

**SUPLEMENTAÇÃO DE DIETA DE FRANGOS DE CORTE COM FITASES  
PRODUZIDAS POR FUNGOS – UMA REVISÃO DE LITERATURA**

**SUPLEMENTACIÓN DE LA DIETA DE POLLO ASAR CON FITASES  
PRODUCIDAS POR HONGOS – UNA REVISIÓN DE LA LITERATURA**

**SUPPLEMENTATION OF BROILER CHICKEN DIETS WITH PHYTASES  
PRODUCED BY FUNGI – A LITERATURE REVIEW**

Apresentação: Comunicação Oral

DOI: <https://doi.org/10.31692/VCIAGRO.0107>

**RESUMO**

O objetivo dessa revisão de literatura foi através de uma ampla e minuciosa pesquisa de artigos científicos abordar sobre as principais técnicas de produção e extração de fitases por fungos e entender sobre a importância dessa enzima na redução de custo e da biodisponibilidade mais rápida e eficaz do fósforo para aves de aptidão zootécnica de corte. Para a escrita da revisão foi realizado um estudo retrospectivo sendo selecionados artigos de pesquisa, bem como revisões bibliográficas dos últimos 50 anos, consultadas por bases de dados disponíveis e gratuitas nas plataformas: Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações – BDTD, Scientific Electronic Library Online – ScieELO, e Elsevier.. Foram utilizados como descritores em português: “*Extração fitase fúngica*”, “*Fitase frangos de corte*”; “*Fungos produtores fitase*”, “*Fitase nutrição animal*”, além de seus respectivos termos em inglês: “*Extraction of Fungal Phytase*”, “*Phytase for Broiler Chickens*”, “*Phytase-Producing Fungi*”, “*Phytase in Animal Nutrition*”. Após os critérios de inclusão e exclusão foram identificados e incluídos 43 estudos de domínio científico para a referida revisão. Dentre os trabalhos analisados observou-se destaque para o gênero *Aspergillus* na produção da fitase, seguido de *Mucor* e *Rhizopus*, a temperatura ideal de produção da enzima variou entre 26 a 30°C e com um tempo de fermentação de em média 96 horas. Além disso a média de ganho de peso das aves de frango de corte é amplificada quando a dieta é suplementada com fitase fúngica, tendo em vista que ao fornecer apenas a ração, a média de peso dessas aves fica abaixo do grupo tratado. A revisão realizada permitiu observar que o uso adicional de concentrações ideais da enzima fitase à dieta de frangos de corte, comprovam resultados significativos no aumento do índice de digestibilidade tanto de minerais essenciais, como também na melhora da absorção intestinal dos demais nutrientes da alimentação, na potencialização do ganho de peso, qualidade de carcaça, e potencial produtivo, com a diminuição dos impactos ambientais e contaminação do solo por exacerbação de minerais como fósforo e nitrogênio nas fezes dessas aves. Dessa forma fica evidente que os fungos apresentam uma elevada capacidade de produção da enzima fitase através de processos fermentativos, sejam eles sólidos ou submersos, sobretudo utilizando co-produtos e resíduos agroindustriais como substratos de baixo custo.

**Palavras-Chave:** Ácido fítico, Fósforo, Nutrição de aves, Digestibilidade, Fitase

**INTRODUÇÃO**

Grãos e leguminosas presentes nas rações de frangos apresentam fontes significativas de fósforo, contudo, esse nutriente geralmente se encontra na forma de ácido fítico (Fireman e Fireman, 1998). Nas aves, a ausência da enzima fitase impede a degradação eficaz deste composto durante o processo digestivo. Como resultado, a biodisponibilidade do fósforo nessas dietas que incluem fontes vegetais, como milho e farelo de arroz, é consideravelmente reduzida. Com o intuito de garantir uma absorção adequada do fósforo, é necessário adicionar a dieta

fontes suplementares de fósforo já degradado e absorvível na forma de fosfato (Cowieson e Adeola, 2005).

De acordo com Trema e Silva (2020), a produção de frango de corte no Brasil é notável pela sua eficiência e dinamismo. O país é líder mundial em exportações e ocupa a terceira posição na produção global, graças aos ganhos de produtividade e à excelente coordenação da cadeia avícola. Apesar disso, para otimizar o potencial produtivo da avicultura brasileira, é necessário abordar e desenvolver novas linhas de pesquisa biotecnológica, focadas no cultivo de determinadas espécies fúngicas em substratos de baixo custo e fácil obtenção.

Dentre os possíveis elementos de baixo custo que tendem a ser utilizados como substratos para o desenvolvimento dessas linhas de pesquisa e que são abundantes em ácido fítico, incluem a casca de mandioca, farelo de arroz e farelo de milho, potencializando uma maior produção de fitase fúngica, conforme abordado por Pereira (2015). Donato *et al.* (2013) afirma que algumas espécies fúngicas apresentam uma capacidade maior de sintetizar a enzima fitase em meios com substratos compostos por elevadas concentração de ácido fítico, dentre elas estão os fungos do gêneros *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus*.

Após a obtenção do bioproduto enzimático, faz-se necessário a extração da fitase para ser utilizada como aditivo nas formulações de rações ofertadas aos frangos de corte. Um dos principais métodos utilizados foi proposto por Heinonen e Lathi (1981) utilizando o método do molibdato de amônio para a determinação do fósforo inorgânico. Com a enzima extraída, é realizada purificação (Konietzny *et al.*, 1994) eliminando as biomoléculas contaminantes que possam vim estarem presentes no extrato bruto. Na a determinação da massa molar ou peso molecular da fitase purificada, é quase que por unanimidade a metodologia descrita por Laemmli (1970), no caso a eletroforese em gel de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Na etapa final, as preparações enzimáticas, sejam brutas ou purificadas, podem ser preservadas em estado líquido, granulado ou liofilizado. Para garantir a estabilidade, podem ser adicionados estabilizadores como sais, carboidratos ou proteínas inertes (Gerhartz, 1990).

Nesse sentido, o objetivo dessa revisão de literatura foi através de uma ampla e minuciosa pesquisa de artigos científicos, abordar sobre as técnicas de produção e extração de fitases por fungos e entender sobre a importância dessa enzima na redução de custo e da biodisponibilidade mais rápida e eficaz do fósforo para aves de aptidão zootécnica de corte.

