

SANDRA CAROLINA SALGUERO CRUZ

**EQUIVALÊNCIA EM FÓSFORO DISPONÍVEL DA FITASE USANDO
DIFERENTES METODOLOGIAS COM FRANGOS DE CORTE E SUÍNOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2013

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S164e
2013

Salguero Cruz, Sandra Carolina, 1979-

Equivalência em fósforo disponível da fitase usando diferentes metodologias com frangos de corte e suínos / Sandra Carolina Salguero Cruz. – Viçosa, MG, 2013.
xvii, 79f. : il. ; 29cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Horacio Santiago Rostagno

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Fósforo na nutrição animal. 2. Frangos de corte - Alimentação e rações. 3. Suíno - Alimentação e rações. 4. Frangos de corte - Registros de desempenho. 5. Suíno - Registro de desempenho. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. II. Título.

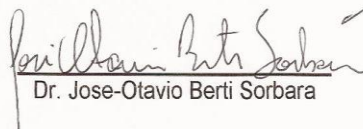
CDD 22. ed. 636.0852


SANDRA CAROLINA SALGUERO CRUZ

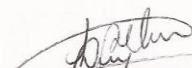
**EQUIVALÊNCIA EM FÓSFORO DISPONÍVEL DA FITASE USANDO
DIFERENTES METODOLOGIAS COM FRANGOS DE CORTE E SUÍNOS**

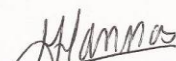
Tese apresentada à Universidade Federal de
Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós Graduação em Zootecnia,
para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*

APROVADA: 20 DE FEVEREIRO DE 2013


Dr. Jose-Otavio Berti Sorbara


Dr. Ramalho Barbosa Rodrigues


Luiz Fernando Teixeira Albino
(Coorientador)


Melíssa Izabel Hannas
(Coorientadora)


Horacio Santiago Rostagno
Orientador

Agradeço tudo aquilo que está na minha vida até neste momento, incluindo até as dores. A nossa compreensão do universo ainda é muito pequena, para julgarmos o que quer que seja da nossa vida."

Eu acredito que a imaginação é mais forte que o conhecimento, os mitos são mais potentes que a história, os sonhos são mais poderosos que os fatos, a esperança triunfa sempre sobre a experiência, o riso é a cura para o sofrimento, o amor é mais forte que a morte.

O mundo está nas mãos daqueles que têm a coragem de sonhar e correr o risco de viver seus sonhos

(Paulo Coelho)

*Durante toda minha vida,
muitas pessoas passaram por mim,
dia após dia.*

*Mas somente algumas dessas pessoas,
ficarão para sempre em minha memória.*

*Essas pessoas são ditas amigas,
e as levarei para sempre em meu coração,
às vezes pelo simples fato de terem
cruzado meu caminho,
às vezes pelo simples fato de terem dito
uma única palavra de conforto quando eu precisei.
Às vezes por ter me dado um minuto de sua atenção,
e me ouvido falar de minhas angústias,
medos, vitórias, derrotas...*

*Às vezes por terem confiado em mim,
e me contado também seus problemas,
angústias, vitórias, derrotas...
Isso é ser amigo: é ouvir, é confiar, é amar.
E amigos de verdade,
ficam para sempre em nossos corações,
assim como as pegadas na alma, que são indestrutíveis.*

*A vocês meus amigos:
Sua amizade para mim tem um valor enorme,
e nada que eu possa dizer a vocês,
pode ser tão especial ou mais significativo
do que sua amizade para mim*

MUITO OBRIGADA!!

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é fruto de muito esforço e dedicação. Somente aqueles que acompanharam e participaram podem imaginar o grau de satisfação. É impossível deixar de compartilhar tal alegria com pessoas que foram tão importantes no percurso deste caminhar.

À Universidade Federal de Viçosa, especialmente ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Horacio Rostagno não existem palavras para agradecer por estes anos, pelos valiosos ensinamentos, pela orientação, pelo estímulo, pelos conselhos, pela confiança e, sobretudo pela amizade. O senhor mudou a minha vida, e me mostrou um mundo de possibilidades, muito obrigada!!!!

Ao professor Luiz Fernando Teixeira Albino, muito obrigada pela orientação, pelos conselhos, pela amizade e pelo acompanhamento durante estes anos.

À professora Melissa Izabel Hannas, obrigada pelos conselhos, pelo estímulo, pela amizade e sobretudo pelas xícaras de café na sua sala que fizeram a conversa ainda mais agradável!!! Obrigada.

Aos membros da banca examinadora, Drs. Jose Otávio Sorbara e Ramalho Jose Barbosa Rodrigueiro, pelas valiosas sugestões.

A meus Pais Fernando Salguero e Celmira Cruz, obrigada pela paciência, por sempre esperar o melhor de mim, por acompanhar cada triunfo e cada tropeço, por suas orações e seu apoio incondicional, por fazer-me acreditar que não existem sonhos impossíveis e que si acreditamos e trabalhamos

conseguimos qualquer coisa, não tenho palavras para expressar todo o amor que sinto por vocês os adoro.

A meus irmãos Andréa, Marcela, Viviana, Mayerly e Fernando Andrés e aos meus sobrinhos Arien, Juanito e Nicolas obrigada pelo apoio, pela paciência e por sempre esperar o melhor de mim.

A minha tia Janeth por estar sempre ao meu lado acompanhando-me e torcendo para que meus sonhos se realizem.

Ao Raul por seu apoio incondicional principalmente nas épocas difíceis, por permanecer sempre ao meu lado, temos passado muitos momentos juntos e as palavras são curtas para agradecer pela amizade e pelo carinho.

Aos funcionários do Setor de Suinocultura da UFV, Francisco Ilário (“Chico”), Francisco Ferreira (“Marreco”), Raimundo, Sebastião (“Tião”) e Vítor, pelo apoio e pela amizade, e ao funcionário José Alberto “Dedeco”, pela dedicação, pela presteza e pelo apoio, fundamental na realização deste trabalho.

Aos funcionários do Setor de Avicultura da UFV, em especial a Adriano, Elísio, José Lino e Mauro Godoi, pela colaboração e amizade.

Aos meus irmãos adotivos Valdir, Rodolfo, Thony, Juninho, Bruno, Gabriel, Diego Lescano, Diego Ladeira, Neto, Rodrigo, Vitor e Leandro pela amizade, carinho, vocês são fundamentais na minha vida obrigada pelo apoio, pelos conselhos, por sempre escutar-me e acompanhar meus triunfos e tropeços.

Aos meus irmãos da capoeira CDO-Viçosa Contramestres Vitinho e Duas, a Fernandinha, Vermelho, Feres, André, Baiana, Doug, Corel e Pio muito obrigada pelo carinho por ensinar-me que a vida é como uma roda de capoeira e si você cai na vida não deve se envergonhar, pois só quem caiu um dia aprendeu a levantar.

A Rosana, Clivia e Danielle muitíssimo obrigada, pelo apoio, por fazer-me acreditar nas pessoas e em mim, por sempre me dar a mão durante as dificuldades porque o mundo é muito melhor quando se tem amigas como vocês. Não existem palavras para expressar todo o meu agradecimento, sempre estarão no meu coração.

BIOGRAFIA

Sandra Carolina Salguero Cruz, filha de Fernando Salguero Sandoval e Celmira Cruz, nasceu em Ibagué – Colômbia, em 8 de novembro de 1979.

Em Agosto de 1998, inicio seu curso de graduação em Medicina Veterinária e Zootecnia, na Universidade do Tolima (Ibagué), concluindo-o em março de 2005.

Trabalhou na Universidade do Tolima, como assistente de pesquisa na área de nutrição. Em março de 2007, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia na UFV, em nível de Mestrado, na área de Nutrição de Monogástricos, submetendo-se á defesa de tese em 16 de Fevereiro de 2009.

Em março de 2009 iniciou o curso de Doutorado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, concluindo-o em fevereiro de 2013.

SUMARIO

Lista de Tabelas	ix
Lista de Gráficos	xi
Resumo	xii
Abstract	xv
Introdução Geral	1
Referencias Bibliográficas	5
Artigo 1 – Equivalência em Fósforo Disponível da Fitase Usando Diferentes Metodologias com Frangos de Corte	8
Resumo	9
Introdução	10
Material e Métodos	12
Resultados e Discussão	17
Conclusão	32
Referencias Bibliográficas	33
Artigo 2 - Equivalência em Fósforo Disponível da Fitase Usando Diferentes Metodologias com Suínos em Crescimento	38
Resumo	39
Introdução	40
Material e Métodos	43
Resultados e Discussão	47
Conclusão	62
Referencias Bibliográficas	62
Conclusão Geral	67
Apêndice	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das Dietas Experimentais para Frangos Corte no período de 1 a 7 dias	14
Tabela 2 - Conteúdo de Fósforo e de Cálcio Total dos Ingredientes Usados nas Rações Experimentais para Frangos de Corte no Período de 7 a 21 dias (na matéria natural)	15
Tabela 3 - Parâmetros de desempenho, características ósseas, digestibilidade ileal aparente e balanço do P de frangos de corte de 7 a 21 dias alimentados com diferentes níveis de fósforo disponível e de fitase	18
Tabela 4 - Valores equivalentes do P disponível da fitase Rhonozyme Hiphos para parâmetros de desempenho, características ósseas, digestibilidade ileal aparente e balanço de P utilizando a metodologia da curva padrão	24
Tabela 5 - Valores equivalentes do P disponível da fitase Rhonozyme Hiphos para parâmetros de desempenho, características ósseas, digestibilidade ileal aparente e balanço de P através de equações lineares	26
Tabela 6 - Valores equivalentes do P disponível da fitase Rhonozyme Hiphos para parâmetros de desempenho, características ósseas, digestibilidade ileal aparente e balanço de P através de equações quadráticas	28
Tabela 7 - Valores médios das metodologias utilizadas na obtenção dos dados de equivalência do P disp (%) da fitase Ronozyme HiPhos para frangos de corte de 8 a 21 dias.	30
Tabela 8 - Composição das dietas experimentais para suínos na fase inicial de crescimento (na matéria natural)	44
Tabela 9 - Conteúdo de fósforo e cálcio total dos ingredientes usados nas rações experimentais para suínos na fase inicial (na matéria natural).	46
Tabela 10 - Parâmetros de desempenho, características ósseas e de digestibilidade do fósforo de suínos alimentados com diferentes níveis de Pdisp e de fitase	48
Tabela 11 - Valores equivalentes do Pdisp da fitase Rhonozyme Hiphos para parâmetros de desempenho, características ósseas e de digestibilidade utilizando a metodologia da curva padrão	54

