

Protease ácida e alcalina na dieta de frangos de corte: Efeitos sobre ganho de peso, metabolismo e perfil de ácidos graxos na carne

Acid and alkaline protease in broiler diets: Effects on weight gain, metabolism and fatty acid profile in meat

Proteasa ácida y alcalina en dietas para pollos de engorde: Efectos sobre el aumento de peso, el metabolismo y el perfil de ácidos grasos en la carne

Recebido: 15/05/2025 | Revisado: 22/05/2025 | Aceitado: 22/05/2025 | Publicado: 25/05/2025

Maiara Sulzbach Marchiori

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9182-1511>
Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil
E-mail: maiara_sm@hotmail.com

Renata Tumelero

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1613-9878>
Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil
E-mail: renata.tumelero@udesc.br

Larissa E. H. Bourckhardt

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-2225-4273>
Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil
E-mail: larissa.bourckhardt521@edu.udesc.br

Jessica L. F. Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1537-4104>
Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil
E-mail: jessica.lima95@edu.udesc.br

Antony Comin

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-8596-6126>
Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil
E-mail: antony.comin3@gmail.com

Taeline Zamboni

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-5086-5398>
Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil
E-mail: taeline.zamboni2806@edu.udesc.br

Marcel M. Boiago

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0950-4577>
Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil
E-mail: mmboiago@gmail.com

Diovani Paiano

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2715-9524>
Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil
E-mail: diovani.paiano@udesc.br

Aleksandro Schafer da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9860-1933>
Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil
E-mail: aleksandro_ss@yahoo.com.br

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar se a inclusão de protease (ácida e alcalina) na dieta de frangos de corte pode melhorar o desempenho zootécnico, digestibilidade de nutrientes, perfil metabólico e ácidos graxos na carne. Desta forma foi realizado um experimento, com o delineamento inteiramente casualizado, com 880 aves, divididos em 11 tratamentos. Em relação aos ácidos graxos da carne o aumento da concentração dos ácidos palmítico, palmitoleico e concentração de ácidos monossaturados, e diminuição dos ômega 3 e 6, ácidos graxos polinsaturados, lipídeos totais, e ácido linoleico ($P > 0,05$). Para qualidade de carne os grupos com associação das proteases obtiveram maiores perdas de água por cocção ($P = 0,05$). Em reação a vilosidade e cripta o grupo PL teve a maior relação villo e cripta ($P = 0,02$). Como conclusão, a protease pode ser utilizada como estratégia alimentar, pois possibilita aumento da digestibilidade e ganho em índices zootécnicos em dietas com menor quantidade de proteína e aminoácidos.

Palavras-chave: Protease ácida; Protease alcalina; Digestibilidade; Proteína bruta.

Abstract

The objective of this study was to evaluate whether the inclusion of protease (acid and alkaline) in the diet of broiler chickens can improve zootechnical performance, nutrient digestibility, metabolic profile and fatty acids in meat. In this way, an experiment was carried out, with a completely randomized design, with 880 birds, divided into 11 treatments. In relation to meat fatty acids, there was an increase in the concentration of palmitic and palmitoleic acids and monosaturated acids, and a decrease in omegas 3 and 6, polyunsaturated fatty acids, total lipids, and linoleic acid ($P > 0.05$). For meat quality, the groups with the association of proteases had greater water losses during cooking ($P = 0.05$). In reaction to villus and crypt, the PL group had the highest villus and crypt ratio ($P = 0.02$). In conclusion, protease can be used as a feeding strategy, as it allows increased digestibility and gains in zootechnical indexes in diets with lower amounts of protein and amino acids.

Keywords: Acid protease; Alkaline protease; Digestibility; Crude protein.

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar si la inclusión de proteasas (ácidas y alcalinas) en la dieta de pollos de engorde puede mejorar el desempeño zootécnico, la digestibilidad de los nutrientes, el perfil metabólico y los ácidos grasos en la carne. De esta manera, se realizó un experimento, con diseño completamente al azar, con 880 aves, divididas en 11 tratamientos. En relación a los ácidos grasos de la carne, hubo un aumento en la concentración de ácidos palmítico, palmitoleico y monosaturados, y disminución en omegas 3 y 6, ácidos grasos poliinsaturados, lípidos totales y ácido linoleico ($P > 0,05$). Para la calidad de la carne, los grupos con asociación de proteasas tuvieron mayores pérdidas de agua durante la cocción ($P = 0,05$). En reacción a las vellosidades y las criptas, el grupo PL tuvo la proporción más alta de vellosidades y criptas ($P = 0,02$). En conclusión, la proteasa puede ser utilizada como estrategia de alimentación, ya que permite aumentar la digestibilidad y ganancias en índices zootécnicos en dietas con menores cantidades de proteínas y aminoácidos.

Palabras clave: Proteasa ácida; Proteasa alcalina; Digestibilidad; Proteína cruda.

1. Introdução

Os custos com matérias primas para fabricação de rações, sofrem oscilações constantes, que impactam diretamente no setor produtivo (Embrapa, 2021). A ração consumida pelas aves é estimada em 463 milhões de toneladas anualmente (Mottet e Tempio, 2017). É considerado que a ração contribui com 75,36% do custo total de produção avícola, grande impasse para a avicultura (Abpa, 2022). Além da oscilação do preço para a fabricação de rações, existem outras adversidades como, a presença de fatores antinutricionais nos alimentos (Morgan et al., 2022). Estes impedem a digestibilidade de nutrientes essenciais na dieta, devido a presença de inibidores de proteases e tripsina (Jeyakumar e Lawrence, 2022; Morgan et al., 2022). Vale ressaltar o impacto ambiental, como excreção e volatilização de amônia, oriundos dos alimentos proteicos utilizados na dieta de aves (Attia et al., 2020).

Em vista destes problemas, pesquisadores buscam formas de minimizar o custo com as rações, melhorar sua qualidade em questão de digestibilidade, qualidade de carcaça e condições ambientais. Neste contexto enzimas exógenas são uma opção para suprirem esta demanda (Velázquez -De Lúcio et al., 2021). McCafferty et al. (2022), observaram que a adição de protease em 0,02 % para frangos de corte, aumentou o peso corporal, de 2,1% a 2,9 % na conversão alimentar ao longo do tempo, maior digestibilidade de amido, nitrogênio jejunal e ileal. Maqsood et al. (2022) constataram que a inclusão de 2% de protease na dieta de frangos de corte, com redução de 20 % da proteína bruta total, pode melhorar ganho de peso em até 4,4 %, conversão alimentar em 3,8 %, melhorar a morfologia intestinal, aumentar a qualidade da carcaça em relação ao peso de peito e redução da deposição da gordura.

As proteases podem ser produzidas por meio de bactérias e fungos, dentre eles os mais utilizados são *Bacillus spp.* e *Aspergillus spp.* (Fireman e Fireman, 1998). Porém as proteases utilizadas neste trabalho (*Bacillus subtilis* e *Aspergillus niger*) não foram estudadas na nutrição animal. Existem vários estudos com a adição de protease para frangos de corte, porém não há estudos que diferenciem o uso de protease ácida e alcalina na alimentação de frangos tipo griller, desta forma o objetivo do estudo foi avaliar, se a inclusão de protease ácida e alcalina e a associação destas na dieta de frangos de corte do tipo griller,

pode melhorar a digestibilidade de nutrientes, desempenho zootécnico, qualidade de carne, perfil de ácidos graxos e saúde intestinal.

2. Metodologia

Realizou-se uma pesquisa experimental de natureza mista de campo e laboratorial e quantitativa (Gil, 2017; Pereira et al., 2018) com uso de estatística descritiva simples com classes de dados, valores de frequência absoluta e frequência relativa porcentual e de análise estatística (Shitsuka et al., 2014; Akamine & Yamamoto, 2009).

2.1 Protease ácida e alcalina

No experimento foram utilizadas duas proteases, a ácida obtida pela fermentação do *Aspergillus niger* (fonte da protease aspártica, equivalente a pepsina), e a protease alcalina foi obtida pela fermentação do *Bacillus subtilis* (fonte da protease Serina, equivalente a tripsina), ambas com níveis de garantia 25000 U/g de protease, oriundas de uma empresa comercial, utilizadas de forma isolada e em blend.

2.2 Animais, instalação e alimentação

O experimento foi realizado na Fazenda experimental da universidade do estado de Santa Catarina (Udesc Oeste - FECEO), localizada no município de Guatambu-SC. Todos os procedimentos de criação dos animais e de coleta de material biológico foram aprovados pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais em Pesquisa da UDESC, sob o protocolo 3559240422.