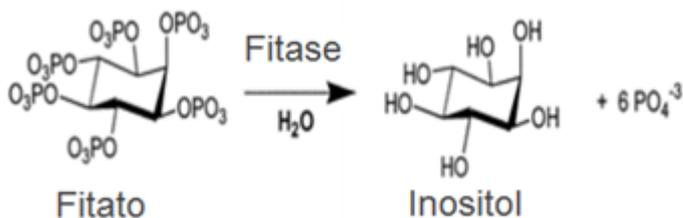
## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **FITASE**

As plantas armazenam fósforo em concentrações distintas na forma orgânica de ácido

fítico, que consiste em seis moléculas de fósforo (P) ligadas a uma molécula de mio-inositol, também podendo ser denominado como mio-inositol hexafosfato (IP6) (**Figura 01**), o qual é de elevada significância para o desenvolvimento e crescimento de grãos e sementes (Batista, 2014).

**Figura 01:** Hidrólise do fitato pela enzima fitase.



Fonte: Silveira (2017).

Segundo Lelis *et al.* (2009), os fitatos são sais contendo fósforo derivados do ácido fítico e são parcialmente desfosforilados durante a digestão. No entanto, aves e outros animais monogástricos carecem das enzimas necessárias para quebrar completamente essa molécula. Ainda de acordo com estes autores, para uma vertiginosa taxa de crescimento e desenvolvimento precoce dos frangos de corte, a utilização de aditivos alimentares é crucial para otimizar o desempenho desses animais. O uso de bioprodutos enzimáticos tem sido preconizado nas dietas avícolas para aumentar a produtividade.

A aplicação da fitase na alimentação de frangos é fundamental para otimizar a liberação de fósforo do ácido fítico, minimizar a ação antinutricional do fitato e ajudar o organismo a eliminar fatores que comprometem a absorção de nutrientes necessários para o crescimento e saúde das aves (Batista, 2014). No trato gastrointestinal, o ácido fítico se complexa com minerais, proteínas e enzimas, como a amilase, formando o fitato. Esse composto bloqueia a absorção de nutrientes vitais ao se ligar ao bolo alimentar, resultando na excreção desses nutrientes nas fezes. Além disso, o fitato provoca um aumento na secreção de muco intestinal, o que prejudica ainda mais a absorção de nutrientes. A fitase degrada o ácido fítico, evitando a formação do fitato e permitindo a assimilação eficiente desses nutrientes pelos frangos.

As fitases são enzimas que alguns microrganismos, tanto fúngicos quanto bacterianos, secretam naturalmente para atender às suas necessidades metabólicas, conforme relata Serafini (2018). Essas atividades enzimáticas são analisadas para identificar características úteis que podem ser aplicadas em rações. Atualmente, a maioria das enzimas alimentares disponíveis no mercado é produzida por meio de sistemas de fermentação otimizados que utilizam microrganismos geneticamente modificados (Adeola e Coiweson, 2011). Enzimas exógenas

são adicionadas comercialmente às rações de aves para melhorar a digestibilidade dos nutrientes e reduzir os efeitos dos antinutrientes, sendo a fitase o principal aditivo enzimático empregado na produção comercial de frangos de corte (Stefanello, 2016). Esta suplementação apresenta como principal objetivo fornecer a quantidade de fitase necessária e que não é sintetizada pelo trato gastrointestinal desses animais (Cowieson e Adeola, 2005).

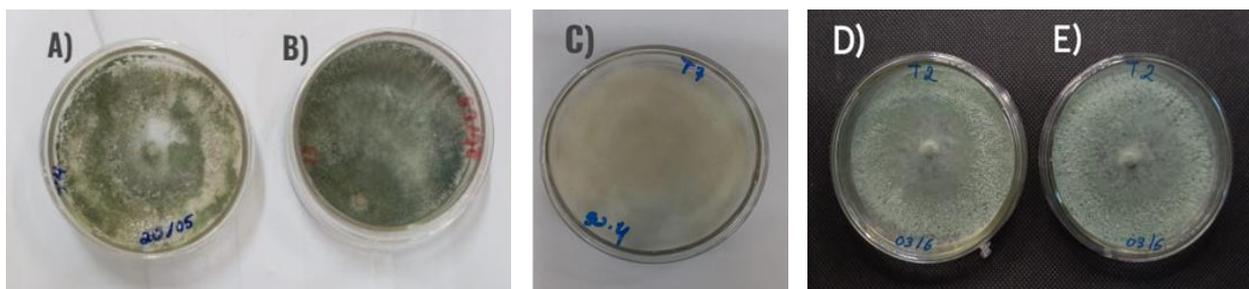
## PRODUÇÃO DE FITASE POR FUNGOS

De acordo com Lelis *et al.* (2009) as primeiras produções da enzima fitase a partir de bioprocessos de extração em fungos, fora com a espécie *Aspergillus ficum*, para adição em dietas de frangos de corte, e obtiveram resultados eficazes sobre a hidrólise do ácido fítico em fontes de fosfato inorgânico que poderia ser melhor absorvido e biodisponizado por essas aves.

Para o preparo do inóculo, Guimarães *et al.* (2017) menciona o cultivo da espécie fúngica selecionada em meio de cultura BDA (Ágar batata dextrose), por sete dias em incubação na estufa de B.O.D (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a 28-30°C, para produção de esporos dos fungos filamentosos.

Pesquisas tem sido realizadas, e cada vez mais abordando a eficácia do uso dos fungos filamentosos (**Figura 02**) para síntese de fitase, entre outras enzimas, tendo uma extração mais vantajosa, simples e com um menor custo, visando sua utilização em escala industrial .

**Figura 02:** Cultivos de fungos filamentosos crescidos em meio de cultura BDA. *Trichoderma orientale* (A e B), *Trichoderma konigiopsis* (C) e *Trichoderma longibrachiatum* (D e E) para extração de bioprodutos fúngicos.



Fonte: Própria (2024).

Com isso, Guimarães *et al.* (2017) aborda sobre os diferentes meios de cultivos que podem ser utilizados para o crescimento e desenvolvimento fúngico, sendo estes a fermentação em meio líquido (FS), em estado sólido (FES) e também a fermentação extrativa (FE). Ademais, Greiner *et al.*, (2009) informa que dentre as alternativas de meio de cultivo fungico, a de maior escolha devido a custos econômicos inferiores para produção e pela possibilidade de reutilizar resíduos agroindustriais orgânicos, e cascas de leguminosas, como casca de mandioca, e farelos de grãos, como arroz e milho, é o meio de fermentação em estado sólido. Estes autores também

afirmam que o método de fermentação em estado sólido apresenta menores taxas de risco de contaminação microbiológica.

