em água. Porém há possibilidade do fitato se quelatar com quatro íons Fe^{3+} , formando o fitato tetraférrico que não é solúvel em água, indicando que existem diferenças na biodisponibilidade do ferro e na solubilidade dos diferentes complexos (NIELSEN; TETENS; MEYER, 2013). De acordo com Cao (1996), poedeiras possuem maior necessidade de Fe, sendo que a quantidade depositada em cada ovo (1,5 mg) representa 25% das reservas presentes no fígado.

2.4 A enzima fitase

A enzima mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase, mais conhecida como fitase, pode ser encontrada em alguns tecidos animais, plantas e nos microorganismos. Geralmente os vegetais contêm alguma atividade de fitase, porém quando esses ingredientes são adicionados às rações e submetidos ao processo de peletização ocorre perda de atividade catalítica devido à desnaturação térmica da enzima. Com isso, a fitase obtida por origem microbiana é mais adequada para produção, principalmente em escala comercial devido ao fato de ser mais estável às variações no pH e temperatura. Segundo Lei e Porres (2003), a termoestabilidade é a capacidade da enzima em resistir à desnaturação térmica e/ou retornar a sua conformação tridimensional original após processamento térmico.

A fitase exógena é produzida por meio da utilização de bactérias, leveduras e fungos principalmente do gênero *Aspergillus niger* (COSTA et al, 2007). Para a produção da enzima, podem ser utilizados dois tipos básicos de fermentação, a fermentação submersa e a fermentação em estado sólido. A atividade da enzima é expressa em FTU (unidade de fitase ativa), e definida como a quantidade de enzima necessária para liberar um micromol de fósforo inorgânico, em um minuto, em substrato de sódio fitato, à temperatura de 37°C e pH 5,5 (YI; KORNEGAY; DENBOW, 1996).

As enzimas podem ser classificadas de acordo com a preferência inicial de hidrólises: no carbono 3, chamada enzima 3-fitases; no carbono 6, enzima 6-fitases e no carbono 5, enzima 5-fitases (BEDFORD; PARTRIDGE, 2010). De acordo com o pH são classificadas

como ácidas (pH 3 a 6) e alcalinas (pH 5,5 a 8), porém existem algumas fitases com grande amplitude de pH, variando de 3 a 8 (BERTECHINI, 2013). Com base no mecanismo catalítico, podem ser referidas como fitases ácido histidina (HAPhy), β -hélice fitases (BPPhy), fitases de cisteína (CPhy) ou fitases ácido “purple” (PAPhy) (MULLANEY; ULLAH, 2003). Essas classificações são importantes pois definem o uso das enzimas de forma mais eficiente, para que atuem em determinado segmento do trato gastrointestinal e espécie animal.

De acordo com pesquisas, a suplementação com a enzima fitase pode aumentar em 33% o fósforo disponível de ingredientes vegetais (BERTECHINI, 2013). Segundo Borman, Bertechini e Fialho (2001) e Vieira e Bertechini (2001), o uso de fitase sendo 300 FTU/kg em rações para poedeiras de segundo ciclo, economizou 0,1% de fósforo disponível na dieta, correspondendo a 5,5 kg/t de fosfato bicálcico (18% Pd).

A efetividade da fitase é comprovada, porém sua eficácia depende de fatores como: idade das aves, ingredientes da ração e composição da dieta, principalmente o nível de cálcio e a relação cálcio:fósforo são cruciais para a eficácia da fitase (ANGEL et al., 2002). A forma de fornecimento do Ca também pode interferir na atividade da fitase, já que o calcário possui capacidade de complexar prótons presentes no meio luminal, como resultado, o pH da digesta no intestino proximal é elevado tornando o meio mais alcalino (SELLE; RAVINDRAN, 2007).

Em pesquisa realizada por Gutiérrez et al. (2011) foi observado que a suplementação da enzima fitase em dietas à base de farelo de soja e sorgo, com redução do nível energético da ração, as aves apresentaram massa de ovos superior quando comparadas às aves do tratamento onde não houve adição da enzima.

Em estudo conduzido por Lei et al. (2011), foi observado que quando foram utilizadas dietas com redução de energia, proteína e adição da enzima fitase, poedeiras da linhagem Lohmann no período de 56 a 76 semanas de idade, apresentaram menor taxa de mortalidade e maior produção de ovos, assemelhando-se aos resultados observados para aves que receberam rações do tratamento controle positivo, onde não houve adição da enzima fitase.

De acordo com Bertechini (2013) a fitase melhora a digestibilidade dos aminoácidos em torno de 2 a 3% devido a capacidade de realizar a hidrólise dos complexos de fitato liberando os nutrientes retidos (Figura 3), que podem ser absorvidos no intestino das aves. A mesma enzima ainda é eficaz na liberação do fósforo da estrutura anelada do fitato e aumenta a biodisponibilidade de cátions bivalentes (Ca, Mg, Zn, Mn, Fe). A partir do momento em que

há liberação do fósforo dos quelatos, pode ocorrer aumento de 0,2% da digestibilidade do cálcio dietético, implicando em redução na suplementação desse ingrediente na ração. Assim há também maior retenção de fósforo no trato gastrointestinal minimizando em até 30% a quantidade excretada, reduzindo o impacto ambiental.