Tabela 12 - Valores equivalentes do Pdisp da fitase Rhonozyme Hiphos para parâmetros de desempenho, características ósseas e de digestibilidade igualando duas equações lineares	56
Tabela 13 - Valores médios das metodologias utilizadas na obtenção dos dados de equivalência do Pdisp (%) da fitase Ronozyme HiPhos para suínos	58

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** - Equação Logarítmica (Ln) dos valores médios estimados de equivalência do P disponível (Pdisp) para a fitase Rhonozyme Hiphos, utilizando a metodologia da curva padrão para frangos de corte 25
- Gráfico 2** - Equação Logarítmica (Ln) dos valores médios estimados de equivalência do P disponível (Pdisp) para a fitase Rhonozyme Hiphos, através de equações lineares para frangos de corte 27
- Gráfico 3** - Equação Logarítmica (Ln) dos valores médios estimados de equivalência do P disponível (Pdisp) para a fitase Rhonozyme Hiphos, através de equações quadráticas para frangos de corte 29
- Gráfico 4** - Equação Logarítmica (Ln) dos valores médios estimados de equivalência do Pdisp (%) para a fitase Rhonozyme Hiphos para frangos de corte 30
- Gráfico 5** - Equação Logarítmica (Ln) dos valores médios estimados de equivalência do Pdisp para a fitase Rhonozyme Hiphos, utilizando a metodologia da curva padrão para suínos em crescimento 55
- Gráfico 6** - Equação Logarítmica (Ln) dos valores médios estimados de equivalência do Pdisp para a fitase Rhonozyme Hiphos, através de duas equações lineares para suínos em crescimento 57
- Gráfico 7** - Equação Logarítmica (Ln) dos valores médios estimados de equivalência do Pdisp para a fitase Rhonozyme Hiphos, através da metodologia da curva padrão e de equações lineares para suíno em crescimento 58

RESUMO

SALGUERO CRUZ, Sandra Carolina, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2013. **Equivalência em Fósforo Disponível da Fitase Usando Diferentes Metodologias com Frangos de Corte e Suínos.** Orientador: Horacio Santiago Rostagno. Coorientadores: Luiz Fernando Teixeira Albino e Melissa Izabel Hannas.

Foram conduzidos dois experimentos para determinar o fósforo equivalente de uma fitase de origem bacteriana expressa em *Aspergillus oryzae* em dietas à base de milho e de farelo de soja, com diferentes níveis de fósforo disponível (Pdisp) sobre o desempenho, as características ósseas, a digestibilidade aparente e o balanço de fósforo em frangos de corte e suínos em crescimento avaliados com diferentes metodologias. No primeiro experimento foram utilizados 560 frangos de corte machos de 7 dias de idade alojados em gaiolas de metabolismo, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo sete tratamentos, oito repetições e 10 aves por unidade experimental. Foi utilizada uma ração basal a qual atendia as recomendações para pintos de corte na fase inicial (8 a 21 dias) exceto para Pdisp e cálcio total (CaT) (0,17% e 0,9% respectivamente), utilizando-se o fosfato bicálcico (FB), como fonte de fósforo inorgânico. Para compor os tratamentos 2, 3 e 4 foram adicionados 0,06; 0,12 e 0,18% de Pdisp do FB e para compor os tratamentos 5, 6 e 7 foram adicionadas 500, 1000 e 2000 FYT de uma fitase microbiana expressa em *Aspergillus oryzae* (Ronozyme Hiphos). A cada ração experimental foi adicionado 1% de Cinza ácido insolúvel (CAI) (Celite). O período experimental foi de 14 dias onde foram avaliados os parâmetros de ganho de peso, de consumo de ração e de conversão alimentar. No período do 16^o até 20^o dia experimental foi realizada coleta total de excreta e no 21^o dia todas as aves foram abatidas para a retirada da tíbia e do conteúdo ileal. Os dados experimentais foram submetidos a análise de variância, as médias dos parâmetros avaliados foram utilizados para a obtenção de uma curva padrão e de equações lineares e quadráticas para o cálculo da equivalência do Pdisp. O ganho de peso, a conversão alimentar e

a digestibilidade ileal aparente tiveram efeito linear e quadrático ($P < 0,01$) com o aumento nos níveis de Pdisp do FB e de fitase. No entanto não foi observado efeito significativo no consumo de ração. As características ósseas peso da tibia (g), cinza (g e %) e fósforo (P) (g e mg) apresentaram aumento linear ($P < 0,01$) com os níveis crescentes Pdisp e de fitase. No entanto, observou-se efeito quadrático no P (mg e %) com o aumento nos níveis de fitase. O balanço de P apresentou aumento linear com os níveis crescentes de Pdisp e de fitase a exceção do consumo de ração. Os valores de equivalência do fósforo pelo método da curva padrão são: 0,107; 0,131 e 0,155% de Pdisp, pelo método de equações lineares são: 0,0625; 0,1155 e 0,1686% de Pdisp e pelo método de equações quadráticas são: 0,0996; 0,1191 e 0,1386% de Pdisp. Os valores médios de equivalência do fósforo utilizando os diferentes métodos são: 0,090; 0,122 e 0,154% de P disponível para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente para a fitase Ronozyme HiPhos. No segundo experimento foram utilizados 144 suínos machos castrados de peso médio aproximado de $18 \pm 0,84$ kg distribuídos em um delineamento experimental em blocos, sendo 6 tratamentos com 8 repetições e 3 animais por unidade experimental. Os tratamentos consistiram de uma ração basal (T1) a base em milho e farelo de soja, baixa em Pdisp (0,157%), os tratamentos T2 e T3 foram compostos pela adição de 0,1 e 0,2% de Pdisp do fosfato bicálcico, para os tratamentos T4, T5 e T6 foram adicionadas 500, 1000 e 2000 FYT de fitase bacteriana expressa em *Aspergillus oryzae* (Ronozyme HiPhos), a cada tratamento foi adicionado 1% de cinza ácido insolúvel (CAI) utilizada como indicador fecal. O período experimental foi de 21 dias e foram avaliados o ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar. No período de 16 ao 20 dia foi realizada coleta parcial de fezes para avaliação da digestibilidade aparente do P, no dia 21 foi abatido um animal por gaiola para obtenção do metatarso e assim avaliar a deposição de cinza (g e %) e de fósforo (mg e %) nos ossos. Os dados experimentais foram submetidos a análise de variância, as médias dos parâmetros avaliados foram utilizados para a obtenção de uma curva padrão, e de equações lineares para o cálculo da equivalência do P disp. O ganho de peso e a conversão alimentar apresentaram aumento linear

($P < 0,01$) com os níveis crescentes de Pdisp do FB e de fitase. No entanto não foi observado efeito significativo no consumo de ração. As características ósseas peso do metatarso (g), cinza (g e %) e P (g e mg) apresentaram aumento linear ($P < 0,01$) com os níveis crescentes de P disp. Foi observado efeito quadrático ($P < 0,01$) com o aumento nos níveis de fitase a exceção da deposição de P, % no metatarso. Foi verificado efeito linear ($P < 0,01$) e quadrático ($P < 0,01$) na digestibilidade aparente do P ao fornecimento de Pdisp e de fitase. Os valores de equivalência do fósforo obtido pelo método da curva padrão foram: 0,066; 0,123 e 0,181% de P disponível para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente, para o método das equações lineares: 0,060; 0,123 e 0,188% de P disponível para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente para a fitase. Os valores médios de equivalência do fósforo pelo método da curva padrão e de equações lineares são: 0,064; 0,126 e 0,187% de Pdisp para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente para a fitase Ronozyme HiPhos.

ABSTRACT

SALGUERO CRUZ, Sandra Carolina, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, february, 2013. **Equivalence in Available Phosphorus from Phytase Using Different Methods with Broilers and Swine.** Adviser: Horacio Santiago Rostagno. Co-Advisers: Luiz Fernando Teixeira Albino and Melissa Izabel Hannas.