Para a FES, o uso de resíduos e co-produtos agroindustriais como por exemplo: casca de mandioca é uma opção, desidratados como substrato para crescimento fungico, devem ser triturados e padronizados em partículas determinadas, sobretudo com o uso de tamizes (**Figura 03**), outro fator importante para a FES é o percentual de umidade utilizada no processo fermentativo que favorece ainda mais o cultivo fungico, a grande maioria prefere um percentual entre 30- 40% (Pereira, 2015).

**Figura 03:** Exemplo de padronização e separação de casca e entrecasca de resíduo agroindustrial, passada o mesmo por tamizes com granulometria determinada, com o objetivo de serem utilizadas como substratos em fermentações em estado sólido.



**Fonte:** Própria (2024).

Pereira (2015) relata ainda que podem ser associados outros substratos ricos em ácido fítico para a produção da fitase sem ser a casca de mandioca, um bastante utilizado é o farelo ou casca de arroz. A escolha por um resíduo rico no substrato que poderá incentivar a produção da enzima elevando assim as concentrações de fitase fúngica sintetizada pelos fungos é de total importância.

Guimarães *et al.* (2017) aborda a metodologia também mais eficaz para a produção de fitases tem sido a FES (**Figura 04**) e que o processo fermentativo pode variar de 24 à 144 horas, e temperatura de 28-30° C, dependendo do gênero fungico.

**Figura 04:** Fermentação em estado sólido realizada em erlenmerys utilizando residuos agroindustriais como substratos para o crescimento fúngico.



**Fonte:** Própria (2024).

A produção de enzimas microbianas pode ser obtida também utilizando a FS. De acordo com Khanna *et al.* (1995) a utilização deste método é amplamente utilizada devido à sua eficiência em controlar os parâmetros de cultivo e à facilidade de escalonamento industrial. Segundo Silveira (2017) a FS é a técnica preconizada para síntese e extração de fitase por microrganismos específicos como algumas bactérias e fungos leveduriformes, enquanto a FES se faz a mais indicada pra produção de fitase por fungos filamntosos. No processo de FS, os microrganismos são cultivados em um meio líquido rico em nutrientes e fontes simples de carbono, como glicose e maltose, onde a fitase é secretada diretamente no meio de cultivo (Silveira, 2017).

De acordo com Rigo *et al.* (2021), as vantagens da FS em comparação com a FES estão relacionadas aos processos adicionais que a FES ainda requer, como o escalonamento adequado para a purificação dos produtos finais e da biomassa. Na FES, o substrato possui um pH relativamente alto (entre 7,5 e 8,1), o que pode limitar o crescimento de fungos, que geralmente se desenvolvem melhor em ambientes ácidos. Em contraste, a FS permite um controle mais preciso do pH e de outros parâmetros de cultivo, facilitando a produção eficiente de enzimas como a fitase.

Para Bogar *et al.* (2003), os fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus ficuum* produzem maiores quantidades de enzimas através do método de fermentação submersa. Nascimento *et al.* (2022), a partir da utilização do *Aspergillus niger* URM4924, obtiveram resultados que demonstraram a possibilidade de produção da enzima fitase com elevados valores de atividade enzimática quando utilizada a FS. Ao considerar qual método de fermentação é necessário sempre selecionar o mais adequado para suas necessidades específicas, garantindo eficiência e viabilidade econômica.

## **DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA FITASE E PURIFICAÇÃO**

Uma das metodologias utilizadas para a determinação da atividade enzimática da fitase produzida após o período de fermentação é a descrita por Heinonen e Lahti (1981) que descrevem a reação pela liberação de fósforo inorgânico liberado mediante o método do molibdato de amônio modificado. A metodologia se inicia pela adição de 50µl do extrato bruto enzimático a 350µl substrato de tampão acetato de sódio (0.2M, pH 4.8) diluído em fitato de sódio (875nmol). Posteriormente é feita a incubação da solução a 37° C por 10 minutos, com a finalidade de dosar a concentração de fosfato inorgânico liberado em catálise, mediante a medição da absorbância em espectrofotometro após 10 minutos de reação, em um comprimento de onda de 355 nanômetros.

Outro método utilizado foi proposto por Spier *et al.* (2010), com modificações, também com a utilização do molibdato de amônio, consiste na utilização de solução tampão de acetato de sódio (350 µL, 100 mM, pH 4,5) contendo fitato de sódio (875 nmol) e utilizado como substrato. É realizada a pré-incubação a 37°C por 10 min, e depois é feita a reação enzimática pela adição de extrato enzimático (50 µL). A solução é homogeneizada e incubada por 30 min a 37°C e 1,5 mL de solução composta por molibdato de amônio 10 mM: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5N: adicionado acetona (1:1:2 v/v) e ácido cítrico 1 M (100 mL). Neste método, a liberação de fósforo inorgânico é determinada em uma absorbância de 355 nm. Uma unidade de fitase é definida como a quantidade de enzima que libera 1 nmol de fósforo inorgânico por minuto sob condições de teste. A atividade enzimática é expressa em unidades por grama de substrato seco.

No método descrito e modificado por Greiner e Farouk (2007), o ensaio enzimático foi realizado a 50°C em 350 µL de tampão citrato de sódio 100 mM (pH 3,0) contendo 875 nmol de fitato de sódio. A reação enzimática é iniciada adicionando 50 µL de solução enzimática à mistura de ensaio. Depois incubando a 50°C por 15 min. Em seguida, 1,5 mL de preparado fresco de solução de acetona/5 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/10 mM molibdato de amônio (2:1:1 v/v) e 100 µL 1,0. O fósforo inorgânico liberado é determinado em uma absorbância de 355 nm.