Foram utilizados ao total do experimento, 880 pintainhos machos Cobb 500, de um dia de vida, adquiridos de uma empresa comercial de Chapecó-SC. Na chegada os pintinhos foram pesados e distribuídos para o alojamento, em um galpão (4 x 10 metros), em gaiolas metabólicas fabricadas com material de alumínio (50 x 70 cm), foram utilizadas 88 gaiolas, cada uma considerada como uma unidade experimental. As aves foram divididas em 11 tratamentos com oito repetições e 10 aves por repetição, com alimentação e água ad libitum. Foi controlado o consumo alimentar das aves, assim como feito a pesagem das aves.

O aquecimento das aves foi realizado com climatizadores e campânulas de gás. O manejo de luz seguiu as recomendações do manual da linhagem (Cobb, 2012). A dieta fornecida às aves, foi formulada a base de milho e soja, de acordo com as recomendações da Tabela Brasileira de Aves e Suínos (Rostagno et al., 2017). Foram utilizadas duas formulações diferentes, para as fases, inicial (1 a 21 dias) e crescimento (22 a 28 dias). Foi utilizado 0,10g/kg de enramicina 8%, em todos os tratamentos na dieta basal (Tabela 1).

Tabela 1 - Dietas basais (Controle positivo e controle negativo) utilizadas na alimentação de frangos griller de em fase inicial e crescimento.

Composição da dieta	CP 1-21	CN 1-21	CP 22-30	CN 22-30
Milho Moído	588,756	628,586	637,535	674,329
Farelo de soja 46% PB	356,240	326,387	307,952	280,634
Fosfato Bicalcico	16,099	16,353	12,777	13,008
Calcário Calcítico 36%	8,669	8,681	7,189	7,200
Óleo Soja	16,286	6,185	22,134	12,494
Sal Refinado	3,347	3,294	3,486	3,430
Bicarbonato Sódio	1,292	1,369	1,180	1,262
L-Lisina 80%	1,983	2,095	1,541	1,667

DL-Metionina 98%	3,091	2,854	2,354	2,150
L-Treonina 98%	0,987	0,946	0,602	0,576
Adsorvente de Micotoxinas	1,000	1,000	1,000	1,000
Premix vitamínico	0,250	0,250	0,250	0,250
Cloreto de Colina 60%	0,500	0,500	0,500	0,500
Premix mineral	0,500	0,500	0,500	0,500
Caulim	1,000	1,000	1,000	1,000
Níveis nutricionais				
E. Met Aves kcal/kg	3.000,000	2.975,000	3.100,000	3.075,000
Proteína Disponível Total %	22,000	20,900	20,000	19,000
Gordura Bruta %	4,357	3,457	5,043	4,181
Fibra Bruta %	3,477	3,364	3,265	3,162
Amido %	42,506	45,224	-	-
Cinzas %	5,697	5,596	5,043	4,951
Cálcio Total %	0,815	0,815	-	-
Cálcio Disp Total %	0,850	0,850	0,700	0,700
Fósforo Total %	0,641	0,637	0,350	0,350
Fósforo Disponível %	0,420	0,420	-	-
Lisina Total %	1,358	1,289	1,193	1,131
Lisina Dig. Aves %	1,200	1,140	1,050	0,997
Met Total %	0,638	0,603	0,543	0,512
Met+Cist Total %	0,991	0,942	0,872	0,828
Met+Cist Dig. Aves %	0,888	0,844	0,777	0,738
Treonina Total %	0,917	0,872	0,808	0,767
Treonina Dig. Aves %	0,792	0,752	0,693	0,658
Triptofano Total %	0,284	0,267	0,255	0,239
Triptofano Dig. Aves %	0,237	0,223	0,213	0,200
Lis:M+C Aves %	0,740	0,740	0,740	0,740
Lis:Tre Aves %	0,660	0,660	0,660	0,660
Lis:Tri Total %	0,209	0,207	0,207	0,207
Colina Total mg/kg	1610,480	1.550,788	1.505,000	1.450,000
Sódio %	0,200	0,200	0,200	0,200
Cloro %	0,300	0,300	0,300	0,300
Na+k	227,670	215,359	206,000	195,000

OBS: CP 1-21: Dieta controle positivo utilizada de um a 21 dias; CN 1-21 Dieta controle negativo utilizada de um a 21 dias; CP 22-30: Dieta controle positivo utilizada de 22 a 30 dias; CN 22-30 Dieta controle negativo utilizada de 22 a 30 dias. OBS2. Premix vitamínico: A KUI/KG >32.000,000; D3 KUI/KG >8.000,000; E UI/KG >60.000,000; K3 MG/Kg >6.000,000; B1 MG/Kg >7.200,000; B2 MG/Kg >20.000,000; B6 MG/Kg >9.600,000; B12 MCG/Kg >40.000,000; B3 MG/KG >108.000,000; B5 MG/KG >36.000,000; B7 MCG/KG >160.000,000. OBS3. Premix mineral: Mn PPM >140.000,000; Zn PPM >120.000,000; Fe PPM >100.000,000; Cu PPM >16.000,000; I PPM >1.600,000; Se PPM >600,000. Fonte: Dados da pesquisa (2025).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados (DBC), sendo os tratamentos representados na Tabela 2. Sendo que temos grupos controle (positivo e negativo), três doses de protease ácida, três doses de protease alcalina e três doses da combinação protease ácida + protease alcalina.

Tabela 2 - Representação do delineamento de tratamentos de frangos do tipo griller com adição de protease na dieta.

Tratamentos	Características
Controle Positivo (CP)	Dieta basal farelada, inclusão de 1% de celite com níveis nutricionais que atendem a exigência das aves.
Controle Negativo (CN)	Dieta basal menos 5% de proteína bruta e aminoácidos.
Protease Ácida 125 (PA125)	Dieta controle negativo, mais 125g/t de protease ácida.
Protease Alcalina 125 (PL125)	Dieta controle negativo, mais 125g/t de protease alcalina.
Protease Ácida + Alcalina 125 (PLA125)	Dieta controle negativo, mais 125g/t de protease ácida + alcalina.

Protease Ácida 250 (PA250)	Dieta controle negativo, mais 250 g/t de protease ácida.
Protease Alcalina 250 (PL250)	Dieta controle negativo, mais 250 g/t de protease alcalina.
Protease Ácida + Alcalina 250 (PLA250)	Dieta controle negativo, mais 250 g/t de protease ácida + alcalina.
Protease Ácida 500 (PA500)	Dieta controle negativo, mais 500 g/t de protease ácida.
Protease Alcalina 500 (PL500)	Dieta controle negativo, mais 500 g/t de protease alcalina.
Protease Ácida + Alcalina 500 (PLA500)	Dieta controle negativo, mais 500 g/t de protease ácida + alcalina.

Fonte: Autores (2025).

2.3 Desempenho zootécnico

Nos dias 1, 10, 21 e 28, as aves foram pesadas por meio de uma balança digital, assim como a quantidade de ração fornecida e as sobras. Por meio dos dados obtidos foram calculados, peso corporal e ganho de peso, ganho de peso diário, consumo de ração e conversão alimentar.

2.4 Coleta de amostras para digestibilidade

As coletas de excretas foram realizadas diariamente, duas vezes ao dia, para evitar perdas por volatilização, durante cinco dias consecutivos (17 a 21 de experimento). As bandejas de coleta foram alocadas sob cada unidade experimental, foram forradas com plástico para que todas as excretas pudessem ser coletadas, as excretas de cada repetição foram recolhidas individualmente e identificadas, separadas de qualquer sujidade, como penas e ração, para evitar contaminação de amostra.

Posteriormente as amostras foram armazenadas em congelador até o final do período de coleta. Ao final do experimento as amostras foram descongeladas e unidas por tratamento, posteriormente foram homogeneizadas e foi realizado um pool de amostras de cada unidade experimental. Estas em seguida foram levadas a estufa em 65°C durante 72 h, após passaram por um processo de moagem em peneira de 1 mm, e as amostras foram analisadas de acordo com AOAC (1995) para matéria seca (DM), método 930,15; extrato de éter (EE), método 920.39; proteína bruta (CP), método 976,05; e cinzas, método 942.05.

O coeficiente de digestibilidade foi determinado a partir da seguinte fórmula: Coeficiente de Digestibilidade (%) = [(Nutriente Ingerido - Nutriente Excretado) / Nutriente Ingerido] x 100 conforme descrito por Andriquetto et al., (1982).