Two experiments were conducted to determine the phosphorus equivalent of a bacterial phytase expressed in *Aspergillus oryzae* in the diet Based on corn and soybean meal with different levels of available phosphorus (Pav) on performance, bone characteristics, digestibility apparent and phosphorus balance in broilers and pigs assessed with different methodologies. In the first experiment was used 560 male broiler chicks from 7 days of age housed in metabolism cages were distributed in a completely randomized design, with seven treatments, eight replicates of 10 birds each. A basal diet was used to achieve the recommendations for broiler chicks in the early phase (8-21 days) except for Pav and total calcium (CaT) (0.17% and 0.9% respectively), using phosphate dicalcium (FB) as a source of inorganic phosphorus. To compose the treatments 2, 3 and 4 were added 0.06, 0.12 and 0.18% of Pav from FB in the treatments 5, 6 and 7 was supplied 500, 1000 and 2000 FYT of a microbial phytase expressed in *Aspergillus oryzae*. Each experimental diet was added 1% Acid Insoluble Ash (AIA) (Celite). The experimental period was 14 days where were evaluated the weight gain, feed intake and feed conversion. In the period from the 16 to 20 days was collected the total excreta and 21 day all birds were slaughtered for the withdrawal of the tibia and ileal content. The experimental data were subjected to analysis of variance, the averages of the parameters were used to create a standard curve, linear and quadratic equations to know the equivalence of Pav. Weight gain, feed conversion and apparent ileal digestibility had a linear and quadratic effect ($P < 0.01$) when increased the levels of FB Pav and phytase. However was not observed significant achievement in feed intake. The tibia bone weight (g), ash (g%) and phosphorus (P) (mg g) showed a linear effect ($P < 0.01$) with increasing levels

of phytase and Pav. However, there was a quadratic effect, P (mg and%) with increasing levels of phytase. The balance of P showed linear effect when increased the levels of phytase. The equivalency values match the standard curve method were: 0.107, 0.131 and 0.155% of Pav by the method of linear equations were: 0.0625, 0.1155 and 0.1686% of Pav and the method of quadratic equations were: 0.0996, 0.1191 and 0.1386% of Pav. The average values of equivalency of phosphorus using the different methods were: 0.090, 0.122 and 0.154% P available for 500, 1000 and 2000 FYT respectively for phytase Ronozyme HiPhos. The second experiment was used 144 barrows with average weight of 18 ± 0.84 kg allocated in a randomized complete block, with 6 treatments and 3 replicates of 8 barrows each. The basal diet (T1) based on corn and soybean meal and low in Pav (0.157%), the T2 and T3 were made up by adding 0.1 and 0.2% of Pav from Dicalcium Phosphate respectively. The T4, T5 and T6 were supplied 500, 1000 and 2000 FYT phytase expressed in bacterial *Aspergillus oryzae* (RonozymeHiPhos). Each treatment was used 1% of ash insoluble acidic as faecal indicator. The experiment lasted 21 days and was evaluated weight gain, feed intake and feed conversion. In the period 16-20 day was done the partial collection of faeces to evaluate the apparent digestibility of P, and on day 21 was shot down by an animal cage for obtaining metatarsal and thus assess the deposition of ash (g, %) and phosphorus (mg and %). The experimental data was subjected to analysis of variance, the averages of the parameters were used to obtain a standard curve, and linear equations for calculating the equivalence of Pav. Weight gain and feed conversion increased linearly ($P < 0.01$) with increasing levels of FB from Pav and phytase. However we did not observe significant achievement in feed intake. The characteristics of the metatarsal bone weight (g), ash (g, %) and P (g, mg) showed a linear effect ($P < 0.01$) with increasing levels of Pav. Also a quadratic effect ($P < 0.01$) was showed when the levels of phytase increased the exception of P%. Linear effect was observed ($P < 0.01$) and quadratic ($P < 0.01$) apparent digestibility of P in the supply of Pav and phytase. The equivalency values of phosphorus by the method of the standard curve were 0.066, 0.123 and 0.181% P available for 500, 1000 and 2000 FYT

respectively, also for the method of linear equations: 0.060, 0.123 and 0.188% P available for 500, 1000 and 2000 FYT phytase respectively. The average values of equivalency of phosphorus by the method of the standard curve and linear equations are: 0.064, 0.126 and 0.187% of P_{av} 500, 1000 and 2000 FYT respectively for phytase Ronozyme HiPhos.

INTRODUÇÃO GERAL

O fósforo (P), assim como o nitrogênio e o potássio são minerais essenciais para as plantas e são adicionados no solo sob a forma de adubo para melhorar seu rendimento. As plantas incorporam o P na forma de ácido fítico, o qual é indisponível para os monogástricos. O ácido fítico (*myo*-inositol hexafosfato) esta presente nos grãos e sementes na forma de sal, geralmente complexado ao Ca, Mg ou K e em alguns casos ligado a proteínas e açúcares. Os sais de fitato, algumas vezes chamadas de fitina é a principal fonte de armazenagem de fosfatos, *myo*-inositol e cátions durante a germinação da semente (Selle et al., 2000).

O ácido fítico é uma molécula que contem a média de 28,2% de P sendo a principal forma de estoque de fósforo nas sementes (Angel et al., 2002). O ácido fítico tem 12 prótons substituíveis ou sítios reativos. Seis (6) prótons são fortemente ácidos com um pK de 1,5 a 2,0; dois são ácidos mais fracos com um pK de aproximadamente 6,0 e quatro (4) protons são ácidos muito fracos com um pk de 9,0 a 11,0. Esta forma é normalmente encontrada em um pH neutro nos alimentos de origem vegetal, mais em pH ácido pode carregar uma forte carga negativa sendo capaz de ligar cátions di e trivalentes em ordem de potencia $Zn^{2+} \gg Fe^{2+} > Mn^{2+} > Fe^{3+} > Ca^{2+} > Mg^{+2}$ em um complexo muito estável reduzindo a disponibilidade destes minerais assim como o fósforo para o animal. Apesar do fato de que o complexo IP6-Ca tem baixa estabilidade a diferença de outros complexos, o Ca dietético tem o papel mais critico na diminuição na eficácia tanto da fitase endógena como na exógena (Kornegay, 2001).

Em geral a proporção de P-fítico varia de 60 a 80% do fósforo total encontrado nos alimentos de origem vegetal e sua concentração depende da planta de onde foi derivado (Augspurger e Uglade, 2009). A aleurona é o maior sitio de deposição de fitato de muitos cereais enquanto que nas sementes dicotiledonas incluindo legumes, o fitato esta distribuído no núcleo, nas inclusões celulares chamadas globóides (Sing, 2008). Uma dieta típica para monogástricos a base de milho e farelo de soja pode conter aproximadamente $2,5 \text{ g/kg}^{-1}$ de P-fítico (ou $8,9 \text{ g/kg}^{-1}$ de ácido fítico) sendo valores variaveis (Selle et al., 2003). A concentração do fitato nas plantas depende do estagio de

maturidade, grau de processamento, cultivar, fatores climáticos, localização e ano no qual a planta cresceu (Manangui e Coon, 2006).

O P é o micromineral mais oneroso nas rações para monogástricos devido aos custos derivados de sua extração, ao aumento na demanda do P inorgânico por parte dos sistemas agrícolas e pecuários. Segundo Cordell et al., (2009) é esperada uma produção máxima de P inorgânico em 2030, fazendo necessário buscar alternativas que possam diminuir a suplementação de P nas rações. Devido ao P fítico não ser digerido por frangos e suínos este é excretado ao ambiente trazendo problemas de eutrofização das águas diminuindo assim a sua qualidade.

As fitases representam um subgrupo de fosfatases capazes de iniciar a desfosforilação do fitato. Estas enzimas são capazes de hidrolisar um ou mais grupos fosfato do IP6, produzindo uma série de pequenos ésteres fosfóricos. A União Internacional de Bioquímica tem classificado as fitases em dois grupos: fitase-3 (EC 3.1.3.8) e fitase-6- (EC 3.1.3.26), dependendo da posição no anel do IP6 onde é iniciada a desfosforilação. As fitases 3, iniciam a degradação do fitato na posição 3 do anel de inositol produzindo D-myoinositol 1, 2, 4, 5 pentaxisfosfato e ortofosfato. Em contraste as fitases 6 iniciam a degradação do fitato na posição 6 do myoinositol hexaquifosfato para 1-L-myoinositol 1, 2, 3, 4, 5 pentaxisfosfato e ortofosfato (Onyango et al., 2004).

O sítio de atividade da fitase no trato gastrointestinal é maior no pré-estômago (papo, proventrículo e moela) no caso das aves e no estômago nos suínos, onde o pH é mais adequado para a atividade da fitase. O papo é provavelmente o sítio primário de degradação pela fitase. Entanto Onyango et al., (2004) comparando a atividade de duas fontes de fitase (*Escherichia coli* e *Peniphora lycii*), evidenciou que a fitase da *E.coli* era mais ativa no intestino delgado conferindo uma grande resistência às enzimas proteolíticas frente á fitase da *P. lycii*.

Ravindran et al., (1999), sugere que o fitato além de ser um fator antinutricional que influencia a digestibilidade do fósforo também tem a capacidade de influenciar a secreção e dinâmica absorptiva do trato gastrointestinal. Cowieson et al., (2004), demonstrou que a ingestão de ácido fítico pode influenciar negativamente a absorção dos aminoácidos, energia e minerais em frangos. Os mecanismos pelos quais o fitato e a fitase alteram a

fisiologia absorptiva e secretória não estão completamente esclarecidos mais é relatado que a natureza reativa do fitato e a agregação eletrostática da proteína na fase da digestão podem estar envolvidas (Cowieson et al., 2009).