Shimzu (1992) descreve que a atividade enzimática é realizada utilizando 150 µL de solução enzimática misturados com 600 µL de Tris-HCl 0,1 M (pH 7,0) suplementado com 2 mM de fitato de sódio e 2 mM de CaCl<sub>2</sub>, e incubadas a 37°C durante 30 min. A reação é interrompida pela adição de 750 µL de ácido tricloroacético ácido tricloroacético a 5%, após isso, adicionados 1,5 µL do reagente de cor para gerar fosfomolibdato. A concentração de ortofosfato inorgânico (Pi) nesta mistura é determinada colorimetricamente medindo a absorbância da solução a 700 nm, utilizando um espectrofotômetro Beckman Coulter DU640 (Fullerton, CA, EUA). O reagente de cor é preparado fresco, misturando 4 volumes de solução de molibdato de amônio a 1,5% (p/v) suplementado com ácido sulfúrico a 5,5% (v/v) e 1

volume de solução de sulfato ferroso a 2,7% (p/v). Os resultados são sendo comparados com uma curva-padrão preparada com  $K_2HPO_4$  como fonte de fosfato inorgânico em concentrações que variam de 0,0448 a 2,8706  $\mu M$ .

Os estudos de purificação das fitases são normalmente realizados com o objetivo de eliminar os componentes contaminantes ou inibidores presentes no extrato bruto. Tanto as enzimas no extrato bruto, purificadas ou imobilizadas provenientes de várias fontes microbianas são caracterizadas, através das metodologias realizadas por Shimu (1992) e Golovan *et al.* (2000). Como por exemplo Nagashima *et al.* (1999) que purificou uma fitase de *A. niger* SK-57 em quatro etapas: utilizando cromatografia de troca iônica (dois tipos), filtração em gel e cromatografia de exclusão molecular.

Para o uso direto em rações animais, as enzimas que são extraídas e purificadas passam por um processo chamado liofilização, para serem transformadas em pó e serem mais fáceis de incorporadas a ração animal. Esse processo visa também estabilizar os produtos ao reduzir a atividade da água, através das etapas: congelamento, sublimação, secagem a vácuo e por fim armazenamento do produto (Garcia, 2009). Esta técnica permite obter produtos desidratados de alta qualidade, que se comparam favoravelmente aos produtos obtidos por outros métodos. A liofilização é indiscutivelmente um dos métodos mais eficientes e eficazes de desidratação (Silva *et al.*, 2019).

## **RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE NO BRASIL**

As rações para frango de corte, no Brasil, apresentam em sua composição ingredientes a base de milho, farelo de soja, trigo ou sorgo (Lelis *et al.*, 2009), visando suprir as exigências energéticas e proteicas, para melhor desenvolvimento produtivo do animal. Segundo Freitas (2016) cerca de 50 a 80% de todo o fósforo presente na maioria dos alimentos de origem vegetal, se encontra na forma de ácido fítico, ou seu respectivo sal, o fitato. O autor ainda considera que a primordial funcionalidade do ácido fítico é para fonte energética e desenvolvimento de sementes, ao passo que a estrutura molecular do fitato une e armazena moléculas de fósforo. Nas rações, o  $IP_6$  se complexa a outros minerais como magnésio, cálcio e potássio e encontra-se predominantemente nos ingredientes: milho, farelo de arroz, sorgo, farelo de soja e trigo (**Figura 06**).

**Figura 06:** Ocorrências das formas de fósforo encontrados nos ingredientes utilizados na dieta de frangos de corte.

| <b>Ingrediente</b>    | <b>%P Total</b> | <b>%P Fítico</b> | <b>%P Disponível<sup>1</sup></b> | <b>%P Disp:P Total</b> |
|-----------------------|-----------------|------------------|----------------------------------|------------------------|
| Farelo de arroz       | 1,67            | 1,43             | 0,24                             | 14,37                  |
| Milho grão            | 0,25            | 0,19             | 0,06                             | 24,00                  |
| Farelo de soja (45%)  | 0,56            | 0,34             | 0,22                             | 39,28                  |
| Soja integral tostada | 0,52            | 0,33             | 0,19                             | 36,54                  |
| Sorgo                 | 0,26            | 0,18             | 0,08                             | 30,77                  |
| Farelo de trigo       | 0,97            | 0,64             | 0,33                             | 34,02                  |

**Fonte:** Freitas (2016).

A adição enzimática de fitase nas rações das aves, visa a melhora na digestibilidade e uma maior disponibilidade de certos nutrientes, principalmente o fósforo, nitrogênio, cálcio, cobre e zinco, conseqüentemente diminuindo sua presença nas fezes e reduzindo o potencial poluente desses minerais em excesso no solo e meio ambiente (Lelis et al., 2009).

Batista (2014) alerta sobre a maior preocupação ser devido ao fósforo presente nos ingredientes vegetais, que por estar ligado ao ácido fítico na forma de fitato é pouco disponível aos animais monogástricos, e ainda acarreta em uma menor absorção de outros nutrientes fundamentais da ração dos frangos de corte, como proteínas, carboidratos e lipídeos pela formação de complexos insolúveis.

Nas últimas décadas, pesquisas foram realizadas com o objetivo de reduzir o tempo necessário para o abate dos frangos de corte. Atualmente, é possível produzir 1 kg de carne de frango em apenas 25 dias, com uma conversão alimentar de 1,6, consoante a Lelis *et al.* (2009). Ainda de acordo com esses autores, a biotecnologia tem desempenhado um papel fundamental no desenvolvimento de diversas técnicas para extração de fitases provenientes de numerosas espécies de microrganismos fúngicos, para degradar diferentes formas de fósforo, e assim formular novas rações mais eficientes que otimizem a digestibilidade e absorção dos nutrientes no trato digestivo, acarretando em um melhor desempenho zootécnico.

## **FATORES ANTINUTRICIONAIS DA DIETA DE FRANGOS**

Os fatores antinutricionais são elementos comuns presentes nas matérias-primas utilizadas nas formulações de rações, como o ácido fítico presente na parede celular de grãos e leguminosas. Esses componentes têm impacto negativo na conversão alimentar, afetando o crescimento e desenvolvimento das aves, ocasionam desequilíbrios hormonais e eventualmente lesões em órgãos. Quando esses fatores estão em forma solúvel (fitato), aumentam a viscosidade do conteúdo digestivo, interferindo na motilidade digestiva e prejudicando a absorção de nutrientes, e reduzindo consideravelmente rendimentos na produção avícola. A adição de enzimas específicas, como a fitase, para a degradação dessas frações de

polissacarídeos nas dietas pode melhorar a qualidade nutricional da dieta e reduzir o impacto ambiental dos resíduos minerais excretados em excesso pelas fezes quando não absorvidos pelo organismo animal (Lelis *et al.*, 2009).