2.5 Coleta de amostras de sangue, intestino e carne

A coleta de sangue foi realizada no dia 28 de experimento, para este, duas aves por repetição foram contidas manualmente, com auxílio de seringas de insulina, as coletas foram feitas através da veia ulnar. O material coletado foi alocado em tubos de eppendorf com anticoagulante (EDTA), posteriormente o sangue foi centrifugado a 3.500 rpm por 10 minutos, para obtenção do soro, em seguida o soro foi congelado a -20 ° C, para posterior realização de análises bioquímicas.

Também no dia 28 de experimento, dois animais por repetição foram abatidos e amostras do músculo peitoral foram coletadas, para as análises de qualidade de carne e perfil de ácidos graxos, o material coletado foi mantido em caixas refrigeradas por cinco horas, para posterior processamento das devidas análises em laboratório.

2.6 Bioquímica sérica

Para as análises bioquímicas de metabolismo energético e proteico, foi utilizado o equipamento semiautomático Bio Plus (Bio-2000®), nesta análise foram avaliados níveis séricos de albumina, proteína total, colesterol, triglicerídeos e ácido úrico, para isto foram utilizados kits comerciais (Analisa®).

2.7 Análise de carne

Após o tempo de cinco horas o peito coletado passou pelo processo de análise de carne, foi mensurado o pH com o uso de um eletrodo e com um medidor Minolta Chome, foram mensurados a luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*) e intensidade de amarelo (b^*). Para analisar a perda por cozimento e capacidade de retenção de água foi utilizado a metodologia de Hamm (1960) e Honikel (1987). As amostras que foram utilizadas para realização de perda de peso por cozimento, foram utilizadas para analisar a força de cisalhamento com fibras musculares na orientação perpendicular a lâmina do equipamento Texture Analyzer TA -XT2i, acoplado ao dispositivo Warner-Bratzler, que mensurou a força necessária para romper a amostra, os resultados foram expressos em kgf/cm.

2.8 Análises, perfil de ácidos graxos da carne

2.8.1 Extração de lipídeo

A extração foi realizada pelo método de Bligh e Dyer (1959) com algumas modificações. 1,5 g de amostras de carne de frango, 0,5 mL de água, 5 mL de metanol e 2,5 mL de clorofórmio foram adicionados em um tubo de polipropileno de 15 mL e a agitação mecânica foi realizada por 60 min. Em seguida, foram adicionados 2,5 mL de solução de clorofórmio e Na_2SO_4 1,5% para promover um sistema bifásico. Essa mistura foi agitada por 2 minutos e depois centrifugada por 15 minutos a 2.000 rpm. Os lipídios obtidos da fase clorofórmica foram submetidos à análise de ácidos graxos.

2.8.2 Perfil de ácidos graxos (FA)

A metilação do FA foi realizada por um método de transesterificação proposto por Hartman e Lago (1973). Aos lipídios extraídos foram adicionados 1 mL de solução metanólica de KOH 0,4 M em um tubo de ensaio e agitados em vórtice por 1 min. As amostras foram mantidas em banho-maria por 10 minutos em ponto de ebulição. Posteriormente, foram resfriados à temperatura ambiente e 3 mL de solução metanólica de H_2SO_4 1 M foram adicionados e agitados em vórtice e mantidos em banho-maria por 10 min. Após resfriamento foi adicionado 2 mL de hexano e centrifugado a 2.000 rpm por 10 min. Por último, o hexano com os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foi submetido a uma análise cromatográfica.

Para a determinação da FAME foi utilizado um cromatógrafo gasoso modelo TRACE 1310 equipado com detector de ionização de chama (Thermo Scientific). Um microlitro de amostras foi injetado em um injetor split-splitless, operado no modo split de proporção 1:10 a 250 °C. O hidrogênio foi usado como gás de arraste a uma vazão constante de 1,5 mL/min. A separação dos FAMES foi realizada utilizando uma coluna de cromatografia RT 2560 (100 m × 0,25 mm × 0,20 µm de espessura de filme, Restek, EUA). A temperatura inicial do forno foi programada para 100 °C por 5 min e aumentada para 180 °C, a uma taxa de 8 °C/min. Em seguida, aumentando para 210 °C, a uma taxa de 4 °C/min, e finalmente até 240 °C, aumentando 20 °C/min, e mantido por 20 min em isotérmico. A temperatura do detector foi mantida constante em 250°C. Os compostos FAME foram identificados por comparação do tempo de retenção experimental com os do padrão autêntico (FAME Mix-37, Sigma Aldrich, St. Louis, MO). Os resultados foram apresentados como percentual de cada AG identificado na fração lipídica, considerando o fator equivalente de tamanho de cadeia do FAME para FID e fator de conversão do éster para o respectivo ácido, conforme Visentainer e Franco (2006).

2.9 Histopatologia

Para as análises histopatológicas foram coletadas amostras do intestino dos mesmos animais no segmento jejuno, foram alocadas em recipientes que com formol a 10%, os cortes histológicos foram corados com hematoxilina e eosina, para a avaliação do comprimento de criptas e vilosidades, conforme método descrito por Caruso & Demonte (2005).

2.10 Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade das variâncias (Shapiro and Wilk, 1965). Todos os dados foram analisados usando o "procedimento MIXED" do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, EUA; versão 9.4) a fim de determinar o efeito do tratamento. A significância foi definida pelo teste de Tukey, com diferença quando $p \leq 0,05$.

3. Resultados

Os resultados de desempenho de crescimento estão apresentados na Tabela 3. Do dia 1 a 10 de experimento, os grupos PLA 500, PLA 250, tiveram o menor consumo alimentar, semelhantes ao grupo CP, enquanto os grupos PA 125, PA 500 e PLA 125 tiveram os maiores consumos, semelhantes ao grupo CN ($P = 0,03$). Do dia 1 a 10 os grupos PLA 250 e PLA 500 obtiveram a melhor conversão alimentar e foram semelhantes ao grupo CP ($P = 0,01$). Para a análise de ganho de peso não houve diferença estatística do dia 1 a 10 ($P=0,45$). O desempenho acumulado do dia 1 a 21 não demonstrou diferença estatística para consumo alimentar ($P = 0,23$), ganho de peso ($P = 0,65$) e conversão alimentar ($P = 0,72$). Já nos 28 dias de vida foram observadas diferenças para ganho de peso e conversão alimentar entre os tratamentos. Para ganho de peso, o tratamento PLA 500, sobressaiu entre os demais grupos, o grupo CP foi semelhante a este e ao grupo PLA 250, superiores em relação aos grupos CN, PA 125 e PA 500 ($P = 0,05$). Para conversão alimentar os grupos que tiveram a melhor foram, PLA 500 e PLA 250 em relação aos demais grupos, os grupos inferiores para esta variável foram CP, CN PA 125, PLA 125 e PL 500 ($P = 0,02$). O consumo alimentar não diferiu entre os grupos de um a 28 dias ($P > 0,05$).

Tabela 3 - Desempenho de crescimento de frangos alimentados com protease ácida e alcalina.

Tratamentos	Consumo alimentar	Ganho de peso	Conversão alimentar
Dia 1-10			
CP	0,395bc	0,158	2,49ab
CN	0,414ab	0,156	2,66a
PA 125	0,437a	0,155	2,82a
PA 250	0,408bc	0,156	2,62a
PA 500	0,433a	0,153	2,83a
PL 125	0,395bc	0,150	2,63a
PL 250	0,409bc	0,155	2,63a
PL 500	0,403bc	0,160	2,51ab
PLA 125	0,429a	0,161	2,66a
PLA 250	0,363c	0,147	2,464b
PLA 500	0,372c	0,155	2,40b
SEM	0,020	0,020	0,014
p-valor	0,030	0,450	0,010
dia 1-21			
CP	1,331	0,973	1,368
CN	1,314	0,970	1,355
PA 125	1,326	0,927	1,430
PA 250	1,298	0,965	1,345
PA 500	1,304	0,954	1,368
PL 125	1,250	0,938	1,333
PL 250	1,261	0,949	1,328
PL 500	1,301	0,967	1,346
PLA 125	1,349	0,959	1,407
PLA 250	1,277	0,983	1,299
PLA 500	1,297	0,998	1,300
SEM	0,080	0,060	0,040
p-valor	0,230	0,650	0,720
Dia 1-28			
CP	2,389	1,464ab	1,632a
CN	2,326	1,418c	1,639a
PA 125	2,320	1,414c	1,640a
PA 250	2,337	1,447bc	1,614bc

PA 500	2,300	1,411c	1,629ab
PL 125	2,299	1,428bc	1,609c
PL 250	2,308	1,423bc	1,621bc
PL 500	2,360	1,440bc	1,638a
PLA 125	2,375	1,441bc	1,648a
PLA 250	2,315	1,474ab	1,570d
PLA 500	2,337	1,504a	1,553d
SEM	0,191	0,130	0,080
p-valor	0,640	0,050	0,020

OBS: 1. Demonstra o efeito do tratamento, onde letras diferentes na mesma coluna mostra diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os grupos. OBS 2. CP - Controle Positivo (CP - Níveis nutricionais que atendem o requerimento); CN - Controle Negativo (CN = Controle Positivo – 5% de PB e aminoácidos); PA 125 - CN + 125g/t de protease ácida; PA 250 - CN + 250g/t de protease ácida; PA 500 - CN + 500g/t de protease ácida; PL 125 - CN + 125g/t de protease alcalina; PL 250 - CN + 250g/t de protease alcalina; PL 500- CN + 500g/t de protease alcalina; PLA 125 - CN + 125g/t de protease ácida + alcalina; PLA 250 - CN + 250g/t de protease ácida + alcalina; PLA 500 - CN + 500g/t de protease ácida + alcalina. Fonte: Dados da pesquisa (2025).