As diferentes respostas encontradas na literatura á suplementação de fitase traz evidencia que níveis de nutrientes específicos, concentração e fonte do fitato e da proteína na dieta, e a taxa de inclusão da fitase, níveis de cálcio e fósforo, aditivos, 1,25-dihidroxicolecalciferol e 25-hidroxicolecalciferol entre outros podem influenciar tal resposta (Singh, 2008). O autor sugere que as concentrações de Ca podem afetar o alcance na formação do complexo terciário proteína-fitato. O excesso de Ca pode levar á formação do complexo fitato-Ca o qual é insolúvel e pobremente digerido o que também pode reduzir a digestibilidade da proteína.

Segundo Selle et al., (2007) o P dietético influencia também a resposta das fitases visto que o P inorgânico produto final da hidrolise do fitato, inibe fortemente a atividade catalítica da fitase. Igualmente Lei e Stahl (2000) ressaltam que o aumento na liberação de P induzido pela fitase pode levar a um desequilíbrio Ca/P no trato gastrointestinal. Cowieson et al., (2004) e Selle et al., (2007) citaram que a alta inclusão de fitase pode alterar possivelmente o balanço eletrolítico por influenciar a secreção de sódio no lúmen intestinal afetando a absorção do P.

A quantidade de Ca que é encontrado no complexo fitato-mineral nas dietas para monogástricos é limitado pela baixa concentração deste mineral nos alimentos de origem vegetal comumente utilizados nas dietas. Segundo Powell et al., (2011) a suplementação de Ca na produção de monogástricos é elevada pois as fontes de cálcio inorgânico são baratas em comparação a outros minerais.

No entanto a formação do novo complexo Ca-fitato ao longo do trato gastrointestinal em suínos e frangos é mais relevante. A formação do complexo Ca-fitato influenciada pela relação molar dos seus constituintes e do pH no estômago reduz sua solubilidade e a degradação pelas fitases no trato gastrointestinal (Wise, 1983 citado por Selle et al., 2009). O pH é crucial na solubilidade do complexo Ca-fitato na digesta sobretudo quando o pH do estômago é ácido e do intestino delgado é aproximado á neutralidade.

Segundo Singh (2008), a retenção de Ca e P é sensível á adição de fitase á variação na relação Ca:P entre outros. A retenção de Ca aumenta linearmente com aumento nos níveis de suplementação de fitase, mais é diminuída à medida que a relação Ca:P torna-se mais ampla em resposta ao aumento no nível de P não fítico (Quian et al., 1996).

O aumento de Ca de 5,61 para 10,20 g/kg e sua relação de 1,1 para 2:1 diminuiu o ganho de peso de frangos com 21 dias de idade, no entanto a adição de 900 FTU de fitase melhorou o ganho de peso (Singh, 2008). No entanto o autor cita que uma maior relação Ca:P prejudica a digestão do fitato devido á formação de um complexo insolúvel penta-Ca-fitato no intestino o qual é resistente á ação da fitase.

Segundo Kornegay (1990) a diminuição na atividade da fitase a uma maior relação Ca:P pode ser explicada pelos seguintes fatores: a) A utilização do P-fítico em dietas a base de milho e soja utilizadas na alimentação de monogástricos é influenciada pelos níveis de Ca e P na dieta, b) O Ca liga-se ao fitato formando um complexo insolúvel diminuindo o acesso da fitase, c) O Ca extra pode diretamente deprimir a atividade da fitase pela competição dos sítios ativos da enzima. Os efeitos negativos de uma maior relação Ca:P é maior a baixos níveis de suplementação de fitase e aos baixos níveis de P-fítico ou P-inorgânico porque o baixo fósforo pode ser liberado como resultado da baixa atividade da fitase.

O calcário calcítico é conhecido por ter uma grande capacidade de ser ácido-quelante e pode aumentar o pH da digesta no intestino proximal. A adição de calcário como fonte de Ca em dietas para frangos tem apresentado aumento no pH do papo, o qual é o maior sitio de degradação da fitase. Dependendo de sua atividade no espectro, variações no pH podem diretamente influenciar a eficácia da fitase (Selle et al., 2007). Tal vez a elevação no pH do papo pode aumentar a formação do complexo fitato-mineral, incluindo Ca-fitato reduzindo a susceptibilidade do fitato á hidrolise (Maenz et al., 1999). Segundo Quian et al., (1996) é possível que o Ca seja inibidor da atividade da fitase. Applegate et al., (2003) mostrou que a adição de 9,0 g/kg de Ca pode reduzir a atividade da fitase na mucosa e a degradação ileal do fitato. Segundo Selle et al., (2007) o aumento nos níveis de Ca na dieta pode ter efeitos negativos no desempenho dos animais.

Vários autores têm sugerido que o colecalciferol (D₃) pode melhorar a absorção de P-fítico e cálcio por estimular a hidrólise do fitato. Quian et al., (1997) reportou que a adição de maiores níveis de vitamina D₃ melhorou a retenção de Ca e P o que foi atribuído á melhor utilização destes minerais do ácido fítico pela adição de vitamina D₃. Edwards (1993), observou que a adição de 5 ou 10 µg/kg de 1,25 (OH)₂D₃ aumentou a utilização do P-fítico de 30 a 80% com ou sem a adição de fitase. Mohammed et al. (1991) também reportou aumento na retenção de P pela adição de vitamina D₃ com ou sem a adição de fitase. Os valores observados por estes autores no aumento da utilização do P-fítico pela adição de vitamina D₃ é explicado por Edwards, (1993) quem reporta aumento da atividade da fitase endógena com a adição desta vitamina. No entanto a suplementação de maiores níveis de vitamina D₃ não apresenta aumento na atividade da fitase endógena intestinal em dietas com níveis adequados desta (Quian et al., 1997).

A utilização do P-fítico pode ser diminuída pela deficiência ou baixo consumo de vitamina D₃. Melhoras na utilização do P-fítico em resposta á suplementação de vitamina D₃ pode ser devida a três mecanismos: a) aumento na síntese ou atividade da fitase intestinal (Mitchell e Eduards, 1996), b) aumento na hidrólise do fitato (Mohammed et al., 1991) e c) aumento na absorção de Ca e P.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ANGEL, R. AND APPLGATE, T. Phytase Use – What Do We Know? **Proceedings of the 62nd Minnesota Nutrition Conference**, pp: 1-15. 2002

APPLGATE, T. J., ANGEL, R. AND CLASSEN, H. L. Effect Of Dietary Calcium, 25-Hydroxycholecalciferol, or Bird Strain on Small Intestinal Phytase Activity In Broiler Chickens. **Poultry Science**.82: 1140-1148. 2003

AUGSPURGER, N.R AND UGALDE, E. Comparative Phytase Utilization in Pigs and Broiler Chickens. **Congresso sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos**. CBNA. Campinas-SP. 2009

CORDELL, D; DRANGERT, J.O; WHITE, S. The Story of Phosphorus. Global Foods Security and Foods for Throught. **Global Environmental Change**. 19:292-305. 2009

COWIESON, A.J., ACAMOVIC, T. AND BEDFORD, M.R. The Effect of Phytase and Phytate on Endogenous Losses from Broiler Chickens. **British Poultry Science** 45: 101-108. 2004

COWIESON, A.J., BEDFORD, M.R., SELLE, P.H. AND RAVINDRAN, V. Phytate and Microbial Phytase: Implications for Endogenous Nitrogen Losses and Nutrient Availability. **World's Poultry Science Journal**, Vol. 65, Setember 2009.

COWIESON, A.J., WILCOCK, P. AND BEDFORD, M.R. Super-Dosing Effects of Phytase in Poultry and other Monogastrics. **World's Poultry Science Journal**, Vol. 67, June 2011.

EDWARDS, H. M., JR. Dietary 1,25 Dihydroxicholeclaciferol Supplementation Increases Natural Phytate Phosphorus Utilization in Chickens. **Journal of Nutrition**. 123:567-577. 1993

KORNEGAY, E.T AND QIAN, H. Digestion of Phosphorus and Other Nutrients: the Role of Phytases and Factors Influencing Their Activity. Pages 237-371 in **Enzimes in Farm Animal Nutrition**. M.R. BEDFORD AND G.C PARTRIDGE, Ed. CABI Publishing, Marlborough, UK. 2001

LEI, X.G., AND STAHL, C.H. Nutritional Benefits of Phytase and Dietary Determinants of Its Efficacy. **Journal Applied Animal Research** 17:97-112. 2000.

MANANGI, M.K. AND COON, C.K. Evaluation of Phytase Enzyme with Chicks Fed Basal Diets Containing Different Soyabean Meal Samples. **Journal of Applied Poultry Research** 15(2):292-306. 2006

MITCHELL, R.D. AND EDWARDS, H.M. Effect of Phytase and 1, 25-Dihydroxycholecalciferol on Phytate Utilization and the Quantitative Requirement for Calcium and Phosphorus in Young Broiler Chickens. **Poultry Science** 75: 95-110. 1996

MOHAMMED, A., GIBNEY, M.J. AND TAYLOR, T.G. The Effect of Dietary Levels of Inorganic Phosphorus, Calcium and Cholecalciferol on the Digestibility of Phytate Phosphorus by the Chick. **British Journal of Nutrition** 66: 251-259. 1991.

ONYANGO, E.M., ASEM, E.K., SANDS, J.S. AND ADEOLA, O. Dietary Phytates Increase Endogenous Losses in Ducks and Chickens. **Journal of Animal Science** 82 (Suppl.): 149-150. 2004.