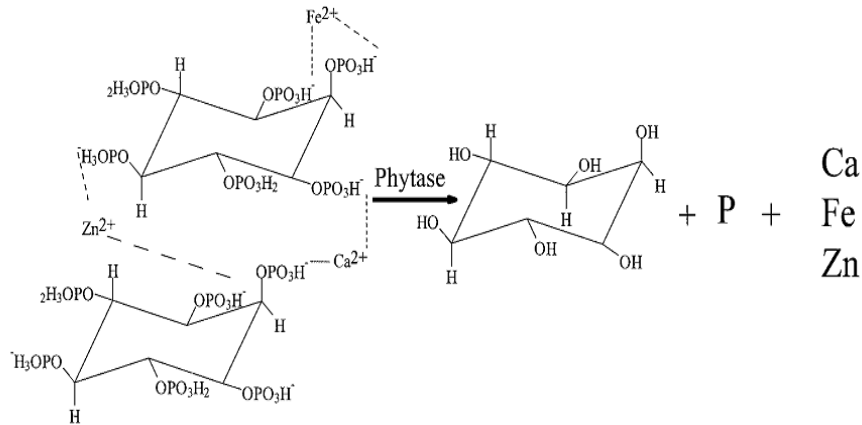


Figura 3 - Hidrólise do fitato pela fitase em inositol e minerais.

Fonte: Lei e Porres (2003).

Em estudo realizado por Silversides e Hruby (2009), foi observado redução proporcional de 34 e 47 kcal/kg de energia metabolizável aparente, 0,18 e 0,21% na proteína bruta, 0,12 e 0,15% de Pd quando poedeiras com 30 semanas de idade receberam dietas com suplementação de fitase 300 e 600 FTU/kg respectivamente. Os mesmos concluíram que a utilização da fitase proporciona benefícios adicionais em relação à disponibilização de outros nutrientes além do fósforo, especialmente energia e proteína. No mesmo estudo não foi observado efeito sobre a produção de ovos das aves alimentadas com ração formulada com a matriz nutricional da enzima em relação ao tratamento controle positivo.

2.5 A enzima protease

As proteínas possuem grande importância no desenvolvimento das aves, porém sua utilização em rações representa alto custo. Assim, o objetivo da inclusão de enzimas exógenas como a protease na ração, é reduzir a quantidade de proteína bruta da dieta sem interferir no desempenho zootécnico (YU et al., 2012). Além disso, a suplementação com protease apresenta-se como ferramenta essencial utilizada na avicultura, para buscar máximo

desempenho das aves e reduzir a emissão de poluentes no meio ambiente, principalmente por meio das excretas das aves.

Embora as proteínas presentes principalmente no farelo de soja apresentem alta digestibilidade, o ingrediente em questão também contém fatores antinutricionais (inibidores de proteases). Dessa forma, a utilização da enzima protease facilita a degradação dos complexos proteicos e proporciona melhor aproveitamento de aminoácidos (ROSTAGNO et al., 2011).

As proteases podem ser extraídas de diversos organismos, incluindo bactérias, fungos, leveduras, tecidos de mamíferos e de plantas. Porém, grande proporção das proteases disponíveis comercialmente são derivadas principalmente de linhagens de *Bacillus*, por serem estes organismos produtores de quantidade substancial de protease extracelular (LADEIRA et al., 2010). A produção de enzimas em escala industrial é realizada por meio de processo fermentativo, submerso ou em estado sólido. O bioprocessamento submerso é mais utilizado devido ao cultivo de microorganismos ser mais fácil, garantindo homogeneidade do meio e facilidade no controle do processo. Porém, a desvantagem é que possui maior facilidade de contaminação devido à alta atividade de água e possibilidade de desenvolvimento de bactérias, leveduras e fungos (LIMA et al., 2001).

As proteases exógenas normalmente atuam em sítios específicos (BERTECHINI, 2013) e tem como função catalisar a clivagem de ligações peptídicas de proteínas em moléculas menores (peptídeos) para facilitar a absorção pelas células (WISEMAN, 1991).

As proteases podem ser classificadas de acordo com o tipo de reação catalisada, natureza química do sítio catalítico e reação evolucionária em conformidade com a estrutura (VERMELHO et al., 2008). Estas são classificadas em endopeptidases ou exopeptidases, quando atuam na porção interna ou externa das cadeias polipeptídicas, respectivamente. Dentro do grupo das exopeptidases, há um subgrupo, aminopeptidases que agem na região N-terminal e carboxipeptidases na região C-terminal da proteína. As carboxipeptidases ainda são subdivididas em serina, metalo e cisteína-carboxipeptidases. Já o grupo das endopeptidases é composto por serina, cisteína, aspártico, metalo e treonina-endopeptidases (SILVA, 2013). De acordo com a faixa de pH podem ainda ser classificadas em alcalinas (pH 8 a 13), ácidas (pH 2 a 6) ou neutras (pH 6 a 8).

As proteases representam 60% do mercado mundial de enzimas, sendo 40% referente às proteases de origem microbiana (JOHNVESLY; NAIK, 2001), já que as originárias de plantas e animais não atendem a demanda industrial. A produção microbiana de enzimas,

especificamente proteases, atingiu maior porcentagem de exportação do que importação, devido ao desenvolvimento de tecnologias que impulsionaram a utilização desse produto na nutrição animal (BRASIL, 2012). Além disso é beneficiada pelo seu pequeno tempo de geração, pela diversidade e facilidade de manipulação fisiológica e genética desses seres vivos (VERMELHO et al., 2008).