Para digestibilidade a variável que diferiu foi o balanço de nitrogênio nas excretas (BN) (Tabela 4). O grupo com maior balanço de nitrogênio foi o PLA 250, comparado aos grupos CN, PA125, PA250, PA500, PL 500 e PLA500 ($P = 0,02$) (Tabela 4). Para as variáveis digestibilidade aparente de matéria seca (CDA, MS%), digestibilidade aparente de matéria orgânica (CDA, MO), digestibilidade aparente de energia (CDA energia), digestibilidade aparente de proteína bruta (CDA PB), energia digestível da ração (ED-R), energia digestível corrigida para nitrogênio da ração (EDN-R) e digestibilidade de energia (CDE), não houve diferenças estatísticas ($P > 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Digestibilidade das fezes de frangos alimentados com protease ácida e alcalina.

Tratamentos	CDA MS, %	CDA, MO	CDA energia	CDA PB	BN	ED-R	EDN-R	CDE-R
CP	73,300	75,700	77,400	67,000	162,100 ^{ab}	3150	3095	76,000
CN	72,300	75,600	77,900	65,900	151,500 ^b	3110	3058	76,600
PA 125	72,700	75,200	76,300	65,900	148,500 ^b	3082	3029	75,000
PA 250	73,600	76,100	77,200	67,900	156,400 ^b	3109	3057	75,900
PA 500	75,000	77,200	78,600	69,000	156,000 ^b	3174	3123	77,400
PL 125	74,000	76,400	77,500	70,300	161,800 ^{ab}	3121	3070	76,300
PL 250	74,400	76,600	78,000	68,000	159,000 ^{ab}	3127	3076	76,800
PL 500	73,900	76,200	77,500	68,100	156,600 ^b	3109	3057	76,200
PLA 125	74,600	76,900	78,100	68,700	159,600 ^{ab}	3157	3107	76,900
PLA 250	74,000	76,400	77,600	69,800	169,300 ^a	3109	3051	76,200
PLA 500	73,800	76,200	77,400	69,900	155,900 ^b	3103	3047	76,000
SEM	0,650	0,840	0,510	0,920	3,940	6,210	6,080	1,250
P-valor	0,180	0,600	0,760	0,070	0,020	0,320	0,450	0,780

OBS: 1. Demonstra o efeito do tratamento, onde letras diferentes na mesma coluna mostra diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os grupos. OBS 2. CP - Controle Positivo (CP - Níveis nutricionais que atendem o requerimento); CN - Controle Negativo (CN = Controle Positivo – 5% de PB e aminoácidos); PA 125 - CN + 125g/t de protease ácida; PA 250 - CN + 250g/t de protease ácida; PA 500 - CN + 500g/t de protease ácida; PL 125 - CN + 125g/t de protease alcalina; PL 250 - CN + 250g/t de protease alcalina; PL 500- CN + 500g/t de protease alcalina; PLA 125 - CN + 125g/t de protease ácida + alcalina; PLA 250 - CN + 250g/t de protease ácida + alcalina; PLA 500 - CN + 500g/t de protease ácida + alcalina. OBS 3: CDA MS, %: porcentagem do coeficiente de digestibilidade da matéria seca; CDA MO: coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica; CDA energia: coeficiente de digestibilidade da energia; CDA PB: coeficiente de digestibilidade da proteína bruta; BN: balanço de nitrogênio; ED-R: energia digestível da ração; EDN-R: energia digestível da ração corrigida para nitrogênio; CDE coeficiente de digestibilidade de energia da ração. Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Na Tabela 5 estão representados os resultados da análise bioquímica. As variáveis ácido úrico, glicose, colesterol, albumina, proteína e globulina não diferiram estatisticamente ($P > 0,05$). A variável que diferiu foi a de triglicerídeos, foi observado que o grupo CP foi inferior aos demais grupos e semelhante ao grupo PLA 500, ($P = 0,01$).

Tabela 5 - Bioquímico de frangos submetidos a suplementação com protease ácida e alcalina.

Grupos	Ácido úrico	Glicose	Triglicerídeos	Colesterol	Albumina	Proteína	Globulina
CP	3,570	242,570	49,000b	158,430	1,630	2,630	1,000
CN	4,510	269,630	91,100a	160,380	1,590	3,130	1,540
PA 125	3,800	279,860	84,800a	156,000	1,510	3,210	1,700
PA 250	3,850	243,000	100,200a	141,880	1,630	2,860	1,240
PA 500	3,960	249,130	81,600a	117,750	1,580	2,430	0,850
PL 125	3,880	253,380	84,800a	137,880	1,510	2,530	1,010
PL 250	3,830	257,000	81,800a	128,000	1,460	2,940	1,490
PL 500	3,540	238,750	78,000a	134,130	1,490	2,530	1,040
PLA 125	3,700	252,430	80,000a	128,570	1,570	2,510	0,940
PLA 250	4,930	272,000	94,850a	140,860	1,600	2,840	1,240
PLA 500	3,610	257,860	61,500ab	145,140	1,460	2,670	1,210
SEM	0,390	6,410	8,870	11,300	0,080	0,090	0,130
p-valor	0,260	0,370	0,010	0,120	0,440	0,190	0,230

OBS: 1. Demonstra o efeito do tratamento, onde letras diferentes na mesma coluna mostra diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os grupos. OBS 2. CP - Controle Positivo (CP - Níveis nutricionais que atendem o requerimento); CN - Controle Negativo (CN = Controle Positivo – 5% de PB e aminoácidos); PA 125 - CN + 125g/t de protease ácida; PA 250 - CN + 250g/t de protease ácida; PA 500 - CN + 500g/t de protease ácida; PL 125 - CN + 125g/t de protease alcalina; PL 250 - CN + 250g/t de protease alcalina; PL 500- CN + 500g/t de protease alcalina; PLA 125 - CN + 125g/t de protease ácida + alcalina; PLA 250 - CN + 250g/t de protease ácida + alcalina; PLA 500 - CN + 500g/t de protease ácida + alcalina. Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

As análises de ácidos graxos estão representadas na Tabela 6. O total de lipídeos foi maior nos grupos CP e PL125 em relação aos grupos CN, PL250, PLA125, PLA250 e PLA500 ($P = 0,05$). O ácido palmítico (C16:0), diferiu entre os grupos, a maior concentração deste ácido foi encontrada nos tratamentos PA250, PL250, PL500, PLA125, PLA250 e PLA500, em relação ao grupo CP ($P = 0,02$). O ácido palmitoleico (C16:1), teve maior concentração nos tratamentos PL, PLA125, PLA250 e PLA500 em comparação aos grupos CP, CN e PA250 ($P = 0,01$). O ácido linoleico (C18: 2n6c) foi superior no grupo CP em relação aos grupos PL500, PLA125, PLA250 e PLA500 ($P = 0,01$). O ácido linolênico (C18:3n3), teve maior concentração no grupo CP, em consideração aos demais grupos (0,01). Para a soma dos ácidos graxos monossaturados (MUFA) as maiores concentrações foram nos grupos PA250, PL500 e PLA125 em relação aos grupos CP e CN ($P = 0,04$). A soma de ácidos graxos polinsaturados (PUFA) foram maiores no grupo CP, em relação a PL125, PL500, PLA125, PLA250 E PLA500 ($P = 0,01$). Na soma da concentração da relação de ácidos graxos insaturados e saturados o grupo CP foi superior aos grupos PA250, PLA250 e PLA500 ($P = 0,03$). A soma de ômega 6 foram superiores nos grupos CP e CN em relação aos grupos PL500, PLA125, PLA250 e PLA500 ($P = 0,02$). Já a soma dos ômega 3 foi superior no grupo CP em relação aos demais tratamentos ($P = 0,01$). Na soma da relação de ômega 3 e 6, as maiores concentrações foram CN e PLA250 em relação ao grupo CP ($P = 0,01$).