POWELL, S., T.D. BIDNER AND L.L SOUTJER. Phytase Supplementation Improved Growth Performance and Bone Characteristics in Broilers Feed Varying Levels of Dietary Calcium. **Poultry Science**. 90:604-604. 2011.

QIAN, H., KORNEGAY, E.T. AND DENBOW, D.W. Phosphorus Equivalence of Microbial Phytase in Turkeys Diets as Influenced by Calcium to Phosphorus Ratios and Phosphorus Levels. **Poultry Science** 75: 69-81. 1996.

QIAN, H., E. T. KORNEGAY AND D. M. DENBOW. Utilization of Phytate Phosphorus and Calcium as Influenced by Microbial Phytase, Cholecalciferol, and the Calcium:Total Phosphorus Ratio in Broiler Diets. **Poultry Science**. 76:37-46. 1997.

RAVINDRAN, V., CABAHUG, S, RAVINDRAN, G. AND BRYDEN, W.L. Influence of Microbial Phytase on Apparent Ileal Amino Acid Digestibility of Feedstuffs for Broilers. **Poultry Science** 78: 699-706. 1999.

RAVINDRAN, V., CARBAHUG, S., RAVINDRAN, G., SELLE, P.H. AND BRYDEN, W.L. Response of Broiler Chickens to Microbial Phytase Supplementation as Influenced by Dietary Phytic Acid and Non-Phytate Phosphorous Levels. II. Effects on Apparent Metabolizable Energy, Nutrient Digestibility and Nutrient Retention. **British Poultry Science** 41: 193-200. 2000.

SELLE, P.H., RAVINDRAN, V., CALDWELL, R.A. AND BRYDEN, W.L. Phytate and Phytase: Consequences for Protein Utilization. **Nutrition Research and Review** 13: 255-278. 2000.

SELLE, P.H. AND RAVINDRAN, V. Microbial Phytase in Poultry Nutrition. **Animal Feed Science and Technology** 135: 1-41. 2007.

SELLE, P.H., COWIESON, A.J. AND RAVINDRAN, V. Consequences of Calcium Interactions with Phytate and Phytase for Poultry and Pigs. **Livestock Science** 124: 126-141. 2009.

SINGH, P.K. Significance of Phytic Acid and Supplemental Phytase in Chicken Nutrition: A Review. **World's Poultry Science Journal**, Vol. 64, December 2008.

ARTIGO 1

EQUIVALÊNCIA EM FÓSFORO DISPONÍVEL DA FITASE USANDO DIFERENTES METODOLOGIAS COM FRANGOS DE CORTE

EQUIVALÊNCIA EM FÓSFORO DISPONÍVEL DA FITASE USANDO DIFERENTES METODOLOGIAS COM FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Foram utilizados 560 frangos de corte machos de 7 dias de idade alojados em gaiolas de metabolismo, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com sete tratamentos, oito repetições e 10 aves por unidade experimental. Foi utilizada uma ração basal a qual atendia as recomendações para pintos de corte na fase inicial (8 a 21 dias) exceto para fósforo disponível (0,17% P_{disp}) e cálcio total (0,9% CaT), utilizando-se o fosfato bicálcico (FB), como fonte de fósforo inorgânico. Para compor os tratamentos 2, 3 e 4 foram adicionados 0,06; 0,12 e 0,18% de P_{disp} do FB e para compor os tratamentos 5, 6 e 7 foram adicionadas 500, 1000 e 2000 FYT da fitase microbiana expressa em *Aspergillus oryzae*. A cada ração experimental foi adicionado 1% de Cinza Ácida Insolúvel (CAI) (Celite) como indicador fecal para a determinação da digestibilidade aparente do P. O período experimental foi de 14 dias onde foram avaliados os parâmetros de ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. No período do 16^o até 20^o dia experimental foi realizada coleta total de excreta e no dia 21^o todas as aves foram abatidas para obtenção da tibia e do conteúdo ileal. Os dados experimentais foram submetidos a análise de variância, as médias dos parâmetros avaliados foram utilizados para a obtenção de uma curva padrão, e de equações lineares e quadráticas para o cálculo da equivalência do P_{disp}. O ganho de peso, a conversão alimentar e a digestibilidade ileal aparente apresentaram aumento linear e quadrático (P<0,01) com os níveis crescentes

de Pdisp do FB e de fitase. No entanto não foi observado efeito significativo no consumo de ração. As características ósseas peso da tíbia (g), cinza (g e %) e P (mg e %) apresentaram aumento linear ($P < 0,01$) com os níveis crescentes de Pdisp e de fitase. No entanto somente foi observado efeito quadrático no P (mg e %) com o aumento nos níveis de fitase. O balanço de P apresentou aumento linear com níveis crescentes de Pdisp e de fitase. Os valores de equivalência do fósforo obtidos pelo método da curva padrão são: 0,107; 0,131 e 0,155% de Pdisp, pelo método de equações lineares são: 0,0625; 0,1155 e 0,1686% de Pdisp, por médio do método de equações quadráticas são: 0,0996; 0,1191 e 0,1386% de Pdisp. Os valores médios de equivalência do fósforo obtidos pelos diferentes métodos são: 0,090; 0,122 e 0,154% de P disponível para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente para a fitase Ronozyme HiPhos.

Palavras Chave: Fósforo Disponível, Fitase, Fósforo Equivalente, Frangos

INTRODUÇÃO

O fósforo (P) assume caráter relevante na nutrição de aves, não somente pela sua essencialidade em funções metabólicas e estruturais para o desenvolvimento dos animais, mas também pela importância econômica nos custos com a alimentação sendo o terceiro nutriente mais oneroso nas rações para as aves (Augspurger e Ugalde, 2009), além de participar como potencial poluidor do ambiente através dos resíduos da produção.

O P é considerado elemento essencial para crescimento muscular, formação óssea, como componente dos ácidos nucleicos, fosfolípidios, atua como ativador de sistemas enzimáticos, auxilia na manutenção do balanço osmótico e equilíbrio ácido base e é chave no metabolismo da energia (ATP), proteína e aminoácidos (Coon et al., 2002).

O P na forma de fitato principal sítio de estoque das sementes, no entanto é considerado um fator antinutricional por complexar-se ao fósforo e a outros minerais, aminoácidos e amido, diminuindo assim sua disponibilidade para o

animal (Singh, 2008). Segundo Ravindran et al., (2000) o fitato tem a capacidade de diminuir a biodisponibilidade da proteína ligando-se aos aminoácidos principalmente os básicos formando complexos insolúveis e refratários á ação das enzimas digestivas.

Os ingredientes de origem vegetal usados normalmente na formulação de rações para aves possuem aproximadamente 5 – 25g/kg de fitato (Cowieson et al., 2010). O P que se encontra no fitato é a forma menos disponível para o animal porque a quantidade de fitase endógena é insuficiente para liberar o P que se encontra no fitato.

A quantidade de P fornecida pelos ingredientes de origem vegetal utilizado normalmente na formulação de rações para as aves não fornecem suficientes quantidades para atender suas exigências para manutenção e produção fazendo necessária a suplementação de fontes inorgânicas. Somado a isto, o aumento na demanda do P inorgânico por parte dos sistemas agrícolas e pecuários, assim como a expectativa de produção máxima em 2030, torna-se necessário buscar alternativas que possam diminuir a suplementação de P nas rações e conseqüentemente sua excreção ao meio ambiente (Cordell, et al., 2009).

Dentro das alternativas, a fitase têm recebido especial atenção devido a sua capacidade de quebrar a molécula de fitato, disponibilizando não somente o P, mas também outros nutrientes ligados ao fitato. No entanto, são encontradas na literatura respostas diferentes á suplementação de fitase fazendo evidentes aos múltiplos fatores que podem influenciar a sua resposta. Dentre eles estão a quantidade de fitase adicionada na ração, nível de fitato, conteúdo de Ca e P inorgânico, aditivos e vitamina D entre outros (Selle e Ravindran, 2008; Singh, 2008).

As fitases são capazes de hidrolisar um ou mais grupos fosfato do IP6, produzindo uma série de pequenos ésteres fosfóricos. A União Internacional de Bioquímica tem classificado as fitases em dois grupos, fitase-3 (EC 3.1.3.8) e fitase-6- (EC 3.1.3.26), dependendo da posição no anel do IP6 onde é iniciada a desfosforilação.

As fitases 3 produzidas geralmente de *Aspergillus ficum* ou *Aspergillus niger*, iniciam a degradação do fitato na posição 3 do anel de inositol produzindo D-myoinositol 1, 2, 4, 5, 6 pentaquifosfato e ortofosfato. Já a fitase

6 produzida geralmente de *Peniphora lycii* ou *Escherichia coli* iniciam a degradação do fitato na posição 6 do myoinositol hexaquifosfato para 1-L-myoinositol 1, 2, 3, 4, 5 pentaquifosfato e ortofosfato. Diferentes fontes de fitases diferem nas suas características como o pH ótimo, resistência à hidrólise no trato digestivo e termo estabilidade (Onyango et al., 2004).

Usualmente uma dieta para frangos de corte inicial (8 – 21 dias) com base em milho e farelo de soja sem considerar o fosfato bicálcico contem aproximadamente 0,348% de fósforo total (PT), 0,115% de fósforo disponível (Pdisp) e 0,233% de fósforo fítico (Pfit). A adição de 500 FTU de uma fitase comercial disponibiliza em media 0,1% de P do ácido fítico, possibilitando a redução de aproximadamente em 35% na suplementação de P inorgânico.