A inclusão de enzimas na dieta das aves tem se tornado cada vez mais comum, porém, apesar de vários estudos científicos com fitases e proteases, ainda existem dúvidas dos efeitos das novas enzimas que são constantemente lançadas no mercado. Isso implica no desenvolvimento de novos trabalhos para efetivar o uso e melhorar atividade das mesmas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de execução

O experimento foi realizado no Centro de Pesquisa e Tecnologia Avícola (CPTA), localizado na BR 265 Km 344, no município de Lavras, região sul do estado de Minas Gerais. Nas coordenadas geográficas: latitude 21^o14'30'' (S), longitude 45^o00'10'' (O) e 910 metros de altitude. As temperaturas médias registradas no período experimental foram de 27,8 °C (máx) e 15,7 °C (mín), já para umidade relativa, 74% (máx) e 40% (mín).

3.2 Animais e instalações

As aves foram alojadas em galpão convencional de postura, coberto com telha de zinco, apenas com ventilação natural, orientado no sentido leste-oeste com as duas faces totalmente fechadas de alvenaria, e as faces norte-sul fechadas com tela e cortinas móveis.

A instalação possui duas baterias de gaiolas com três andares cada, dispostas no sentido do comprimento do galpão e esteira automática para coleta de excretas. O arraçamento e a coleta de ovos foi realizada de forma manual.

As gaiolas são de arame galvanizado, nas dimensões de 75 cm de frente x 63 cm de profundidade x 50 cm de altura, equipadas com bebedouro tipo nipple e comedouro tipo calha individualizados.

Utilizou-se 420 poedeiras leves da linhagem Lohmann LSL Lite com 30 semanas de

idade no início do experimento, submetidas a regime de alimentação e água à vontade. As aves foram alojadas em 42 gaiolas, com 10 aves cada, conferindo uma densidade de 472,5 cm²/ave, sendo cada gaiola considerada uma unidade experimental.

O programa de iluminação adotado foi de acordo com as recomendações do manual da linhagem (GUIA DE MANEJO LOHMANN LSL-LITE), para aves com 30 semanas de idade, sendo que utilizou-se 16 horas de luz com intensidade luminosa de 10 lux, complementando a iluminação natural.

3.3 Manejo experimental

Anteriormente ao início do experimento, as aves foram pesadas e após a obtenção do peso médio foi verificada a uniformidade do lote (86%) e as mesmas distribuídas nas unidades experimentais padronizadas por peso e submetidas ao mesmo manejo.

O fornecimento de ração foi realizado duas vezes ao dia, sendo no período da manhã às 8 horas e no período da tarde às 17 horas.

A coleta de ovos foi realizada diariamente no período da tarde após o fornecimento da ração, onde em planilha específica foi registrado o número de ovos classificados como: íntegros, quebrados, trincados, deformados (enquadravam-se nessa categoria ovos de casca porosa, formatos irregulares e muito pequenos ou grandes), sem casca, sujos de excretas ou de sangue.

Diariamente também foi anotada em planilhas a mortalidade das aves e realizada a pesagem da ração para correção do cálculo de consumo de ração e conversão alimentar.

3.4 Delineamento e tratamentos experimentais

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com seis tratamentos (Tabela 1) e sete repetições, com 10 aves por unidade experimental.

Tabela 1 - Tratamentos Experimentais.

Trat	Descrição	Doses de Enzima (g/Ton)		Níveis Nutricionais			
		Protease ¹	Fitase ²	EM	PB (%)	Ca (%)	Pd (%)
1	Controle Positivo (CP)	-	-	2800	16,800	3,770	0,350
2	Controle Negativo 1 (CN1)	-	-	2750	16,165	3,620 (-0,15)	0,200 (-0,15)
3	CN1 + Dose 1 de fitase + protease	125	60 300FTU/kg	2750	16,165	3,620 (-0,15)	0,200 (-0,15)
4	CN1 + Dose 2 de fitase + protease	125	120 600FTU/kg	2750	16,165	3,620 (-0,15)	0,200 (-0,15)
5	Controle Negativo 2 (CN2)	-	-	2780	16,165	3,770	0,350
6	CN2 + protease	125	-	2780	16,165	3,770	0,350

¹Tecmax Pro FC - Tectron, ²Sunphase Pó P5000 - Tectron

3.5 Dietas experimentais

As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja seguindo as recomendações nutricionais de acordo com o manual da linhagem e com as modificações necessárias para o melhor desempenho das aves (Tabela 2).

Tabela 2 - Composição das rações experimentais.

	CP	CN1	CN1+ ENZ1	CN1+ ENZ2	CN2	CN2+ ENZ
Milho 7,88%	61,5078	62,9823	62,9823	62,9823	64,2893	64,2791
Farelo de Soja 46%	25,6491	24,0147	24,0147	24,0147	23,7688	23,7688
Caulim	0,5288	2,1066	2,0881	2,0821	0,4851	0,4851
Sal comum	0,4184	0,4311	0,4311	0,4311	0,4181	0,4181
Calcário Calcítico 38%	8,9950	9,0150	9,0150	9,0150	9,0000	9,0000
Fosfato monobicálcico	1,2700	0,5200	0,5200	0,5200	1,2850	1,2850
Óleo Soja	1,1955	0,5000	0,5000	0,5000	0,3203	0,3203
DL-Metionina 99%	0,1350	1,2520	1,2520	1,2520	1,2380	1,2380
L-Lisina 80%	0,0000	0,0510	0,0510	0,0510	0,0960	0,0960
Cloreto de Colina 60%	0,0500	0,5000	0,5000	0,5000	0,5000	0,4770
Adsorvente	0,1000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000

Tabela 3 - Composição das rações experimentais. ("continua")