Freitas (2016) sugere o fitato como um importante fator antinutricional, devido aos animais monogátricos não deterem de uma concentração significativa de fitase intestinal capaz de catabolizar o ácido fítico e seu sal correspondente, o fitato. Outrossim, os grupamentos fosfatos do fitato se comportam como fortes agentes quelantes de íons metálicos como cálcio, magnésio, cobalto, manganês e zinco, impedindo suas respectivas absorções pelo trato gastrointestinal dos frangos.

Ademais, além dessa interação com minerais essenciais formando sais complexos insolúveis, o fitato reduz a digestibilidade de proteínas, carboidratos e lipídeos, formando complexos menos solúveis e mais resistentes à proteólise (Maga, 1982). Esta diminuição no aproveitamento de nutrientes pode acarretar em diminuição do crescimento, menor potencial produtivo, hipoglicemia e dano à tecidos (Cowieson *et al.*, 2006).

## **SUPLEMENTAÇÃO COM FITASE À DIETA DE FRANGOS DE CORTE**

Pesquisas atuais têm apresentado resultados positivos na digestibilidade de nutrientes e conseqüentemente, resultados significativos quanto ao desempenho produtivo de aves alimentadas com rações à base de milho e soja suplementadas com enzimas exógenas (Ravindran *et al.*, 1999).

A fitase é considerada um pró-nutriente, facilita a liberação de fosfatos inorgânicos a partir do mio-inositol. A atividade desta enzima é quantificada em UFT (unidades formadoras de fitase) ou U/kg, o que indica a quantidade de enzima necessária para liberar um micromol de fósforo inorgânico por minuto a partir de substratos contendo fitato de sódio, em condições de 37°C e pH 5,5 (Lelis *et al.*, 2009).

Em um estudo de digestibilidade com dietas semipurificadas, Ravindran *et al.* (1999) relataram uma melhoria significativa na digestibilidade ileal de proteínas e aminoácidos em diversos ingredientes devido à adição de fitase. Os ingredientes com baixa digestibilidade ileal natural mostraram melhores resultados com a inclusão de fitase, segundo os autores. As respostas à suplementação de fitase sugerem não apenas uma maior porcentagem de fósforo biodisponível, como também influencia as características químicas e estruturais dos complexos formados entre fitato e proteínas, os quais dificilmente são catabolizados e absorvidos.

Sebastian *et al.* (1996) relataram uma melhoria na digestibilidade de proteínas e aminoácidos entre 1,8% e 4,3% com a adição de fitase fúngica. Ademais, os autores esclarecem

que o fitato (ácido fítico) presente nos alimentos inibe algumas enzimas digestivas, em contrapartida, uma suplementação com fitase cataboliza o complexo do fósforo fítico, reduzindo essa inibição e aumentando a digestibilidade. Resultados semelhantes foram obtidos por Tejedor *et al.* (2001), que adicionaram 600 UFT/kg de fitase em dietas com baixo teor de fósforo, observando um aumento de 12,4% na digestibilidade aparente de fósforo em frangos machos de 21 dias. Além disso, a suplementação com fitase aumentou o teor de fósforo em 0,65% e de cálcio em 1,4% na tíbia de frangos, e elevou o peso corporal das aves em 13,2% para machos e 5,8% para fêmeas. Tejedor *et al.* (2001) também notaram que a adição de fitase elevou a taxa de conversão alimentar (+3,0%), elucidando o melhoramento do ganho de peso em frangos de corte entre 10 e 24 dias de idade.

Contudo, Teixeira *et al.* (2013) observou em seus experimentos que as dietas sem suplementação de fitase, ou com adição inferior à 1.000 UFT/kg, os teores de fósforo disponíveis não influenciaram as taxas de conversão alimentar e ganho de peso dos frangos. Os autores relataram significância na conversão alimentar apenas quando na ração contendo 0,3% de fósforo disponível fora suplementada com 1.500 UFT/kg.

Também foi descrito resultados positivos quando ao uso suplementado da fitase à dieta de frangos de corte por Viveiros *et al.* (2002), no qual o estudo relatou que a inclusão de 500 UFT/kg à dieta, aumentou em 10,1% a retenção de fósforo e elevou em 6,3% o ganho de peso dos frangos durante um período de 6 semanas. Contudo, também foi observado uma maior retenção de Cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), e zinco ( $\text{Zn}^+$ ), aumentando em 15, 23 e 93,6% respectivamente. Resultados similares em frangos também foram obtidos por Ahmad *et al.* (2000).

A inclusão de fitase em dietas carentes em minerais promove o fortalecimento da estrutura óssea em aves, pois aumenta a disponibilidade e absorção de elementos estruturais como o fósforo e cálcio, o que impacta positivamente no desempenho produtivo, ao passo que um desenvolvimento muscular adequado requer um suporte ósseo sólido. Nesse sentido, a mineralização e a resistência óssea, especialmente nos ossos das pernas como tíbia, fêmur e metatarso, são indicadores da eficácia dessa enzima em quebrar o fitato em dietas com deficiência de fósforo e outros minerais (Santos *et al.*, 2005). Para Meister (2001), baseado na mineralização óssea de frangos de corte de sua pesquisa, a adição de fitase em uma dieta com baixos níveis de fósforo à base de milho, ampliou em 22,5% a biodisponibilidade de fosforo.

Suplementação de fitase nas concentrações de 750 e 1.500 UFT/kg em dietas com alto nível de fitato em sua composição foi eficaz em aumentar o coeficiente de digestibilidade aparente de matéria seca, proteína bruta e energia bruta, além de melhorar os índices de ganho

de peso, em comparação a dietas que não continham essa complementação enzimática, segundo Barrilli *et al.* (2023).

Para Freitas (2016) a adição de 1.500 UFT/kg na ração dos frangos proporcionou uma otimização do aproveitamento e biodisponibilidade de diversos minerais, entre eles o fósforo, cálcio, magnésio e zinco. Diminuindo assim, a quantidade de minerais inorgânicos que deveriam ser suplementados à dieta e reduzindo, conseqüentemente, os custos de alimentação na produção de frangos de corte.