No entanto os dados observados na literatura acerca da eficácia das fitases são variáveis. Simons et al., (1990) verificaram que não há melhora no ganho de peso ou não consumo de ração com a adição de fitase em frangos de corte, igualmente Powell et al., (2008) citam que a suplementação de 600 unidades de fitase não afetaram os parâmetros produtivos em frangos na fase de crescimento. No entanto, Rutherford et al., (2012) citaram melhoras no ganho de peso e digestibilidade do P com a adição de 500 unidades de fitase. Igualmente Jednza et al., (2006) citaram melhoras no ganho de peso, conversão alimentar e deposição de cinza na tíbia com a adição de 250, 500, 750 e 1000 unidades de fitase em frangos de corte.

Singh, (2008) cita que a concentração e fonte de fitato e da proteína, nível de inclusão da fitase, níveis de cálcio e fósforo dietéticos, aditivos, vitamina D e seus metabólitos entre outros podem afetar esta resposta. Igualmente, Adeola e Applegate (2010) ressaltam que as interpretações dos resultados experimentais com o uso de fitases devem considerar: a) substrato e tipo de ingrediente; b) parâmetro avaliado; c) metodologia usada para a obtenção dos valores de equivalência; d) idade dos animais; e) tempo experimental entre outros.

Objetivou-se com este trabalho determinar o fósforo equivalente de uma fitase de origem bacteriana expressa em *Aspergillus oryzae* (Ronozyme HiPhos) em dietas á base de milho e de farelo de soja, com diferentes níveis de fósforo disponível, sobre o desempenho, as características ósseas, a digestibilidade ileal aparente e o balanço de fósforo em frangos de corte de 7 a

21 dias de idade utilizando diferentes metodologias.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, no período de 15 a 28 de novembro de 2009.

Aos 7 dias de idade as aves foram alojadas em círculo de proteção com cama de maravalha, com alimento e água a vontade, recebendo uma ração adequada para o período pré-inicial (24% proteína bruta), atendendo as recomendações segundo Rostagno et al. (2005), exceto para cálcio total (CaT) e fósforo disponível (Pdisp) (0,8 e 0,35% respectivamente).

Na fase experimental, foram usados 560 frangos de corte machos Cobb de 7 dias de idade com peso inicial e final de $268,4 \text{ g} \pm 0,07$ e $947,6 \text{ g} \pm 0,17$ respectivamente, alojados em gaiolas de metabolismo, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo sete tratamentos, oito repetições e 10 aves por unidade experimental (total de 80 aves/tratamento).

Foi utilizada uma ração basal a qual atendia as recomendações para pintos de corte na fase inicial (8 a 21 dias), segundo Rostagno et al. (2005), foram adicionados 2.000 UI de vitamina D para atender as exigências deste nutriente, o Pdisp e CaT foram ajustados no nível de 0,17% e 0,9% respectivamente, utilizando-se o fosfato bicálcico (FB), como fonte de fósforo inorgânico. Para compor os tratamentos 2, 3 e 4 foram adicionados 0,06; 0,12 e 0,18% de Pdisp do FB e para compor os tratamentos 5, 6 e 7 foram adicionadas 500, 1000 e 2000 FYT de uma fitase microbiana expressa em *Aspergillus oryzae*¹. Uma unidade de fitase é definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 μmol de fósforo inorgânico por minuto de 5,0 mM de fitato a um pH de 5,5 a 37°C . A cada ração experimental foi adicionado 1% de Cinza Acida Insolúvel (CAI) (Celite) como indicador fecal para a determinação da digestibilidade aparente do P. (Tabela 1).

O indicador fecal e a fitase foram adicionados em substituição ao amido.

Os tratamentos experimentais foram:

- T1 Ração Basal (0,17% Pdisp)
- T2 Ração Basal + 0,06 % de Pdisp do FB
- T3 Ração Basal + 0,12 % de Pdisp do FB
- T4 Ração Basal + 0,18 % de Pdisp do FB
- T5 Ração Basal + 500 FYT de Fitase
- T6 Ração Basal + 1000 FYT de Fitase
- T7 Ração Basal + 2000 FYT de Fitase

¹ RONOZYME HiPhos, DSM Nutritional Products

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais para frangos de corte no período de 7 a 21 dias.

<i>Ingredientes</i>	<i>Tratamentos</i>						
	<i>T1</i>	<i>T2</i>	<i>T3</i>	<i>T4</i>	<i>T5</i>	<i>T6</i>	<i>T7</i>
Milho Grão	54,63	54,63	54,63	54,63	54,63	54,63	54,63
Farelo Soja (45%)	38,10	38,10	38,10	38,10	38,10	38,10	38,10
Óleo de Soja	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60
Sal Comum	0,432	0,432	0,432	0,432	0,432	0,432	0,432
Suplemento Vitamínico ¹	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
Suplemento Mineral ²	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
DL-Metionina (99%)	0,305	0,305	0,305	0,305	0,305	0,305	0,305
L-Lisina HCl (79%)	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
L-Treonina (98%)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Cloreto Colina 60%	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Anticoccidiano	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055
Celite	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Sub-Total	97,512	97,512	97,512	97,512	97,512	97,512	97,512
Calcário Calcítico	1,795	1,586	1,376	1,166	1,795	1,795	1,795
Fosfato Bicálcico	0,293	0,617	0,941	1,266	0,293	0,293	0,293
Amido	0,40	0,285	0,171	0,056	0,399	0,398	0,396
Fitase	-	-	-	-	0,001 ³	0,002 ⁴	0,004 ⁵
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Composição Calculada							
EM, Kcal/Kg	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Proteína Bruta, %	22,3	22,3	22,3	22,3	22,3	22,3	22,3
Fósforo Total, %	0,39	0,45	0,51	0,57	0,39	0,39	0,39
Fósforo Disp., %	0,17	0,23	0,29	0,35	0,17	0,17	0,17
Cálcio Total, %	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
Composição Analisada							
Proteína Bruta, %	22,41	22,44	22,41	22,44	22,39	22,37	22,32
Fósforo Total, %	0,381	0,443	0,512	0,570	0,384	0,389	0,384
Cálcio Total, %	0,914	0,912	0,912	0,913	0,915	0,915	0,913

Cinza, %	7,16	7,19	6,95	6,90	7,07	7,03	7,01
----------	------	------	------	------	------	------	------

¹ Contendo por kg/ração: Vit. A - 10.000 UI; Vit. D3 - 2.000 UI; Vit E – 35 UI; Vit B1 – 1,5 mg; Vit B2 - 5,0 mg; Vit B6 - 2,4mg; Vit B12 -0,012 mg; Ácido nicotínico- 35,0 mg; Ác. Pantotênico- 12,0 mg; Vit. K3 - 1,7mg; Ác. Fólico - 0,7 mg; Biotina – 0,077 mg; Selênio - 0,33 mg; antioxidante- 10,0 g e veículo q.s.p. - 1000 g. ² Contendo por Kg/ração: Manganês – 71,5mg; Ferro - 55mg; Zinco - 66mg; Cobre - 11mg; Iodo – 0,88 mg. ³ 500 FYT: 10 g/ton, ⁴ 1000 FYT: 20g/ton, ⁵ 2000 FYT: 40 g/ton

A composição química das fontes de fósforo utilizadas foram determinadas previamente para possibilitar a adequada formulação das rações experimentais (Tabela 2).

Tabela 2 - Conteúdo de fósforo e de cálcio total dos ingredientes usados nas rações experimentais para frangos de corte no período de 7 a 21 dias (na matéria natural).

Ingrediente	Fósforo Total, %	Cálcio Total, %
Milho	0,24	0,026
Farelo de Soja (45%)	0,53	0,235
Fosfato Bicálcico	18,56	24,46
Calcário Calcítico	-	38,67

O período experimental foi de 14 dias (7 a 21 de idade) onde foram avaliados os parâmetros de ganho de peso, de consumo de ração e de conversão alimentar. No período do 16^o ate 20^o dia experimental foi realizada coleta total de excretas. No 21^o dia todas as aves foram abatidas por deslocamento cervical para obtenção da tíbia e do conteúdo ileal.

Ao final do período experimental as excretas e o conteúdo de digesta foram analisadas no laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFV. A determinação de matéria seca (MS) e de fósforo total foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Silva & Queiroz (2002) e a determinação da CAI foi realizada seguindo a metodologia descrita por Joselyn (1970). Estes dados foram utilizados na determinação

do balanço aparente do P (%) e os dados de conteúdo ileal foram utilizados para obtenção dos valores de digestibilidade ileal aparente por médio de indicador fecal (CIA) segundo as equações adaptadas por Sakomura e Rostagno, (2007).