	CP	CN1	CN1+ ENZ	CN1+ ENZ2	CN2	CN2+ ENZ
Protease ¹	0,0000	0,0000	0,0125	0,0125	0,0000	0,0125
Fitase ²	0,0000	0,0000	0,0060	0,0120	0,0000	0,0000
Premixe Mineral	0,0500	0,0500	0,0500	0,0500	0,0500	0,0500
Premixe Vitamínico	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000
Total	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
Níveis nutricionais						
EM Aves, kcal/kg	2.800	2.750	2.800	2.800	2.775	2.800
En. Enzi. Aves, kcal/kg	0,000	0,000	50,000	50,000	0,000	25,000
Proteína Bruta, %	16,800	16,165	16,165	16,165	16,165	16,165
Proteína Enzimática, %	0,000	0,000	0,635	0,635	0,000	0,635
Proteína Disp Total, %	16,800	16,165	16,800	16,800	16,165	16,800
Gordura Bruta, %	3,624	2,958	2,958	2,958	2,822	2,821
Fibra Bruta, %	2,982	2,908	2,908	2,908	2,922	2,922
Cálcio Disp Total, %	3,770	3,625	3,625	3,625	3,770	3,770
Fósforo Total, %	0,540	0,386	0,386	0,386	0,537	0,537
Fósforo Disponível, %	0,350	0,200	0,200	0,200	0,350	0,350
Met+Cist Dig. Aves, %	0,627	0,602	0,627	0,627	0,602	0,627
Treonina Dig. Aves, %	0,550	0,528	0,550	0,550	0,528	0,550
Triptofano Dig. Aves, %	0,182	0,174	0,180	0,180	0,173	0,179
Lis:M+C Aves, %	0,794	0,798	0,795	0,795	0,798	0,795
Lis:Tre Aves, %	0,696	0,701	0,697	0,697	0,700	0,697
Lis:Tri Aves, %	0,231	0,231	0,228	0,228	0,230	0,227
Colina Total, g/kg	0,135	0,131	0,130	0,131	0,131	0,130
Sódio, %	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Cloro, %	0,309	0,317	0,317	0,317	0,311	0,311
Na+K+Cl, g/kg	17,881	16,830	16,840	16,830	16,990	17,000

¹Tecmax Pro FC - Tectron, ²Sunphase Pó P5000 - Tectron

3.6 Procedimento experimental

Foram avaliados o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos em três períodos de 21 dias, totalizando 63 dias experimentais. As medidas de desempenho produtivo analisadas foram: produção de ovos (POV), peso médio dos ovos (PO), consumo de ração/ave/dia (CR) e conversão alimentar (CA) kg/dz e kg/kg. Já para qualidade dos ovos, as variáveis analisadas foram a espessura de casca (EC), a unidade Haugh (UH), o peso específico (PE) e coloração da gema.

3.6.1 Variáveis analisadas para desempenho produtivo

A POV expressa em porcentagem foi contabilizada diariamente ao final da tarde realizada com base no número total de ovos produzidos no dia dividido pelo número total de aves alojadas por unidade experimental.

O PO foi obtido pela coleta e pesagem apenas dos ovos íntegros de cada unidade experimental, produzidos no último dia de cada período de 21 dias sendo o peso total dividido pelo número de ovos coletados.

O CR foi realizado ao final de cada período experimental, após o recolhimento das sobras de ração nos comedouros calculado por diferença entre o peso inicial da ração fornecida e a sobra de ração, e esse valor foi dividido pelo número de dias do período e pelo número total de aves alojadas por unidade experimental.

A CA (kg/dz) foi calculada por meio do consumo de ração total da parcela dividido pelo número de dúzias de ovos produzidas no período. Já para a CA (kg/kg) considerou-se o consumo de ração total dividido pela massa de ovos, que é calculada pela multiplicação da porcentagem de postura pelo peso médio dos ovos.

3.6.2 Variáveis analisadas para qualidade dos ovos

As medidas de qualidade dos ovos foram realizadas utilizando-se apenas os ovos íntegros de cada unidade experimental, produzidos no último dia de cada período de 21 dias. Esses ovos foram pesados e em seguida encaminhados ao Laboratório de Qualidade de Ovos do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras para a realização das análises de qualidade.

Para determinação do PE utilizou-se baldes com solução salina ($H_2O + NaCl$) com densidade entre 1,048 a 1,100 g/cm^3 aferidos por meio da utilização de densímetro e variação de 0,004 g/cm^3 de um balde para o outro, organizados em ordem crescente. Individualmente, os ovos íntegros foram mergulhados no balde com a solução de menor densidade, se os mesmos afundassem eram retirados e mergulhados no próximo balde, e assim por diante até que os mesmos flutuassem onde anotava-se em planilhas o valor da densidade. O valor final da densidade foi obtido por meio de médias ponderadas levando-se em consideração o número de ovos pertencentes a cada densidade específica.

Posteriormente foram selecionados três ovos (peso médio com desvio padrão de 5 % de variação) de cada unidade experimental e submetidos à quebra sobre mesa com superfície plana de vidro, realizando-se as seguintes medidas: altura de albúmen, altura e diâmetro de gema (em milímetros), por meio de micrômetro para determinar a altura e paquímetro para determinar o diâmetro. E também realizada a avaliação da coloração da gema por meio de leque de cores (variação de 1 a 16 tons). A casca dos ovos quebrados e analisados foram lavadas com água e secas ao ar por 72 horas, em seguida, pesadas individualmente em balança de precisão e feita a mensuração de espessura de casca em três pontos distintos por meio de micrômetro.