## **METODOLOGIA**

O referido trabalho consistiu em um estudo retrospectivo de revisão bibliográfica, de extração fungica de fitase e suas benesses comprovadas para a nutrição de frangos de corte. Foi selecionado artigos de pesquisa e de revisão, consultados por bases de dados disponíveis e gratuitas nas plataformas: *Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações – BDTD*, *Scientific Electronic Library Online* – *ScieELO*, e *Elsevier*. Foram utilizados trabalhos obtidos a partir da busca com os descritores em português como “Extração fitase fúngica”, “Fitase frangos de corte”; “Fungos produtores fitase”, “Fitase nutrição animal”, além de seus respectivos termos em inglês: "Extraction of Fungal Phytase", "Phytase for Broiler Chickens", "Phytase-Producing Fungi", "Phytase in Animal Nutrition". Selecionaram-se os estudos que abordavam com descrição e detalhes a respeito das metodologias empregadas para cultivo, extração e determinação de unidades de fitase com maior eficácia e de modo abrangente dos últimos 50 anos, de modo a contribuir com as pesquisas e avanços com a biotecnologia de bioprodutos enzimáticos de origem fúngica e otimização de formulações de rações animais para frangos de corte. Foram identificados e inclusos 43 estudos de domínio científico de relevância do período de 1970 até o ano de 2024.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Observa-se que as 5 espécies fúngicas de *Aspergillus*, apresentaram capacidade fitásica máxima distintas, contudo Moreira *et al.* (2014) relataram que a linhagem de *Aspergillus japonicus* demonstrou uma significância maior com uma atividade enzimática de 174 UFT por grama de substrato (**Tabela 01**). O experimento conduzido pelo autor determinou que as condições ideais para essa produção eficaz de fitase pelo *A. japonicus*, fora o cultivo em FES com umidade inicial de 40% do substrato de fibra de mandioca, por 96 horas na temperatura de 26°C.

**Tabela 01:** Condições de cultivo em meio de Fermentação em estado sólido para diversas espécies de fungos filamentosos e suas respectivas capacidades de máxima produção de fitase segundo a literatura.

| Referência                   | Fungo                           | Substrato         | Temperatura (°C) | pH  | Umidade inicial (%) | Tempo (h) | Atividade enzimática (U/g) |
|------------------------------|---------------------------------|-------------------|------------------|-----|---------------------|-----------|----------------------------|
| Gupta <i>et al.</i> (2014)   | <i>Aspergillus niger</i>        | Farelo de Trigo   | 30               | 4,5 | 66                  | 120       | 112,1                      |
| Lima <i>et al.</i> (2014)    | <i>Aspergillus niger</i>        | Farelo de Arroz   | 30               | *   | 75                  | 36        | 41,1                       |
| Guimarães (2017)             | <i>Aspergillus awamori</i>      | Coquinho Azedo    | 30               | *   | 70                  | 24        | 0,031                      |
| Guimarães (2017)             | <i>Aspergillus awamori</i>      | Casca de maracujá | 30               | *   | 70                  | 24        | 0,084                      |
| Bogar <i>et al.</i> (2003)   | <i>Aspergillus ficuum</i>       | Farelo de Trigo   | 26               | 5   | 60                  | 96        | 15,29                      |
| Bogar <i>et al.</i> (2003)   | <i>Aspergillus ficuum</i>       | Farelo de Soja    | 26               | 5   | 60                  | 96        | 7,18                       |
| Moreira <i>et al.</i> (2014) | <i>Aspergillus japonicus</i>    | Fibra mandioca    | 26               | 6,5 | 40                  | 96        | 174,00                     |
| Lima <i>et al.</i> (2014)    | <i>Aspergillus oryzae</i>       | Farelo de Arroz   | 30               | *   | 75                  | 96        | 36,9                       |
| Bogar <i>et al.</i> (2003)   | <i>Mucor racemosus</i>          | Farelo de Trigo   | 26               | 5   | 75                  | 72        | 7,91                       |
| Bogar <i>et al.</i> (2003)   | <i>Mucor racemosus</i>          | Farinha de canola | 26               | 5   | 70                  | 72        | 5,78                       |
| Bogar <i>et al.</i> (2003)   | <i>Rhizopus oligosporus</i>     | Farelo de Trigo   | 26               | 5   | 70                  | 72        | 0,71                       |
| Bogar <i>et al.</i> (2003)   | <i>Rhizopus oligosporus</i>     | Farinha de canola | 26               | 5   | 60                  | 72        | 6,31                       |
| Awad <i>et al.</i> (2014)    | <i>Penicillium purpurogenum</i> | Farelo de milho   | 27               | 8   | 66                  | 120       | 444,00                     |
| Chadha <i>et al.</i> (2004)  | <i>Rhizomucor pusillus</i>      | Farelo de Trigo   | 50               | 6   | 66                  | 48        | 7,05                       |

\* Não informado pelo autor; U/g – Unidade por grama de substrato

**Fonte:** Silveira (2017) modificada.

O *Penicillium purpurogenum* foi a espécie que apresentou a maior atividade enzimática de fitase em cultivo de Fermentação em estado sólido (FES). Awad *et al.* (2014) relatou que com o uso de farelo de milho e espiga de milho como substrato, umidade inicial do meio de cultivo em 66%, e uma fermentação em pH alcalino (8,0) com temperatura de 26°C por um tempo de 120 horas, o *P. purpurogenum* conseguiu produzir 444 unidades de fitase por grama de substrato no meio (UFT/g) (**Tabela 01**).

Ademais outro método de cultivo para crescimento de fungos e síntese de bioprodutos enzimáticos de interesse na nutrição de animais monogátricos é a Fermentação Submersa (FSm). Utilizando apenas 2% de massa de substrato de farelo de centeio em função do líquido

total do meio, em condições de 30°C por 72h, o fungo *Rhizopus microsporus* fora o que apresentou a maior atividade fitásica em comparação com as demais espécies fúngicas estudadas, produzindo 11,2 U/ml de fitase. Seguido pelo *Aspergillus niger*, que sintetizou 8,09 U/ml com o substrato de farelo de arroz combinado com farelo de milho na FSm (**Tabela 02**).