Tabela 6 - Perfil de ácidos graxos de carne de frangos suplementados com protease ácida e alcalina.

Variáveis	CP	CN	PA125	PA250	PA500	PL125	PL250	PL500	PLA125	PLA250	PLA500	SEM	P-valor
Total lipídios	1,38a	1,10b	1,18ab	1,23ab	1,24ab	1,36a	1,08b	1,36ab	1,14b	1,090	0,970	0,002	0,05
C8:0	0,04	0,06	0,06	0,05	0,05	0,04	0,05	0,04	0,05	0,05	0,05	0,001	0,87
C11:0	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,004	0,93
C12:0	0,03	0,03	0,04	0,07	0,04	0,04	0,06	0,04	0,04	0,04	0,06	0,008	0,86
C14:0	0,31	0,28	0,27	0,29	0,3	0,32	0,31	0,33	0,37	0,31	0,36	0,004	0,72
C14:1	0,07	0,06	0,06	0,05	0,06	0,06	0,06	0,07	0,09	0,07	0,07	0,002	0,69

C15:0	0,08	0,09	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,07	0,07	0,07	0,08	0,16	0,95
C16:0	25,8 ^b	26,3ab	26,8ab	27,3a	26,5ab	26,8ab	27,6a	27,4a	27,2a	27,7a	27,8a	0,19	0,02
C16:1	2,79b	2,65b	3,16ab	2,49b	3,36ab	3,48ab	3,01ab	3,99a	4,60a	3,41a	3,48a	0,003	0,01
C17:0	0,15	0,15	0,15	0,14	0,13	0,13	0,14	0,12	0,12	0,13	0,14	0,205	0,89
C18:0	11,64	12,9	12,54	13,18	11,71	11,4	12,18	10,65	10,98	12,79	12,35	0,067	0,06
C18:1n9t	0,14	0,16	0,21	0,17	0,17	0,17	0,18	0,2	0,18	0,17	0,2	0,145	0,35
C18:1n9c	29,47	29,33	29,38	30,86	31,24	31,6	29,58	32,51	30,98	29,97	30,06	0,492	0,07
C18:2n6c	21,5a	19,6ab	18,9ab	18,6ab	18,6ab	18,4ab	18,1ab	17,6bc	18,1bc	16,8c	17,0c	0,023	0,01
C20:0	0,16	0,18	0,18	0,17	0,17	0,15	0,17	0,15	0,15	0,16	0,17	0,004	0,9
C18:3n6	0,16	0,12	0,12	0,13	0,12	0,14	0,12	0,15	0,13	0,11	0,12	0,007	0,61
C20:1n9	0,35	0,37	0,35	0,4	0,38	0,38	0,34	0,38	0,34	0,35	0,38	0,026	0,75
C18:3n3	0,91a	0,56b	0,56b	0,55b	0,60b	0,65b	0,56b	0,61b	0,65b	0,43b	0,48b	0,001	0,01
C20:2	0,52	0,47	0,42	0,48	0,43	0,45	0,44	0,4	0,42	0,36	0,43	0,004	0,08
C22:0	0,13	0,16	0,16	0,16	0,14	0,11	0,14	0,11	0,13	0,14	0,13	0,033	0,36
C20:3n6	0,88	1,25	1,22	1,28	1,06	0,96	0,99	0,94	0,97	1,2	1,15	0,105	0,28
C22:1n9	0,05	0,06	0,07	0,08	0,11	0,06	0,09	0,04	0,06	0,06	0,09	0,006	0,82
C20:4n6	3,92	4,15	4,17	4,32	3,84	3,69	4,77	3,35	3,51	4,62	4,43	0,125	0,54
C22:2	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,05	0,004	0,95
C24:0	0,09	0,11	0,11	0,11	0,1	0,07	0,11	0,09	0,11	0,1	0,1	0,007	0,92
C20:5n3	0,19	0,2	0,21	0,22	0,18	0,17	0,18	0,19	0,19	0,21	0,27	0,006	0,3
C24:1n9	0,12	0,19	0,18	0,17	0,17	0,16	0,16	0,16	0,16	0,15	0,15	0,021	0,7
C22:6n3	0,41	0,35	0,36	0,42	0,35	0,34	0,47	0,25	0,31	0,39	0,36	0,018	0,63
Outras variáveis													
∑ SFA	38,43	40,34	40,47	41,64	39,25	39,17	40,89	39,04	39,24	41,58	41,29	0,416	0,17
∑ UFA	61,57	59,66	59,53	58,36	60,75	60,83	59,11	60,96	60,76	58,42	58,71	0,266	0,39
∑ MUFA	32,9b	32,8b	33,4ab	32,2a	35,4ab	35,9ab	33,4ab	37,3a	36,4a	34,1ab	34,4ab	0,471	0,04
∑ PUFA	28,5a	26,8ab	26,1ab	26,1ab	25,2ab	24,9b	25,7ab	23,6b	24,3b	24,2b	24,2b	0,379	0,01
UFA/SFA	1,60a	1,48bc	1,47bc	1,40c	1,55ab	1,55ab	1,45bc	1,56ab	1,55ab	1,41c	1,42c	0,017	0,03
∑ ω6	26,52a	25,21a	24,51ab	24,41ab	23,67ab	23,27ab	24,02ab	22,11b	22,73b	22,82b	22,70b	0,348	0,02
∑ ω3	1,50a	1,11b	1,14b	1,19b	1,13b	1,15b	1,21b	1,05b	1,16b	1,02b	1,10b	0,032	0,01
ω6/ω3	17,6c	23,8a	21,7ab	20,4ab	21,1ab	20,3ab	19,9bc	21,1ab	19,6bc	22,3a	20,5ab	0,486	0,01

OBS: 1. Demonstra o efeito do tratamento, onde letras diferentes na mesma linha mostra diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os grupos. OBS 2. CP - Controle Positivo (CP - Níveis nutricionais que atendem o requerimento); CN - Controle Negativo (CN = Controle Positivo – 5% de PB e aminoácidos); PA 125 - CN + 125g/t de protease ácida; PA 250 - CN + 250g/t de protease ácida; PA 500 - CN + 500g/t de protease ácida; PL 125 - CN + 125g/t de protease alcalina; PL 250 - CN + 250g/t de protease alcalina; PL 500 - CN + 500g/t de protease alcalina; PLA 125 - CN + 125g/t de protease ácida + alcalina; PLA 250 - CN + 250g/t de protease ácida + alcalina; PLA 500 - CN + 500g/t de protease ácida + alcalina. OBS 3. C8:0 (Caprílico); C11:0 (Undecanoíco); C12:0 (Laurico); C14:0 (Mirístico); C14:1 (Miristoleico); C15:0 (Pentadecanoico); C16:0 (Palmítico); C16:1 (Palmitoleico); C17:0 (Heptadecanoico); C18:0 (Estearíco); C18:1n9t (Elaídico); C18:1n9c (Oleico); C18:2n6c (Linoleico); C20:0 (Araquídico); C18:3n6 (Gama-Linolenico); C20:1n9 (cis-11-Eicosenoico); C18:3n3 (Alfa-Linolenico); C20:2 (cis-11,14-Eicosadienoico); C22:0 (Beénico); C20:3n6 (cis-8,11,14-Eicosatrienoico); C22:1n9 (Erucico); C20:4n6 (Araquidônico); C22:2 (cis-13,16-Docosadienoico); C24:0 (Lignocérico); C20:5n3 (cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoico); C24:1n9 (Nervônico); C22:6n3 (cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoico); ∑ SFA (Soma de ácidos graxos saturados); ∑ UFA (Soma ácidos graxos insaturados); ∑ MUFA (Soma ácidos graxos monoinsaturados); ∑ PUFA (Soma ácidos graxos polinsaturados); UFA/SFA (relação ácidos graxos saturados e ácidos graxos saturados); ∑ ω6 (Soma ômega seis); ∑ ω3 (Soma ômega três); ω6/ω3 (Relação ômega e ômega 3). Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Na tabela 7 estão apresentados os dados da análise de qualidade de carne. Para a variável de perda de água por cocção (PAC %) houve diferença, os grupos PL 500, PLA 250, PLA 500, foram as maiores perdas de água em comparação aos grupos CP, CN, PA 125, PLA 125, os demais foram semelhantes a ambos os grupos ($P = 0,05$). Para as análises de umidade, proteína, gordura, pH, cor L, cor A, cor B, capacidade de retenção de água (CRA), e força de cisalhamento (FC), não houve diferença estatística identificada ($P > 0,05$).