Os valores de Unidade Haugh (UH) foram obtidos por meio da equação proposta por Nesheim (1979):

$$UH = 100 \log (H + 7,57 - 1,7 * W^{0,37}), \text{ onde: } H = \text{ altura de albúmen (mm)}$$

$$W = \text{ peso do ovo (g).}$$

3.7 Análises Estatísticas

Ao final do período experimental, os dados foram tabulados e analisados por meio de análise de variância (ANOVA) utilizando o pacote computacional SAS (2002), considerando-se os períodos de avaliação como sub-parcela e o período total experimental. A comparação dos tratamentos foi realizada utilizando o teste de SNK ao nível de 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de desempenho produtivo das poedeiras de acordo com os tratamentos estudados estão apresentados na Tabela 3. Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) para o CR das aves que receberam dietas controle positivo e negativo quando comparado aos tratamentos onde houve inclusão de enzimas. Estes resultados estão de acordo com a pesquisa realizada por Ferreira et al. (2015), onde houve associação de carboidrases e fitase em dietas valoradas para poedeiras leves com 35 semanas de idade, em que também não foi observada influência dos tratamentos sobre o consumo de ração das aves. No mesmo estudo, o autor não observou efeito dos tratamentos sobre a porcentagem de postura, diferindo portanto dos resultados encontrados no presente estudo, onde foi observado que a inclusão

das enzimas fitase e protease proporcionaram aumento na POV (%) quando comparada a percentagem de postura das aves que receberam dietas CN1 e CN2, respectivamente.

De acordo com Franceschina (2016), em pesquisa com inclusão de diferentes combinações de fitase, fitase + xilanase em dietas para poedeiras leves, também não foram observadas diferenças significativas para CR quando comparados aos tratamentos com adição de enzimas, controle negativo e positivo.

Tabela 3 - Desempenho produtivo das poedeiras de acordo com os tratamentos.

Tratamentos	CR ¹ , g/ave/d	POV ¹ , %	CA ¹ , kg/kg	CA ¹ , kg/dz
CP	106,4	94,5 a	1,801 ab	1,288 a
CN1- matriz fitase	107,0	90,8 ab	1,883 b	1,387 b
CN1 + fitase 60g + protease 125g	105,3	95,7 a	1,793 ab	1,303 a
CN1+ fitase 120g + protease 125g	105,1	94,9 a	1,754 a	1,294 a
CN2 - matriz protease	106,3	88,5 b	1,880 b	1,353 ab
CN2 + protease 125g	104,8	95,7 a	1,788 ab	1,306 ab
P-valor	0,256	0,0368	0,0458	0,0331
CV,%	2,85	3,24	3,06	3,54

*Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK (p<0,05).

¹CR- consumo de ração; POV- produção de ovos; CA- conversão alimentar.

Os resultados do desempenho das poedeiras Lohmann LSL Lite, durante os três períodos de avaliação indicam efeitos (P<0,05) tanto da enzima fitase como da enzima protease. Em relação a enzima fitase, houve recuperação do fósforo disponível (Pd) e do Cálcio (Ca), considerado na matriz da fitase. A utilização da fitase ao menor nível de inclusão (60 g/t), correspondendo a 300 FTU/kg de ração, recuperou o desempenho produtivo das aves (porcentagem de postura e CA (kg/kg e kg/dz)) comparado aos valores observados para o tratamento controle negativo (CN1), com redução de 0,15% de Pd e de 0,15% de Ca.

Esses resultados estão de acordo com os resultados encontrados por Ferreira et al. (2015), que também observaram efeito dos tratamentos sobre a CA por massa de ovos (kg/kg) quando as aves receberam dietas com suplementação de 100 g/t de carboidrases e 30 g/t de fitase. Em pesquisa realizada por Viana et al. (2009), onde foram utilizadas dietas com suplementação de fitase para poedeiras com 24 a 36 semanas de idade, os mesmos observaram efeito significativo para CA por massa de ovos, sendo que o CP e os CN + fitase

(200, 400, 600 FTU/kg) apresentaram melhores resultados quando comparados ao CN (com redução de Pd), corroborando com os resultados obtidos na presente pesquisa. Entretanto, no estudo de Viana et al. (2009), os mesmos não observaram diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos para os resultados de CA por dúzia de ovos, diferindo portanto, do presente estudo em que houve efeito ($P<0,05$) dos tratamentos sobre a CA (kg/dz).

Para maior nível de utilização de fitase (120 g/t), correspondendo a 600 FTU/kg de ração, os resultados observados foram semelhantes ao menor nível de uso da enzima (60 g/t), indicando que a suplementação da fitase promoveu bons resultados para o desempenho das aves não sendo necessária a utilização de dosagens em níveis superiores da enzima na ração.

Em relação a utilização de forma isolada da enzima protease (125 g/t), verificou-se que houve diferença ($P<0,05$) na CA kg/kg e POV (%), que foram melhoradas em relação a esses parâmetros de desempenho observados em aves que receberam dietas controle negativo (CN2), com a redução indicada na matriz da protease. Em pesquisa realizada por Rosário et al. (2018), onde foram utilizadas dietas com inclusão de protease (250 g/t) para poedeiras com 75 a 86 semanas de idade, também foi observado diferença ($P<0,05$) na POV e CA (kg/kg e kg/dz) quando comparadas à dieta controle negativo (sem inclusão de enzimas). Os resultados observados na pesquisa de Rosário et al. (2018) estão de acordo com os resultados da presente pesquisa podendo ser explicado pelo fato de que a inclusão da enzima protease aumenta a disponibilidade de aminoácidos para absorção, havendo assim maior síntese de proteínas.

Não houve diferença ($P>0,05$) para o PO, UH, cor e PE dos ovos (Tabela 4).