Coeficiente do Fósforo Retido Aparente (CRAP)

$$\text{CRAP (\%)} = \frac{\text{P ingerido (g)} - \text{P excretado excretas (g)}}{\text{P ingerido (g)}} \times 100$$

Coeficiente de Digestibilidade Ileal Aparente do Fósforo (CDAP)

$$\text{CDAP (\%)} = \frac{\% \text{ P dieta} - (\% \text{ P digesta} \times \text{FI})}{\% \text{ P dieta}} \times 100$$

Fator de indigestibilidade (FI)

$$\text{FI} = \frac{\% \text{ CAI dieta}}{\% \text{ CAI digesta}}$$

Os dados experimentais foram submetidos a análise de variância utilizando o pacote estatístico SAEG (Universidade Federal de Viçosa). As médias dos parâmetros avaliados dos tratamentos 1, 2, 3 e 4 (níveis de Pdisp) foram utilizadas para estimar a curva padrão de Pdisp para cada nível de fitase segundo as recomendações de Sakomura e Rostagno, (2007). O modelo de regressão linear utilizado foi:

$$Y = a + bx_1,$$

Onde Y, corresponde ao parâmetro avaliado, *a* é o intercepto, *b* é a inclinação da reta, e X é o nível de suplementação de Pdisp do fosfato

bicálcico. Posteriormente, utilizando a metodologia descrita por Jendza et al., (2006) obteve-se equações lineares e quadráticas para cada parâmetro avaliado a partir da suplementação de Pdisp e fitase, e as variáveis dependentes (critérios de resposta) foram utilizadas em equações de regressão contra as variáveis independentes (Pdisp calculado a partir da suplementação do fosfato bicálcico ou da fitase). A equivalência do fósforo e da fitase foi determinada igualando as duas equações para a variável independente como nível equivalente da variável dependente. Exemplo:

Lineares:

$$\text{Eq. 1 } Y(\text{Parâmetro avaliado}) = a_1 + b_1 (\% \text{ Pdisp})$$

$$\text{Eq. 2 } Y (\text{Parâmetro avaliado}) = a_2 + b_2 (\text{FYT/Kg ração})$$

$$a_1 + b_1 (\% \text{ Pdisp}) = a_2 + b_2 (\text{FYT /Kg ração})$$

$$\% \text{ Pdisp} = \frac{a_2 - a_1 + b_2 (\text{FYT /Kg ração})}{b_1}$$

Quadráticas:

$$\text{Eq. Y1 (Parâmetro avaliado)} = a_1 + b_1 (\% \text{Pdisp}) + c_1 (\% \text{Pdisp})^2;$$

$$\text{Eq. Y2 (Parâmetro avaliado)} = a_2 + b_2 (\text{FYT /kg ração}) + c_2 (\text{FYT /kg ração})^2;$$

$$\% \text{ Pdisp} = \frac{-b_1 \pm \sqrt{(b_1)^2 - 4a_1(c - Y_2)}}{2a_1}$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As temperaturas médias mínimas e máximas durante o período experimental foram $25^{\circ}\text{C} \pm 0,73$ e $31^{\circ}\text{C} \pm 0,43$, respectivamente.

Na tabela 3 são apresentados os dados de desempenho, características ósseas, digestibilidade e balanço do fósforo de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de P disponível e de fitase.

Tabela 3 - Parâmetros de desempenho, características ósseas, digestibilidade ileal aparente e balanço do P de frangos de corte de 7 a 21 dias alimentados com diferentes níveis de fósforo disponível e de fitase

Parâmetros Avaliados	Níveis P do FB, %				Níveis Fitase FTU			P		CV,% ³	Fitase		CV,% ³
	0	0,06	0,12	0,18	500	1000	2000	R2			R2		
								L ¹	Q ²		L ¹	Q ²	
Desempenho													
Ganho de Peso, g	420	658	766	814	705	724	735	0,90	1,00	4,46	0,68	0,95	5,10
Consumo de Ração, g	706	915	967	1013	928	920	909	NS	NS	-	NS	NS	-
Conversão Alimentar, g/g	1,68	1,39	1,26	1,24	1,32	1,27	1,24	0,84	1,00	4,79	0,76	0,97	5,09
Características Ósseas (Tíbia⁴)													
Peso tíbia, g	890	1,065	1,166	1,244	1,093	1,179	1,196	0,96	1,00	3,78	0,85	1,00	2,10
Cinza, %	41,56	49,64	51,63	53,65	49,62	51,64	52,43	0,87	0,98	0,51	0,81	0,98	0,62
Cinza, g	370	529	602	667	543	609	627	0,95	0,99	3,88	0,85	1,00	1,87
Fósforo, %	4,86	5,79	6,01	7,09	6,75	6,82	6,96	0,95	NS	3,71	0,68	0,94	0,87
Fósforo, mg	43,21	61,67	70,13	88,23	73,79	80,37	83,31	0,98	NS	5,88	0,79	0,98	1,84
Digestibilidade Ileal Aparente e Balanço de Fósforo													
Digestibilidade, %	62,62	64,05	67,98	75,60	66,42	68,40	74,08	0,91	1,00	1,50	0,94	1,00	2,47
Balanço de Fósforo, %	64,69	68,31	71,31	74,71	69,52	71,48	73,54	0,98	NS	2,26	0,96	NS	1,86

¹ L = Efeito Linear (P < 0,01)

² Q = Efeito Quadrático (P < 0,01)

³ CV = Coeficiente de Variação

⁴ Tíbia seca e desengordurada

NS = Efeito Não Significativo
 R^2 = Coeficiente de Determinação

O ganho de peso, a conversão alimentar, o peso da tibia (mg), a deposição de cinza na tibia (g e %) assim como a digestibilidade ileal aparente apresentaram aumento linear ($P < 0,01$) e resposta quadrático ($P < 0,01$) com o aumento nos níveis de P disp e de fitase respectivamente. O balanço de P teve efeito linear ($P < 0,01$) para os níveis de P disp e de fitase. Igualmente a deposição de P (mg e %) apresentou efeito linear ($P < 0,01$) para os níveis de P disp e efeitos linear e quadrático ($P < 0,01$) para os níveis de fitase. O consumo de ração não apresentou efeito significativo.

A suplementação de 0,06, 0,12 e 0,18% de P disp do FB melhoraram respectivamente o ganho de peso em 57, 82 e 94%, a conversão alimentar em 21, 34 e 36%, o peso da tibia (g) em 20, 31 e 40%, a cinza (%) em 19, 24 e 29%, a cinza (g) em 43, 63 e 80%, o P (%) em 19, 24 e 46%, o P (mg) em 43, 62 e 104%, a digestibilidade ileal aparente do P em 2, 9 e 21% e o balanço aparente do P em 6, 10 e 15% em comparação á ração basal. Igualmente, o fornecimento de 500, 1000 e 2000 FYT melhoraram o ganho de peso em 68, 72 e 75%, a conversão alimentar em 28, 33 e 37%, o peso da tibia (mg) em 23, 32 e 34%, a cinza (%) em 19, 24 e 26%, a cinza (mg) em 47, 65 e 69%, o P (%) em 39, 40 e 43% o P (mg) em 71, 86 e 93%, a digestibilidade aparente do P em 6, 9 e 18% e o balanço do P em 7, 10 e 14% em comparação á ração basal sem a adição de fitase. O consumo de ração não foi influenciado pela suplementação de P e de fitase.

Os resultados estão de acordo com Yi et al., (1996) que verificaram efeito linear no ganho de peso e deposição de cinza na tibia com o aumento nos níveis de fósforo inorgânico assim como de fitase. No entanto os autores

também observaram uma resposta linear no consumo de ração das aves com aumento nos níveis de fósforo inorgânico e de fitase.

Jednza et al., (2006) verificaram efeito linear ($P < 0,01$) no ganho de peso, na conversão alimentar, no consumo de ração e na deposição de cinza na tíbia com a adição de fósforo inorgânico e de fitase, no entanto, Powell et al., (2008) não observaram efeito do nível de fósforo inorgânico ou de fitase no desempenho de frangos de corte na fase inicial em dietas com níveis baixos de Ca e P total, 0,84 e 0,64% respectivamente. Neste experimento foi observada uma redução no ganho de peso, no consumo de ração e na conversão alimentar no período de crescimento.

Na literatura são citados os efeitos positivos da adição de fitases como aditivos em frangos de corte, a variabilidade nos resultados encontrados é grande principalmente nos parâmetros produtivos ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e deposição de cinza no osso (Johnston e Southern, 2000)

Neste trabalho foi utilizada uma fitase de origem bacteriana expressa em *Aspergillus oryzae* (Ronozyme HiPhos) sendo observado melhoras no ganho de peso de 68, 72 e 75% e na conversão alimentar de 78, 33 e 37% para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente. Os resultados são corroborados por Aureli et al., (2011) em trabalhos com a mesma fitase verificando melhoras no ganho de peso e conversão de 97 e 26,5%, igualmente a deposição de cinza na tíbia melhorou com a suplementação de fitase entre 125 e 37%. Da mesma forma Rutherford et al., (2012) trabalhando com a mesma enzima, observaram efeito linear ($P < 0,01$) no ganho de peso e consumo de ração em aproximadamente 8%, igualmente foi observado aumento linear para deposição de cinza na tíbia.

É possível que as diferenças nas respostas observadas pelos diversos autores sejam devido aos níveis de P utilizados nas dietas experimentais. Simons et al., (1990) consideram que a adição de fitase em dietas com baixos níveis de P em aves melhorou significativamente o ganho de peso, consumo e eficiência alimentar, no entanto esta resposta foi dependente do nível de P

dietético utilizado (Powell et al., 2008). Da mesma forma Adeola e Applegate (2010) ressaltaram que fatores como o parâmetro utilizado para avaliar a resposta das fitases, assim como o tempo experimental e idade das aves podem influenciar e limitar a resposta ao fornecimento de P e de fitase uma vez que em experimentos conduzidos na fase de crescimento (8 – 22 dias) os animais são previamente alimentados com rações contendo níveis normais de Ca e P os quais podem encontrar-se estocados de forma adequada no momento do início do experimento, diminuindo assim a variação na resposta observada (Jednza et al., 2006).