Tabela 7 - Análise de carne de frangos suplementados com protease ácida e alcalina.

Grupos	Umidade (%)	Proteína (%)	pH	Cor "L"	Cor "a"	Cor "b"	CRA (%)	PAC (%)	FC
CP	74,000	23,200	5,650	59,800	-1,330	11,200	75,700	19,400 ^b	2257
CN	76,300	22,500	5,620	61,900	-2,030	12,200	75,300	19,100 ^b	2033
PA 125	75,400	22,500	5,670	58,700	-0,760	10,700	77,000	19,300 ^b	2358
PA 250	75,000	22,900	5,590	59,200	-0,290	11,300	74,500	20,700 ^{ab}	1902
PA 500	75,000	23,100	5,660	57,800	-1,210	10,300	71,900	21,900 ^{ab}	2109
PL 125	73,800	23,800	5,620	60,300	-0,710	12,000	70,200	21,600 ^{ab}	2371
PL 250	75,500	22,900	5,670	56,700	-0,980	10,300	74,300	22,000 ^{ab}	1253
PL 500	75,900	21,800	5,710	56,100	-1,910	10,100	71,800	24,300 ^a	1515
PLA 125	74,500	23,500	5,650	60,800	-1,470	11,600	73,600	18,600 ^b	2151
PLA 250	73,600	24,100	5,640	58,500	-0,290	11,400	76,300	23,500 ^a	2859
PLA 500	74,000	23,400	5,700	56,700	-1,140	10,900	70,400	25,000 ^a	2048
SEM	0,840	0,960	0,050	1,050	0,290	0,500	1,250	0,900	65,9
p-valor	0,420	0,580	0,850	0,260	0,740	0,680	0,440	0,050	0,11

OBS: 1. Demonstra o efeito do tratamento, onde letras diferentes na mesma coluna mostra diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os grupos. OBS: 2. CP - Controle Positivo (CP - Níveis nutricionais que atendem o requerimento); CN - Controle Negativo (CN = Controle Positivo – 5% de PB e aminoácidos); PA 125 - CN + 125g/t de protease ácida; PA 250 - CN + 250g/t de protease ácida; PA 500 - CN + 500g/t de protease ácida; PL 125 - CN + 125g/t de protease alcalina; PL 250 - CN + 250g/t de protease alcalina; PL 500- CN + 500g/t de protease alcalina; PLA 125 - CN + 125g/t de protease ácida + alcalina; PLA 250 - CN + 250g/t de protease ácida + alcalina; PLA 500 - CN + 500g/t de protease ácida + alcalina. OBS3: CRA: Capacidade de retenção de água; PAC: Perda de água por cocção; FC: Força de cisalhamento. Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Para a variável vilosidade os grupos com maiores valores foram, CP, CN e PL 500, em relação aos grupos PA 125, PLA 125 e PLA 500, os demais grupos foram semelhantes a ambos os tratamentos ($P = 0,05$) (Tabela 8). Para a análise de cripta, a maior profundidade foi encontrada no grupo PL 125 semelhante ao grupo CN, PA 125, PA 250, PA 500, PL 250, PL 500, PLA 125, PLA 250 E PLA 500 em relação aos demais grupos, o grupo com menor valor de cripta foi o PLA 125 ($P = 0,01$) (Tabela 8). Para a avaliação de vilosidade/cripta, foi identificado que o grupo PL 500 foi superior ao grupo PL 125, os demais grupos foram semelhantes a ambos os tratamentos ($P = 0,02$) (Tabela 8).

Tabela 8 - Micrometria de frangos tipo griller suplementados com protease ácida e alcalina.

Grupo	Vilosidade (μm)	Cripta (μm)	Relação vilosidade/cripta
CP	1225 ^a	183 ^b	6,670 ^{ab}
CN	1195 ^a	175 ^{bc}	6,830 ^{ab}
PA 125	989 ^b	164 ^{bc}	6,010 ^{ab}
PA 250	1050 ^{ab}	191 ^b	5,480 ^{ab}
PA 500	1136 ^{ab}	173 ^{bc}	6,560 ^{ab}
PL 125	1165 ^{ab}	215 ^a	5,420 ^b
PL 250	1108 ^{ab}	174 ^{bc}	6,350 ^{ab}
PL 500	1247 ^a	159 ^{bc}	7,810 ^a
PLA 125	976 ^b	146 ^c	6,650 ^{ab}
PLA 250	1138 ^{ab}	175 ^{bc}	6,490 ^{ab}
PLA 500	984 ^b	169 ^{bc}	5,790 ^{ab}
SEM	39,500	7,530	0,530
P-valor	0,050	0,010	0,020

OBS: 1. Demonstra o efeito do tratamento, onde letras diferentes na mesma coluna mostra diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os grupos. OBS 2. CP - Controle Positivo (CP - Níveis nutricionais que atendem o requerimento); CN - Controle Negativo (CN = Controle Positivo – 5% de PB e aminoácidos); PA 125 - CN + 125g/t de protease ácida; PA 250 - CN + 250g/t de protease ácida; PA 500 - CN + 500g/t de protease ácida; PL 125 - CN + 125g/t de protease alcalina; PL 250 - CN + 250g/t de protease alcalina; PL 500- CN + 500g/t de protease alcalina; PLA 125 - CN + 125g/t de protease ácida + alcalina; PLA 250 - CN + 250g/t de protease ácida + alcalina; PLA 500 - CN + 500g/t de protease ácida + alcalina. Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

4. Discussão

A utilização da protease ácida combinada a alcalina, na dose de 250 e 500 g/t proporcionou melhor conversão alimentar e menor consumo alimentar para frangos de corte, com redução da proteína bruta da dieta. Ndazigaruye et al., (2019) constataram que o uso de 1g/kg de protease exógena alcalina na alimentação de frangos de corte, com redução de 12% de aminoácidos, diminuiu a conversão alimentar de 1 a 21 dias de idade e aumentou o ganho de peso das aves. Rehman et al., 2017, observaram que a redução em 7% de proteína bruta na dieta de frangos de corte e a suplementação de 0,02% de protease (*Bacillus spp.* e *Aspergillus spp.*) aumentou o peso corporal, melhorou a conversão alimentar e retorno econômico.

No estudo de Xu et al. (2017), o uso de protease composta (ácidas, neutras e alcalinas produzidas por *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus Licheniformi*), em frangos de corte melhoraram a utilização de nutrientes, como matéria seca e principalmente a proteína, este indica que mais nutrientes foram digeridos e absorvidos no intestino melhorando o desempenho zootécnico de aves. Desta forma o uso da protease exógena sugere, melhor capacidade de absorção de nutrientes dietéticos, o que pode explicar as melhorias no desempenho do crescimento e nas respostas de utilização de nutrientes (Adebiyi e Olukosi, 2015). Informação confirmada também com o estudo de Wang et al. (2008). Estas melhorias no desempenho zootécnico podem ser atribuídas a digestibilidade dos aminoácidos, potencializado com a adição da protease, isto ocorre, pois, as aves alcançam sua meta de aminoácido digestível de forma eficiente e demonstram maior eficiência alimentar (Aderibigbe et al., 2020).

A utilização de proteases mostra-se eficaz na potencialização da retenção de nutrientes, mediante a hidrólise das proteínas em peptídeos e aminoácidos, estes tornam-se disponíveis para serem absorvidos no intestino delgado (Adebiyi e Olukosi, 2015). Com a análise de balanço de nitrogênio, observamos que a utilização da protease aumentou a retenção de nitrogênio na carcaça. Xu et al. (2017), observaram que o uso da protease composta, aumentou a retenção de nitrogênio de frangos de corte com 21 dias de vida. Park e Kim (2018), constataram que o uso da protease associada a óleos essenciais potencializou a retenção de nitrogênio em frangos de corte juntamente com a diminuição da emissão de amônia na excreta. Resultados também confirmados em outros estudos de Angel et al. (2011) e Freitas et al. (2011), que utilizaram protease monocomponente para frangos de corte e a retenção de proteína foi potencializada. Uma explicação possível para esses resultados é que, a protease complementa os efeitos da pepsina endógena e das enzimas pancreáticas, amplia a hidrólise e a solubilização da proteína e assim aumenta a retenção proteica (Fru-Nji et al., 2011).