Tabela 4 - Qualidade de ovos das poedeiras de acordo com os tratamentos.

Tratamento	PO ¹ , g	EC ¹ , mm	UH ¹	Cor	PE ¹ , g/cm ³
CP	62,55	0,355 ab	91,83	5,9	1,0854
CN1 - matriz fitase	63,08	0,360 ab	91,67	5,3	1,0856
CN1 + fitase 60g + protease125g	62,45	0,363 ab	91,09	5,6	1,0854
CN1+ fitase 120g + protease 125g	63,01	0,356 ab	90,82	5,7	1,0852
CN2 - matriz protease	62,36	0,370 a	90,30	5,7	1,0847
CN2 + protease 125g	62,83	0,349 b	91,30	5,7	1,0859
P-valor	0,356	0,0486	0,245	0,156	0,298
CV,%	2,31	5,57	4,22	6,06	0,13

*Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste SNK ($p<0,05$).

¹PO- peso do ovo; EC- espessura de casca; UH- unidade Haugh; PE- peso específico.

A EC foi influenciada pelos tratamentos ($P < 0,05$), onde foram verificados valores superiores dessa variável nos ovos das aves que receberam dietas com adição da enzima fitase e para aquelas que receberam dietas controle positivo. Franceschina et al. (2016) observaram maior porcentagem de casca dos ovos quando as dietas foram suplementadas com fitase 1300 FTU/kg, e afirmaram que a fitase auxilia na manutenção da qualidade da casca dos ovos.

De acordo com pesquisa realizada por Suckeveris (2015), as aves que receberam dietas suplementadas com protease sem redução de proteína bruta e metionina + cistina produziram ovos com maior peso em comparação as dietas isentas de protease. Já em rações onde houve inclusão de protease, o PO foi semelhante aos ovos das aves que receberam dietas com redução de uma vez (1x) a valoração da protease. Isso ocorreu possivelmente devido a melhora na digestibilidade dos aminoácidos da dieta, uma vez que a metionina é o primeiro aminoácido limitante e que possui influencia direta sobre o peso dos ovos.

Vieira e Bertechini (2001) observaram que quando houve suplementação com diferentes níveis de fitase na ração, houve aumento linear na UH a medida que foi aumentado o nível de fitase, o que difere do presente estudo em que a UH foi semelhante entre os tratamentos experimentais.

Brunelli et al. (2012) não observaram diferenças para PE, assumindo que quanto maior o teor de Ca na dieta das aves há melhoria no PE dos ovos. Houve contradição dos resultados obtidos na presente pesquisa quando comparados com o autor citado anteriormente, pois o tratamento onde houve adição somente de protease apresentava também maior teor de Ca do que as demais dietas experimentais, porém não houve diferença para o PE dos ovos. Isso pode ser explicado devido ao fato de que a atuação da protease utilizada de forma isolada (sem associação com fitase), não disponibilizou a quantidade suficiente de Ca, que poderia estar complexado na molécula do fitato.

5 CONCLUSÃO

A utilização de 300 FTU/kg na ração liberou a matriz considerada da fitase, com redução de 0,15 % de P e 0,15 % de Ca.

A utilização da enzima protease (125 g/t de ração) na forma isolada, recuperou a produção de ovos e a conversão alimentar (kg/kg e kg/dz), suprimindo a exigência de aminoácidos das aves.

REFERÊNCIAS

ABPA, Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual de atividades 2017**, p.176, 2018. Disponível em <<http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf>> Acesso em: 01 mai., 2019.

ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal Of Animal Science**, v.89, p.3189-3218, 2011.

ALVES, N. M. **Produção de fitase por fungo endofítico**. 2014. 60 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

ANGEL, R.; TAMIN, N. M.; APPLGATE, T. J.; DHANDU, A. S.; ELLESTAD, L. E. Phytic acid chemistry: influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. **Journal of Applied Poultry Research**, v.11, p.471-480, 2002.

AUGSPURGER, N. I.; WEBEL, D. M.; LEI, X. G.; BAKER, D. H. Efficacy of an E. coli phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. **Journal of Animal Science**, v.81, p.474-483, 2003.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de Monogástricos**. 2. ed. Lavras: Ed. UFLA, p.373, 2013.

BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition**, 2nd ed. London, UK, p. 319, 2010.

BORMAN, M.; BERTECHINI, A. G.; FIALHO, E. T. Efeitos da adição de fitase com diferentes níveis de fósforo disponível para poedeiras comerciais. **Ciência e Prática**, v.25, p.181-187, 2001.

BRASIL. Estudo de viabilidade técnica e econômica destinado à implantação do parque produtivo nacional de aditivos da indústria de alimentação de animais de produção. **Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior**, 2012. Disponível em: <http://www.mdic.gov.br/arquivos/dwnl_1347635101.pdf>. Acesso em: 05 jun., 2019.

BRUNELLI, S. R.; PINHEIRO, J. W.; FONSECA, N.; SILVA, N. A.; ABÉRCIO, C. Efeito de diferentes níveis de farelo de germen de milho desengordurado em dietas suplementadas com fitase para poedeiras comerciais. **Ciências Agrárias**, Vol. 33, n. 5, p.1991-2000, 2012.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M.; APPELT, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.254-267, nov./dez., 2005.

CAO, J. Effect of iron concentration age and length of iron feeding on feed intake, and tissue iron concentration of broiler chicks. **Poultry Science**, v.12, p.119, 1996.

COSTA, F. G. P.; BRANDÃO, P. A.; BRANDÃO, J. S.; DA SILVA, J. H. V. Efeito da enzima fitase nas rações de frangos de corte, durante as fases pré-inicial e inicial. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.3, p.865-870, 2007.