**Tabela 02:** Atividade fitásica de fungos em meio de cultivo de Fermentação submersa (FSm) em condições de 30°C por 72h.

| Fungo                        | Substrato               | Fitase (U/ml) |
|------------------------------|-------------------------|---------------|
| <i>Aspergillus niger</i>     | Farelo de arroz e milho | 8,09          |
| <i>A. niger</i>              | Farelo de centeio 2%    | 5,12          |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | Farelo de centeio 2%    | 4,99          |
| <i>Aspergillus flavus</i>    | Farelo de centeio 2%    | 2,74          |
| <i>Aspergillus niveus</i>    | Farelo de centeio 2%    | 7,26          |
| <i>Paecilomyces variotii</i> | Farelo de centeio 2%    | 7,53          |
| <i>Rhizopus microsporus</i>  | Farelo de centeio 2%    | 11,2          |
| <i>Trichoderma harzianum</i> | Farelo de centeio 2%    | 5,32          |

Fonte: Sato (2015) modificada

É notório que a suplementação enzimática com diferentes concentrações de fitase na dieta de frangos de corte alavanca a aptidão zootécnica desses animais monogástricos. Enquanto alimentação com 0 UFT/kg de fitase adicionada apresentam um Índice de Eficiência Produtiva (IEP) de 257,55 quando suplementadas com 4.000 UFT/kg foi possível visualizar o aumento desse índice produtivo das aves para 278,16 (**Tabela 03**). Além disso a média de ganho de peso desses animais de corte é amplificada quando a dieta é suplementada com fitase fúngica, tendo em vista que ao fornecer apenas a ração, a média de peso dessas aves nas marcas de 21, 35 e 42 dias são respectivamente 737, 1797 e 2395 gramas, contudo quando a ração passa a ser suplementada com fitase na concentração de 750 UFT/kg o ganho de peso dos frangos passou a ser de 792, 1917 e 2562 gramas (**Tabela 04**).

**Tabela 03:** Índice de eficiência produtiva de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, submetidos a dietas com fósforo disponível reduzido, suplementadas com diferentes dosagens de fitase.

| Fitase (UFT/kg) | Índice Eficiência Produtiva (IEP) |
|-----------------|-----------------------------------|
| 0               | 257,55                            |
| 1.000           | 258,35                            |
| 2.000           | 259,31                            |

|       |        |
|-------|--------|
| 3.000 | 265,36 |
| 4.000 | 278,16 |

UFT -Unidade formadora de Fitase

**Fonte:** Viveiros *et al.* (2002) modificado.

**Tabela 04:** Média de ganho de peso de frangos de corte de 21, 35 e 42 dias com e sem suplementação de fitase na dieta.

| <b>Ganho de peso médio (g)</b> |                |                |                |
|--------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>UFT/kg</b>                  | <b>21 dias</b> | <b>35 dias</b> | <b>42 dias</b> |
| 0                              | 737            | 1797           | 2395           |
| 750                            | 792            | 1917           | 2562           |
| 1500                           | 775            | 1909           | 2551           |

UFT -Unidade formadora de Fitase

**Fonte:** Barrilli *et al.* (2023) modificado.

A adição de 500 UFT/kg na dieta de frangos de corte mostrou que reduziu em 18,63% a necessidade de acrescentar fonte de fósforo inorgânico para ser biodisponibilizado. Caiu em 48,65% os índices de excessão de fósforo nas fezes dessas aves, consequentemente diminuindo a contaminação e excesso desse mineral nos solos e ambientes aquáticos. Outrossim com a suplementação de 500 U/kg de fitase mostrou que a porcentagem de fósforo retido e biodisponível para os frangos de corte aumentou significativamente de 49,61% para 69,17% (**Tabela 05**).

**Tabela 05:** Balanço de fósforo em frangos de corte alimentados com rações suplementadas com diferentes concentrações de fitase.

|                                       | <b>Fitase (UFT/kg)</b> |            |            |
|---------------------------------------|------------------------|------------|------------|
|                                       | <b>0</b>               | <b>250</b> | <b>500</b> |
| <b>Fósforo ingerido (mg/ave/dia)</b>  | 569,6                  | 486,6      | 463,5      |
| <b>Fósforo excretado (mg/ave/dia)</b> | 293,3                  | 247,85     | 142,69     |
| <b>Fósforo retido (mg/ave/dia)</b>    | 276,3                  | 238,77     | 311,87     |
| <b>Fósforo retido (%)</b>             | 49,61                  | 49,65      | 69,17      |

**Fonte:** Lelis *et al* (2009) modificado.

## CONCLUSÕES

A revisão de literatura realizada permitiu encontrar e observar que o uso adicional de concentrações ideais da enzima fitase à dieta de frangos de corte, comprova resultados significativos no aumento do índice de digestibilidade tanto de minerais essenciais, como também na melhora da absorção intestinal dos demais nutrientes da alimentação. Outrossim, é

notório observar uma potencialização do ganho de peso, qualidade de carcaça, e potencial produtivo, com a diminuição dos impactos ambientais e contaminação do solo por exacerbação de minerais como fósforo e nitrogênio nas fezes dessas aves. Como relatado pelos trabalhos encontrados, os fungos apresentam uma elevada produção da enzima fitase através de processos fermentativos, sobretudo utilizando co-produtos e resíduos agroindustriais como substratos de baixo custo. Dessa forma, a fitase quando adicionada nas rações para frangos de corte visa uma otimização na pecuária avícola brasileira com formulações de rações com fitase sintetizada a partir resíduos acessíveis, e com a redução da contaminação de solos pela diminuição de minerais nas fezes destes animais, atendendo as necessidades também dos agricultores locais.

## REFERÊNCIAS

- ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, n. 10, p. 3189-3218, 2011.
- AHMAD, T.; RASOOL, S.; SARWAR, M.; et. al. Effect of microbial phytase produced from fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 83, p. 103-114, 2000.
- AWAD, G. E. A. *et al.* Optimization of phytase production by *Penicillium purpurogenum* GE1 under solid state fermentation by using Box-Behnken design. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 21, p. 81-88, 2014.
- BARRILLI, L.N.E. *et al.* Phytase in diets with different phytate concentrations for broilers. **Ciência Rural**, v. 53, p. e20210831, 2023.
- BATISTA, A.F.. **Fitase em dietas para frangos de corte-melhor desempenho e sustentabilidade para a produção animal**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em medicina Veterinária) – Universidade estadual Paulista, Araçatuba, p.27, 2014.
- BOGAR, B.; SZAKACS, G.; LINDEN, J.C.; PANDEY, A. *et al.* Optimization of phytase production by solid substrate fermentation. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v.30, p.183-189, 2003.
- CHADHA, B. S. *et al.* Phytase production by the thermophilic fungus *Rhizomucor pusillus*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 20, p. 105-109, 2004
- COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Carbohydrases, protease, and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, p. 1860–1867, 2005.
- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R.; Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science**. v.85, n.5, p.878-85, 2006.
- DONATO, A.; MAIA, T.F.; FRAGA, M.E. **BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS PRODUTORES DE FITASE**. RAPP, v. 21, 2013.