Para análises bioquímicas do sangue com a inclusão da protease, é esperado que ocorram diferenças na proteína presente no sangue. Sabe-se que a ingestão de proteína influencia a quantidade de proteína no sangue, isso implica o nível total de proteína no sangue é regulado positivamente à medida que a utilização de proteína é aumentada, com alta digestibilidade das fontes de proteína de qualidade (Liu et al., 2023). Lee et al. (2023), estudou os efeitos da protease exógena de substilina em relação ao perfil sanguíneo e constatou que a protease teve relação a digestibilidade de proteína, mas não afetou os parâmetros sérico da bioquímica do sangue, ou seja, não teve interferência na proteína sanguínea. Os estudos de Corzo et al. (2005), relataram que a proteína total no soro não foi afetada independentemente dos níveis de proteína na dieta. Porém a proteína total no soro, pode ser afetada quando a dieta apresentar deficiência elevada em aminoácidos e não no momento em que a maior disponibilidade destes (Corzo et al., 2009; Ahmadi et al., 2015). Para a análise de sangue, pode haver explicação através do desequilíbrio de nutrientes na dieta, que não foi significativo para causar alterações nos parâmetros e metabolismo sanguíneo.

O mesmo ocorreu para análise de triglicerídeos, no momento em que se inclui protease na dieta de frangos é esperado que ocorra variabilidades em níveis relacionados ao nível de proteína do sangue, porém um achado deste trabalho é que com a inclusão de protease ácida e acida mais alcalina, o nível de triglicerídeos aumenta em relação a uma dieta sem a suplementação da protease com o mesmo nível de proteína. Não há artigos que corroborem com este resultado encontrado. Essa discrepância

do triglicerídeos com a literatura pode ser devida à diferença nas dietas basais, protease utilizada e dosagem de protease entre este estudo e outros estudos. Porém este fato pode ser brevemente explicado pela protease ter efeito em fatores antinutricionais e liberar juntamente a proteína alguns carboidratos e lipídeos, que antes estavam em um emaranhado, com a proteína, sem capacidade de sofrer hidrólise das enzimas digestivas endógenas do trato gastrointestinal, assim, aumentar o nível de triglicerídeos no sangue, e também pela proteína auxiliar no transporte e armazenamento de gorduras, via corrente sanguínea, e que com o aumento da proteína ingerida, aumente o transporte destes (Tavernari et al., 2008, Bertechini, 2012).

Lin et al. (2023), utilizaram protease (0,2 / kg) sob infecção por *Eimeria spp.* em relação aos efeitos de ácidos graxos na microbiota intestinal, com o estudo observaram que houve aumento da produção de butirato de 3,5 a 7 pontos e melhorou em geral a produção de ácidos graxos de cadeia curta, com interferência positiva na saúde intestinal de frangos de corte. Ndazigaruye et al. (2019), tentaram protease alcalina de *Bacillus clausii*, em relação a produção de ácidos graxos voláteis cecal, concluíram que o uso da enzima aumentou a quantidade de ácidos graxos totais de cadeia curta em relação a não suplementação em 10,90 pontos, e observaram tendência para produção de butirato, acetato e valerato. Njeri et al. (2023), constataram que em dietas com 10% de trigo, mais adição de um 500g por tonelada de um composto com protease decorre em maior quantidade de ácido butírico e maior concentração total de ácidos graxos de cadeia curta, devido a fermentação de carboidratos não digeridos. Apesar de existirem estudos com produção de ácidos graxos na microbiota intestinal, não há artigos que abordem o perfil de ácidos graxos na carne, mas, pode-se prever uma relação direta com a fermentação microbiana com os achados de nosso estudo como, o aumento da concentração dos ácidos palmítico, palmitoleico e concentração de ácidos monossaturados, e diminuição dos ômega 3 e 6, ácidos graxos polinsaturados, lipídeos totais, e ácido linoleico.

Os resultados para a qualidade da carne não foram consistentes com outros estudos. Demais estudos relatam diferenças encontradas para pH no musculo do peito, que tende a aumentar com a suplementação de protease e este reflete na diminuição de perda por gotejamento (Xu et al., 2017 ; Saleh et al., 2020). Alguns estudos demonstram que a protease impacta nas cores da carne, além do pH, aumenta a cor vermelha, amarela e interfere na luminosidade (Ndazigaruye et al., 2019). Outro fator, é de que a protease aumentou os aminoácidos no musculo peitoral (Lee et al., 2023), sabe-se que para produzir proteína é necessário a disponibilidade de água no organismo, desta forma com o aumento da deposição de aminoácidos no peito, há aumento de água nas células, quando estas sofrem pressão por calor, se rompem e liberam mais líquido intracelular e aumentam a perda de água por cocção. Como é observado neste trabalho, com a adição de protease observamos maior perda de água por cocção, mas não houve diferença na capacidade de retenção de água.

Com o uso da protease alcalina, foi possível observar que houve maior relação de vilosidade e cripta, maiores alturas de vilosidades e menor desenvolvimento de cripta, este que pode estar relacionado a protease alcalina atuar somente no intestino, onde ocorre a absorção de nutrientes, sabe-se que para aves jovens, vilosidades longas no intestino aumentam a área de absorção, e criptas com menores profundidades indicam menor renovação tecidual e menor demanda para o desenvolvimento tecidual para manutenção do intestino (Khodambashi et al., 2012). Na avaliação de vilosidades é observado que a profundidade de cripta, o fator de maior significância na correlação com turnover proteico e reposição epitelial não diferiu entre os tratamentos. Khodambashi et al. (2012), citam em seu trabalho com uso de protease ácida à dieta de frangos, resultou em profundidade de criptas menores em comparação com o grupo de controle positivo. Estes autores explicam que houve menor necessidade de renovação intensa celular e produção de vilosidades que, por sua vez, está associada ao tamanho menor das criptas, esses resultados sugerem que os animais tiveram menor demanda tecidual e a energia que seria usada na produção de vilosidades foi redirecionada para o ganho de peso (Khodambashi et al., 2012).

5. Conclusão

As dosagens de protease ácida mais alcalina, 250 g/ton e 500 g/ton, resultaram em melhor conversão alimentar e ganho de peso. Além deste, foi observado maior retenção de nitrogênio no grupo com adição de protease ácida mais alcalina, na dosagem 250g/ton. Pensando no custo-benefício, com base nos resultados obtidos verificamos que a combinação de protease ácida e alcalina na dose de 250g/ton é a mais apropriada.