DE LIMA, M. R.; COSTA, F. G. P.; GIVISIEZ, P. E. N.; DA SILVA, J. H. V.; SAKOMURA, N. K.; LIMA, D. F. F. Reduction of the nutritional values of diets for hens through supplementation with phytase. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.39, n.10, p.2207-2213, 2010.

FARIA, O. L. V.; KOETZ, P. R.; DOS SANTOS, M. S.; NUNES, W. A. Remoção de fósforo de efluentes da parboilização de arroz por absorção biológica estimulada em reator em batelada sequencial (RBS). **Food Science and Technology**, v.26, n.3, p.309-317, 2006.

FERREIRA, A. H. C.; LOPES, J. B. Uso da fitase na alimentação de frangos de corte – revisão. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.9, n.4, p.1854-1860, 2012.

FERREIRA, C. B.; GERALDO, A.; VIEIRA FILHO, J. A.; BRITO, J. A. G.; BERTECHINI, A. G.; PINHEIRO, S. R. F. Associação de carboidrases e fitase em dietas valorizadas e seus efeitos sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras leves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.1, p.249-254, 2015.

FRANCESCHINA, C. S.; PIRES, P. G. S.; FRANCESCHI, C. H.; MENDES, J. V. A utilização de fitase na dieta de poedeiras. **Revista Eletrônica Nutritime**, vol.13, n.01, 2016. ISSN: 1983-9006.

FRANCESCHINA, C. S. **Dietas com Farinheta de trigo e adição de fitase e xilanase para poedeiras leves de 74 a 94 semanas de idade**. 2016. 105 p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

FREITAS, L. F. V. B. **Influência da utilização da enzima fitase sobre o desempenho produtivo, qualidades dos ovos e óssea de poedeiras leves em final de ciclo de produção**. 2017. 29 p. Monografia (Graduação em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.

GUTIÉRREZ, E. R.; ANAYA, A. H.; HERNÁNDEZ, J. R. O.; VIDRIO, J. A. S. Effect of Energy Level and Phytase Addition on Egg production and Quality. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**. n.5(6), p. 1368-1371, 2011. ISSN: 1991-8178.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores IBGE, Estatística da Produção Pecuária**, p. 1-51, jan.mar. 2019. Disponível em: <<https://data.gessulli.com.br/file/2019/06/14/H142816-F00000-Q934.pdf>>. Acesso em: 13 jun., 2019.

IQBAL, T. H.; LEWIS, K. O.; COOPER, B. T. Phytase activity in the human and rat small intestine. **Gut**, v.35, p.1233-1236, 1994.

JOHNVESLY, B.; NAIK, G. R. Studies on production of thermostable alkaline protease from thermophilic and alkaliphilic Bacillus sp. JB-99 in a chemically defined medium. **Process Biochemistry**, London, v.37, p.139-144, 2001.

JUNQUEIRA, O. M.; FILARDI, R. S.; LIGEIRO, E. C.; CASARTELLI, E. M.; SGAVIOLI, S.; ASSUENA, V.; DUARTE, K. F.; LAURENTIZ, A. C. Avaliação técnica e econômica da matriz nutricional da enzima fitase em rações contendo farelo de girassol para poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.10, p.2200-2206, 2010.

JUNQUEIRA, O. M.; DOMINGUES, C. H. F.; SOBRANE FILHO, S. T.; DUARTE, K. F. Enzimas na nutrição de poedeiras: tecnologias que reduzem os custos de produção sem prejudicar o desempenho das aves. **Avisite**, 2013. Disponível em <https://www.avisite.com.br/cet/img/20130423_trabalho_3.pdf>. Acesso em: 25 abr., 2019.

LADEIRA, S. A.; ANDRADE, M. V. V.; DELATORRE, A. B.; PEREZ, V. H.; MARTINS, M. L. L. Utilização de resíduos agroindustriais para a produção de proteases pelo termofílico Bacillus sp. em fermentação submersa: otimização do meio de cultura usando a técnica de planejamento experimental. **Química Nova**, São Paulo, v.33, n.2, 2010.

LEI, Q. B.; SHI, L. X.; ZHANG, K. Y.; DING, X. M.; BAI, S. P.; LIU, Y. G. Effect of reduced energy, protein and entire substitution of inorganic phosphorus by phytase on performance and bone mineralization of laying hens. **British Poultry Science**, v.52, n.2, p.202-213, 2011.

LEI, X. G.; PORRES, J. M. Phytase enzymology, applications, and biotechnology. **Biotechnology Letters**, v. 25, n. 21, p. 1787-1794, 2003.

LIGEIRO, E. C.; JUNQUEIRA, O. M.; FILARDI, R. S.; LAURENTIZ, A. C.; DUARTE, K. F.; MARCHIZELI, P. C. A. Avaliação da matriz nutricional da enzima fitase em rações contendo sorgo para poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.10, p.1948-1955, 2009.

LIGEIRO, E. C. **Efeito da utilização da fitase sobre o desempenho, qualidade dos ovos, avaliação econômica e excreção de fósforo e nitrogênio de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo ingredientes alternativos**. 2007. 90p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária - UNESP, Jaboticabal, 2007.

LIMA, U. A. et al. Produção de enzimas microbianas. **Biotecnologia Industrial**, São Paulo. v. 2 e 4, 1. ed., 2001.

GUIA DE MANEJO LOHMANN LSL-LITE. p. 1-48. Disponível em <https://netorg993387-my.sharepoint.com/personal/esouza_ltz_com_br/Documents/Site/GUIA%20DE%20MANEJO%20LSL%20LITE%20-%202017.05.pdf>. Acesso em: 20 de abril de 2019.