FIREMAN, A.K.B.A.T.; FIREMAN, F.A.T. Fitase na alimentação de poedeiras. **Ciência Rural**, v. 28, p. 529-534, 1998.

FREITAS, H.B. **Fitase em dieta de frangos de corte**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 48 folhas, 2016.

GERHARTZ, W. Enzymes in industry: production and applications. New York: **VHC Publishers**, pp. 321, 1990.

GOLOVAN, S., WANG, G.R., ZHANG, J., FORSBERG, C.W., 2000. Characterization and overproduction of the *Escherichia coli* appA encoded bifunctional enzyme that exhibits both phytase and acid phosphatase activities. **Canadian Journal of Microbiology**, v.46, n.1, pp. 59-71.

GREINER, R.; FAROUK A.E. Purification and characterization of a bacterial phytase whose properties make it exceptionally useful as a feed supplement. **The Protein Journal**, v.26, pp. 467-474, 2007

GREINER, R.; SILVA, L.G.; COURI, S. Purification and characterisation of an extracellular phytase from *Aspergillus niger* 11T53A9. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, p. 795-807, 2009.

GUIMARÃES, A.D.B. *et al.* Produção de fitase por fermentação em estado sólido utilizando resíduos de frutas e *Aspergillus awamori*. **Simpósio de Engenharia de Alimentos da UFMG-SIMEALI**, 2017.

GUPTA, R. K. *et al.* Isolation of thermotolerant phytase producing fungi and optimisation of phytase production by *Aspergillus niger* NRF9 in solid state fermentation using response surface methodology. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 19, p. 996-1004, 2014.

HEINONEN J. K.; LAHTI R.J. A new and convenient colorimetric determination of inorganic orthophosphate and its application to assay of inorganic pyrophosphatase. **Analytical Biochemistry**, v.113, p. 313-317, 1981.

KHANNA, P.; SUNDARI, S. S.; KUMAR, N. J. Production, isolation and partial purification of xylanases from an *Aspergillus* sp. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 11, n. 2, p. 242-243, 1995.

KONIETZNY, U.; GREINER, R.; JANY, K.D. Purification and characterization of a phytase from oat spelt. **Journal of Food Biochemistry**, v.18, p.165-183, 1995.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

LELIS, G. R.; ALBINO, L. F. T.; TAVERNARI, F. C.; ROSTAGNO, H. S. **Suplementação dietética de fitase em dietas para frangos de corte**. Revista Eletrônica Nutritime, v. 6, n.2, p. 875-889, março/abril, 2009.

LIMA, M.B. *et al.* **Produção de fitase por fermentação em estado sólido utilizando farelo de arroz e *Aspergillus niger* e *Aspergillus oryzae***. XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. 2014.

MAGA, J.A. Phytate: its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.30, p.1-9, 1982.

MEISTER, N.C. **Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em milho, sorgo e triticale, sem e com a adição de fitase microbiana à dieta.** 2001. 81 f. Dissertação de Mestrado em Nutrição Animal – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

MOREIRA, K. A. *et al.* Optimization of phytase production by *Aspergillus japonicus* Saito URM 5633 using cassava bast as substrate in solid state fermentation. **African Journal of Microbiology Research**, v. 8, p. 929-938, 2014.

NAGASHIMA, T., TANGE, T., ANAZAWA, H. Dephosphorylation of phytate by using the *Aspergillus niger* phytase with a high an anity for phytate. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n.10, p. 4682 - 4684, 1999.

NASCIMENTO, J. C. *et al.* Efeito do pH e da temperatura na produção de fitase e biomassa por fermentação submersa com *Aspergillus niger var. phoenicis* URM 4924. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 6, p. e41311628994, 2022.

PEREIRA, S.I.M.. Avaliação de substratos locais para produção de *Trichoderma harzianum* para uso em controle biológico. In: **IV Congresso de Iniciação Científica do INPA-CONIC**. p.11-15, 2015.

RAVINDRAN, V.; CABAHUG, S.; RAVINDRAN, G.; *et al.* Influence of microbial pitase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broiler. **Poultry Science**, 78. p. 699-706, 1999.

RIGO, D. *et al.* Microbiological Production of Enzymes: A Review. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 9232–9254, 2021.

SATO, V.S. **Produção de fitase por *Rhizopus microsporus var. microsporus*: Purificação, Caracterização Bioquímica e Aplicação.** Tese (Doutorado) - Programa de Pósgraduação em Biotecnologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2015.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S.P.; CHAVEZ, E.R. *et al.* The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, cooper and zinc in broilers chickens fed corn-soybean diets. **Poultry Science.**, Champaign, v.75, n.6, p.729-736, 1996.

SERAFINI, N. C. **Fitase e fontes minerais para frangos de corte.** Dissertação (Tese Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p.66, 2018.

SHIMIZU, M. Purification and characterization of Phytase from *Bacillus subtilis* (natto) N-77. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 56, p. 1266–1269, 1992.

SILVEIRA, L. A. **Produção de fitase por fungos endofíticos dos manguezais do Estado de São Paulo.** Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, p.63, 2017.

SPIER, M. R. *et al.* Monitoring fermentation parameters during phytase production in column-type bioreactor using a new data acquisition system. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 33, p.1033-1041, 2010.

STEFANELLO, C. **Utilização de mix de enzimas exógenas na alimentação de frangos de corte.** Tese (Doutorado) – Programa de PósGraduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 135 f, 2016.

TEIXEIRA, E. N. M. *et al.* Suplementação da fitase em rações com diferentes níveis de fósforo disponível para frangos de corte. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, p. 390-397, 2013.

TEJEDOR, A. A.; ALBINO, A. L. F. T.; ROSTAGNO, H. S. *et al.* Efeito da adição da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira Zootecnia.**, Viçosa, v.30, n.3, p.802-808, 2001.

TREMEA, F. T.; SILVA, A. C. O setor avícola no Brasil e sua distribuição regional. **Economia & Região**, v.8, n.1, p.183–200, 2020.

VIVEIROS, A. *et.al.* Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**. Champaign, v.81, n.8, p.1172-1183, 2002.