Referências

- ABPA. (2022). Relatório Anual 2022. Associação Brasileira de Proteína Animal. <https://abpa-br.org/abpa-lanca-relatorio-anual-2022/>.
- Adebiyi, A. O. & Olukosi, O. A. (2015). Apparent and standardized ileal amino acid digestibility of wheat distillers dried grains with solubles with or without exogenous protease in broilers and turkeys. *Poultry Science*. 56, 239-46.
- Aderibigbe, A., Cowieson, A. J., Sorbara, J. O., Pappenberger, G. & Adeola, O. (2020). Growth performance and amino acid digestibility responses of broiler chickens fed diets containing purified soybean trypsin inhibitor and supplemented with a monocomponent protease. *Poultry science*. 99(10), 5007-17.
- Akamine, C. T. & Yamamoto, R. K. (2009). Estudo dirigido: estatística descritiva. (3ed.) Editora Érica.
- Ahmadi, M., Yaghoobar, A. & Tabatabaei, S. H. (2015). Study of effects difference levels of crude protein and amino acid of diet on intestinal morphological and blood biological parameters of poultry. *Biology Forum*. (7), 666-70.
- Andriquetto, J. M., Perly, L. & Minardi, I. A. (1982) As bases e os fundamentos da nutrição animal. *Nutrição animal*, v. 1, 1982.
- Angel, C. R., Saylor, W., Vieira, S. L. & Ward, N. (2011). Effects of a monocomponent protease on performance and protein utilization in 7-to 22-day-old broiler chickens. *Poultry science*. 90, 2281-6.
- AOAC (1995). Official methods of analysis of AOAC international, Volume 2. *Trends in Food Science & Technology*, 6(11), 382-382, 1995.
- Attia, Y. A., Bovera, F., Wang, J., Al-Harhi, M. A. & Kim, W. K. (2020). Multiple amino acid supplementations to low-protein diets: effect on performance, carcass yield, meat quality and nitrogen excretion of finishing broilers under hot climate conditions. *Animals*. 10, 973.
- Bertechini, A.G. (2012). Nutrição de monogástricos. *Lavras ufa*. 301, 129-63.
- Bligh, E. G.; Dyer, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(21), 911-917, 1959.
- Caruso, M. & Demonte, A. (2005). Histomorfometria do intestino delgado de ratos submetidos a diferentes fontes proteicas. *Alimentos e Nutrição Araraquara*. 16(2), 131-6.
- COBB. (2012). Manual de manejo de frango de corte. Cobb-Vantress. <https://wp.ufpel.edu.br/avicultura/files/2012/04/Cobb-Manual-Frango-Corte-BR.pdf>.
- Corzo, A., Fritts, C. A., Kidd, M. T. & Kerr, B. J. (2005). Response of broiler chicks to essential and non-essential amino acid supplementation of low crude protein diets. *Animal Feed Science Technology*. (118), 319-27.
- EMBRAPA. (2021). Suínos e aves. Empresa brasileira de pesquisa e agropecuária, aves e suínos (EMBRAPA), 2021. <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves>.
- Freitas, D. M., Vieira, S. L., Angel, C. R., Favero, A. & Miorca, A. (2011). Performance and nutrient utilization of broilers fed diets supplemented with a novel mono-component protease. *Journal Applied Poultry Research*. (20), 322-34.
- Fru-Nji, F., Kluenter, A. M., Fischer, M. & Pontoppidan, K. (2011). A feed serine protease improves broiler performance and increases protein and energy digestibility. *Journal Poultry Science*. 48, 239-46.
- Fireman, F. A. T., Fireman, A. K. B. T. (1998) Enzimas Na Alimentação De Suínos - Revisão Bibliográfica. *Ciência Rural*, Santa Maria, (28) 173-178.
- Gil, A. C. (2017). Como elaborar projetos de pesquisa. (6ed). Atlas.
- Hamm, R. (1960). Biochemistry of meat hydration. *Advances in Food Research*. 10, 335-443.
- Hartman, L. & Lago, R. C. (1973). Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory Practice*. 22(494), 475-7.
- Honikel, K. (1987). The meat water connection. *Fleischwirtsch*. 67, 1009-102.
- Jeyakumar, E. & Lawrence, R. (2022). Microbial fermentation to reduce antinutritional factors. *Current developments in biotechnology and bioengineering*. 239-60.
- Khodambashi, E. N., Samie, A., Rahmani, H. R. & Ruiz-Ferriab, C. A. (2012). The effect of peppermint essential oil and fructooligosaccharides as alternatives to virginiamycin, on growth performance, digestibility, gut morphology and immune response of male broilers. *Animal Feed Science Technology*. 175, 57-64.
- Lee, J., Oh, H., Kim, Y., Song, D., An, J., Chang, S. & Cho, J. (2023). Effects of exogenous protease on performance, economic evaluation, nutrient digestibility, fecal score, intestinal morphology, blood profile, carcass trait, and meat quality in broilers fed normal diets and diets considered with matrix value. *Poultry Science*. 102(5), 102565.

- Lin, Y., Lourenço, J. M. & Olukosi, O. A. (2023). The effects of protease, xylanase, and xylo-oligosaccharides on growth performance, nutrient utilization, short-chain fatty acids, and microbiota in *Eimeria*-challenged broiler chickens fed low protein diet. *Poultry Science*. 102789. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102789>.
- Liu, G., Castro, F. L. S. & Kim, W. K. (2023). Applied Research Note: Exogenous protease supplementation to reduced-energy, reduced-protein, and reduced-amino acid diets for broiler chickens from days 1 to 42. *Journal of Applied Poultry Research*, 32(3), 100362, 2023.
- MAQSOOD, M. A.; KHAN, E. U.; QAISRANI, S. N.; RASHID, M. A.; SHAHEEN, M. S.; NAZIR, A.; AHMAD, S. Interactive effect of amino acids balanced at ideal lysine ratio and exogenous protease supplemented to low CP diet on growth performance, carcass traits, gut morphology, and serum metabolites in broiler chicken. *Tropical Animal Health and Production*, 54(3), 186, 2022.
- McCafferty, K. W., Morgan, N. K., Cowieson, A. J., Choct, M. & Moss, A. F. (2022). Varying apparent metabolizable energy concentrations and protease supplementation affected broiler performance and jejunal and ileal nutrient digestibility from 1 to 35 d of age. *Poultry Science*. 101(7), 101911.
- Morgan, N., Bhuiyan, M. M. & Hopcroft, R. (2022). Degradation of non-starch polysaccharides in the gastrointestinal tract of broilers fed commercial-type diets supplemented with a single dose of xylanase, a double dose of xylanase or a cocktail of non-starch polysaccharide degrading enzymes. *Poultry Science*. 101(6), 101846.
- Mottet, A. & Tempio, G. (2017). Global poultry production: current state and future outlook and challenges. *Poultry Science*. 73, 245-56.
- Ndazigaruye, G., Kim, D. H., Kang, C. W., Kang, K. R., Joo, Y. J. & Lee, S. R. & Lee, K. W. (2019). Effects of low-protein diets and exogenous protease on growth performance, carcass traits, intestinal morphology, cecal volatile fatty acids and serum parameters in broilers. *Animals*. 9(5), 226.
- Njeri, F. M., Sanchez, J., Patterson, R., Gachui, C. K. & Kiarie, E. G. (2023). Comparative growth performance, gizzard weight, ceca digesta short chain fatty acids and nutrient utilization in broiler chickens and turkey poults in response to cereal grain type, fiber level, and multienzyme supplement fed from hatch to 28 days of life. *Poultry Science*. 102(10), 102933.
- Park, J. H. & Kim, I. H. (2018). Effects of a protease and essential oils on growth performance, blood cell profiles, nutrient retention, ileal microbiota, excreta gas emission, and breast meat quality in broiler chicks. *Poultry Science*. 97(8), 2854-60.
- Pereira A. S. et al. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [free e-book]. Editora da UAB/NTE/UFMS.
- Rehman, Z. U., Kamran, J., Abd El-Hack, M. E., Alagawany, M., Hatti, S. A., Ahmad, G. & Ding, C. (2017). Influence of low-protein and low-amino acid diets with different sources of protease on performance, carcasses and nitrogen retention of broiler chickens. *Animal Production Science*. 58(9), 1625-31.
- 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. (2017). Composição de alimentos e exigências nutricionais. In: Tabelas brasileiras para aves e suínos. Universidade federal de viçosa. 3(1), 1.
- Saleh, A. A., Dawood, M. M., Badawi, N. A., Ebeid, T. A., Amber, K. A. & Azzam, M. M. (2020). Effect of supplemental serine-protease from *Bacillus licheniformis* on growth performance and physiological change of broiler chickens. *Journal Applied Animal Research*. (48), 86-92.
- Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52(3-4), 591-611.
- Shitsuka et al. (2014). Matemática fundamental para a tecnologia. Editora Érica.
- Tavernari, F. C., Carvalho, T. A., Assis, A. D. & Lima, H. J. D. (2008). Polissacarídeo não-amiláceo solúvel na dieta de suínos e aves. *Revista Eletrônica Nutritime*. 5(5), 673-89.
- Velázquez-de Lucio, B. S., Hernández-Domínguez, E. M., Villa-García, M., Díaz-Godínez, G. & Mandujano-Gonzalez, V., Mendoza-Mendoza, B. & Alvarez-Cervantes, J. (2021). Exogenous enzymes as zootechnical additives in animal feed: a review. *Catalysts*. 11(7), 851.
- Visentainer, J. V. & Franco, M. R. B. (2006). Ácidos Graxos em Óleos e Gorduras: Identificação e Quantificação. Editora Varela.
- Wang, H., Guo, Y. & Shih, J. C. H. (2008). Effects of dietary supplementation of keratinase on growth performance, nitrogen retention and intestinal morphology of broiler chickens fed diets with soybean and cottonseed meals. *Animal Feed Science Technology*. (140), 376-84.
- Xu, X., Wang, H. L., Pan, L., Ma, X. K., Tian, Q. Y., Xu, Y. T. & Piao, X. S. Effects of coated proteases on the performance, nutrient retention, gut morphology and carcass traits of broilers fed corn or sorghum based diets supplemented with soybean meal. *Animal Feed Science and Technology*, 223, 119-127, 2017.