McKNIGHT, W. F. Technical specifications and properties of phytase. In: Technical Symposium, 1996, Ithaca. **Anais...** Ithaca: BASF, 1996. p. 1-15.

MULLANEY, E. J.; ULLAH, A. H. J. The term phytase comprises several different classes of enzymes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v.312, p.179-184, 2003.

NESHEIM, M. C.; AUSTIC, R. E.; CARD, L. E. **Poultry production**. Philadelphia: Lea & Febiger, v. 12, p.339, 1979.

NIELSEN, A. V. F.; TETENS, I.; MEYER, A. S. Potential of phytase-mediated iron release from cereal-based foods: a quantitative view. **Nutrients**. v.5, p.3074-3098, 2013.

OBERLEAS, D.; HARLAND, B. F. The true story of zinc nutrition and homeostasis. **Sight and Life Magazine**. v.2, p.13-19, 2010.

ORNELLAS, L. H. Técnica dietética: seleção e preparo de alimentos. 7. ed., São Paulo: Editora Metha, p.330, 2001.

RIBEIRO JUNIOR, V.; RIBEIRO, C. L. N.; MESSIAS, R. K. G.; ROCHA, T. C.. Importância da enzima fitase na nutrição animal. **Revista Eletrônica Nutritime** – ISSN 1983-9006. Artigo 311 Volume 12 - Número 04– p. 4127 – 4139 jul./ago., 2015.

ROSÁRIO, R. S.; NASCIMENTO, L. A.; FAUSTINO, S. L. S.; RIBEIRO, J. L.; SOUZA, G. C.; CORRÊA, G. S. S.; BARBOSA, S. A. P. V.; CORRÊA, A. B. Desempenho de poedeiras com adição de protease na dieta. In: Congresso Brasileiro de Zootecnia, 28., 2018, Goiânia. **Anais eletrônicos...** Goiânia: Congresso Brasileiro de Zootecnia, 2018. p. 1-5. Disponível em: <http://www.adaltech.com.br/anais/zootecnia2018/resumos/trab-2505.pdf>. Acesso: 30 mai. 2019.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos. **Composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2. ed. Viçosa: UFV/DZO, p.186, 2005.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos. **Composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa: UFV/DZO, p.252, 2011.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **User's guide**. Cary: SAS Institute, 2002. 525p.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**. v.135, p.1-41, 2007.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. **Livestock Science**, v.133, p. 9-122, 2008.

SILVA, E. T. **Estabilização de proteases para aplicação tecnológica**, 2013. 70p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais) - Universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2013.

SILVERSIDES; F. G.; HRUBY, M. Feed formulation using phytase in laying hen diets. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 18, n. 1, p. 15-22, 2009.

SINGH, P. K. Significance of phytic acid and supplemental phytase in chicken nutrition: a review. **World's Poultry Science Journal**, vol.64, n.4, p.553-571, 2008.

SNOW, J. L.; DOUGLAS, J. L. S. M. W.; PARSONS, C. M. Phytase Effects on Amino Acid Digestibility in Molted Laying Hens. **Poultry Science**, v.82, p.474-477, 2003.

SUCKEVERIS, D. **Redução de proteína bruta, de metionina + cistina e suplementação de protease em dietas de poedeiras de 21 a 70 semanas de idade**, 2015. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal de São Paulo, Pirassununga, 2015.

VERMELHO, A. B.; DE MELO, A. C. N.; DE SÁ, M. H. B.; DOS SANTOS, A. L. S.; D'AVILA-LEVY, C. M.; COURI, S.; BON, E. P. S. Enzimas proteolíticas: aplicações biotecnológicas. Enzimas em biotecnologia - Produção, aplicações e mercado. Rio de Janeiro: **Interciência**, cap.11, p.273-287, 2008.

VIANA, M. T. S.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; BARRETO, S. L. T.; SILVA, E. A.; FLORENTINO, W. M. Efeito da suplementação de enzima fitase sobre o metabolismo de nutrientes e o desempenho de poedeiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.6. 1074-1080, 2009.

VIEIRA FILHO, J. A. et al. Effect of protease supplementation on production performance of laying hens. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.37, n.1, Maringá, jan./mar., 2015.

VIEIRA, R. K.; BERTECHINI, A. G. Desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais com rações contendo fitase. **Ciência e Prática**, v.25, p.836-841, 2001.

WISEMAN, A. Manual de biotecnologia de los enzimas. Espanha, Zaragoza: **Acribia**, p.444, 1991.

YI, Z.; KORNEGAY, E. T.; DENBOW, D. M. Effect of microbial phytase on nitrogen and amino acid digestibility and nitrogen retention of turkey poults fed corn-soybean diets. **Poultry Science**, v. 75, p. 979-990, 1996.

YU, S.; COWIESON, A.; GILBERT, C.; PLUMSTEAD, P.; DALSGAARD, S. Interactions of phytase and myo-inositol phosphate esters (IP 1-5) including IP5 isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 1824-1832, 2012.

ZENG, Y. F.; KO, T. P.; LAI, H. L.; CHENG, Y. S.; WU, T. H.; CHEN, C. C.; YANG, C. S.; CHENG, K. J.; HUANG, C. H.; GUO, R. T.; LIU, J. R. Crystal structures of Bacillus Alkaline Phytase in complex with divalent metal ions and inositol hexasulfate. **Journal of Molecular Biology**, v. 409, p. 214/224, 2011.