Leske e Coon (1999) citam que o ingrediente utilizado nas dietas e o nível de fitase influenciam a hidrólise do P fítico e a retenção de P nas aves. Segundo Angel et al., (2002) a utilização de fósforo fítico é sensível às variações dietéticas de Ca e P, a vitamina D3 e seus metabólitos, o tipo de ingrediente e processamento, o tamanho de partícula também podem influenciar a hidrólise do P no trato gastrointestinal.

As características inerentes das fitases como pH, sensibilidade à proteólise enzimática, temperatura, atividade específica (Augspurger e Ugalde, 2009) e a origem de síntese são outros fatores a serem considerados (Igbasan et al., 2000) as condições experimentais e dietéticas utilizadas na avaliação da resposta por parte das aves assim como o fornecimento de Ca inorgânico, status do animal e interação com outros nutrientes podem afetar a resposta dos animais *in vivo*. De acordo com Selle et al., (2009) os níveis altos de Ca inorgânico afetam negativamente a eficácia das fitases nos monogástricos devido à precipitação do fitato e formação do complexo fitato-Ca no intestino. A relação Ca:P (Lei et al., 1994) reduz a solubilidade do fitato aumentando sua resistência à hidrólise por parte das fitases (Selle et al., 2009). Applegate et al. (2003) verificaram que 0,9% do Ca dietético tem a capacidade de reduzir a atividade intestinal da fitase em 9% e a hidrólise do fitato em 11,9% quando comparado ao fornecimento de 0,4% de Ca na dieta.

Estudos *in vitro* mostraram que as fitases provenientes de fungos (*Aspergillus e Peniphora*) tem menor estabilidade proteolítica comparada às provenientes de bactérias (*Escherichia coli* e *Bacillus*). Augspurger et al., 2003 relataram que a fitase de *Escherichia coli* apresentam maior atividade residual (93%) após a incubação na digesta do pro-ventrículo e moela por 1 hora a

40°C, esta relativa estabilidade pode explicar possivelmente as diferenças no ganho de peso e deposição de cinza no osso de aves alimentadas com esta fitase a comparação das alimentadas com fitases de origem fúngica.

Onyango et al., (2004) ressaltaram que as unidades de fitase variam entre elas dependendo das propriedades químicas, principalmente do pH. Segundo Adeola e Applegate (2010) as comparações feitas na resposta observada entre diferentes fitases sem levar em consideração as características químicas entre elas como o pH levam a possibilidade de superestimar ou subestimar seu verdadeiro valor biológico. Quando são comparadas fitases de diferentes origens *in vivo* a variabilidade na sua eficácia em comparação aos ensaios *in vitro* são devido entre outros ao pH (Greiner e Bedford, 2010).

Melhoras na digestibilidade e na retenção de P ao fornecimento de fitase têm sido observadas por vários autores. Jednza et al., (2006) observaram aumento linear na digestibilidade ileal e na retenção do P. Mosethin e Broz (2010) verificaram aumento na digestibilidade do P em 35, 38, 25 e 5,5% ao fornecimento de 0, 500, 750 e 1000 FTU, respectivamente. No obstante os autores ressaltaram que a resposta da fitase á digestibilidade do P depende do nível de proteína e do tipo de fitase dietéticos, da fonte de P, da relação Ca:P, do nível de vitamina D além dos parâmetros utilizados para mensurar estas respostas. Entre os fatores que podem influenciar na digestibilidade do P está a relação Ca:P no qual é possível que se apresentem antagonismos na digestibilidade e na absorção do P devido ao aumento na precipitação do complexo insolúvel Ca:P (Hurwits e Bar (1971) citado por Plumstead et al., 2008). Watson et al., (2006) ressaltaram que as fitases são mais efetivas em dietas deficientes em P a diferença de dietas com níveis adequados deste mineral.

Na avaliação da digestibilidade aparente e da retenção de P com adição de fitase são utilizadas diferentes metodologias (coleta total de excretas e o uso de indicador fecal). Entre os indicadores utilizados encontra-se o óxido crômico, a cinza acida insolúvel e o óxido de titânio. Segundo Selle e Ravindran (2007) o indicador utilizado nos experimentos pode influenciar a variabilidade encontrada nos diferentes trabalhos. O óxido crômico tem menor uniformidade na digesta das aves devido a sua afinidade com a parte aquosa aumentando sua velocidade de passagem pelo trato gastrointestinal a diferença

dos outros nutrientes dietéticos, além disso, o consumo de ração influencia diretamente a taxa de passagem assim como a digestibilidade do P (Oberleas et al., 1990). Do mesmo modo, os métodos analíticos utilizados na determinação do óxido crômico são inconsistentes na maioria dos análises (Sales e Janssens, 2003), além da baixa recuperação, a variabilidade nos resultados com este indicador são atribuída a problemas analíticos causados pela presença de P e de outros minerais nas amostras de digesta (Yin et al., 2000).

Rutherford et al., (2012) avaliando a digestibilidade da mesma fitase utilizada neste trabalho verificou aumento linear na digestibilidade ileal aparente e no balanço de P ao fornecimento de fitase entre 11-14% respectivamente. Em trabalhos realizados por Aureli et al., (2011) foram verificados melhoras na retenção de P entre 45-78% em comparação ao controle negativo, os aumentos foram maiores aos citados neste trabalho.

Nas tabelas 4, 5 e 6 são apresentados os valores equivalentes de fósforo (%) do fosfato bicálcico e da fitase para os parâmetros produtivos, características ósseas e de digestibilidade para frangos de corte utilizando a metodologias: curva padrão, equações lineares e quadráticas.

Da mesma forma, nos gráficos 1, 2 e 3 são apresentadas as equações logarítmicas e os valores de P estimados através destas metodologias para a adição de 500, 1000 e 2000 FYT de fitase.

Utilizando o método da curva padrão foi obtida a equação logarítmica: $Y = -0,1082 + 0,0346 \ln(X)$, $R^2 = 0,99$, onde o valores de x são os níveis de fitase. Os valores de equivalência em porcentagem do P_{disp} obtidos através desta equação são: 0,107; 0,131 e 0,155% para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente. Com a utilização de equações lineares foi obtida a equação logarítmica $Y = -0,4315 + 0,0793 \ln(x)$, $R^2 = 0,96$, obtendo valores de 0,0613; 0,1163 e 0,1713% para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente. Da mesma forma utilizando equações quadráticas foi obtida a equação logarítmica $Y = -0,1773 + 0,0454 \ln(x)$, $R^2 = 0,76$, obtendo valores de 0,102; 0,134 e 0,165% para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente.

Utilizando os valores médios dos dois métodos foi desenvolvida uma equação que representasse os valores obtidos por destes, sendo $Y = -0,2358 + 0,0527 \ln(x)$, $R^2 = 0,99$, obtendo valores de 0,092; 0,128 e 0,165% de P_{disp}

para 500, 1000 e 2000 FYT, respectivamente para a fitase Ronozyme HiPhos.

Tabela 4 - Valores equivalentes do P disponível (Pdisp) da fitase para parâmetros de desempenho, características ósseas, digestibilidade ileal aparente e balanço de P utilizando a metodologia da curva padrão.

Parâmetros Avaliados	Equações Curva Padrão	%Pdisp Equivalente Fitase		
		500 FYT	1000 FYT	2000 FYT
Desempenho				
Ganho de Peso	$Y = 471 + 21,50 X (\%P_{disp}), R^2 = 0,90$	0,109	0,118	0,123
Conversão Alimentar	$Y = 1,47 - 0,0222 X (\%P_{disp}), R^2 = 0,85$	0,121	0,142	0,156
Características Ósseas (Tíbia)				
Peso, mg	$Y = 916,8 + 19,383 X (\%P_{disp}), R^2 = 0,96$	0,091	0,135	0,144
Cinza, %	$Y = 43,383 + 0,6374 X (\%P_{disp}), R^2 = 0,87$	0,098	0,130	0,142
Cinza, mg	$Y = 397,4 + 16,067 X (\%P_{disp}), R^2 = 0,95$	0,091	0,132	0,143
Fósforo, %	$Y = 4,8992 + 0,1154 X (\%P_{disp}), R^2 = 0,95$	0,160	0,166	0,179
Fósforo, mg	$Y = 44,284 + 2,3917 X (\%P_{disp}), R^2 = 0,98$	0,123	0,151	0,163
Digestibilidade Ileal Aparente e Balanço de Fósforo				
Digestibilidade	$Y = 61,133 + 0,7144 X (\%P_{disp}), R^2 = 0,91$	0,074	0,102	0,181
Balanço de Fósforo	$Y = 64,794 + 0,5511 X (\%P_{disp}), R^2 = 0,99$	0,086	0,121	0,159
Media		0,106	0,133	0,154

Gráfico 1 - Equação Logarítmica (Ln) dos valores médios estimados de equivalência do P disponível (Pdisp) para a fitase, utilizando a metodologia da curva padrão

$$Y (\text{P disp do FB}) = -0,1082 + 0,0346 \ln X (\text{Fitase}); R^2 = 0,995$$

Valores estimados pela equação: Equivalência de %P disp da fitase: 500 FYT/kg = 0,107% de Pdisp; 1000 FYT /kg = 0,131% de Pdisp; 2000 FYT /kg = 0,155% de Pdisp

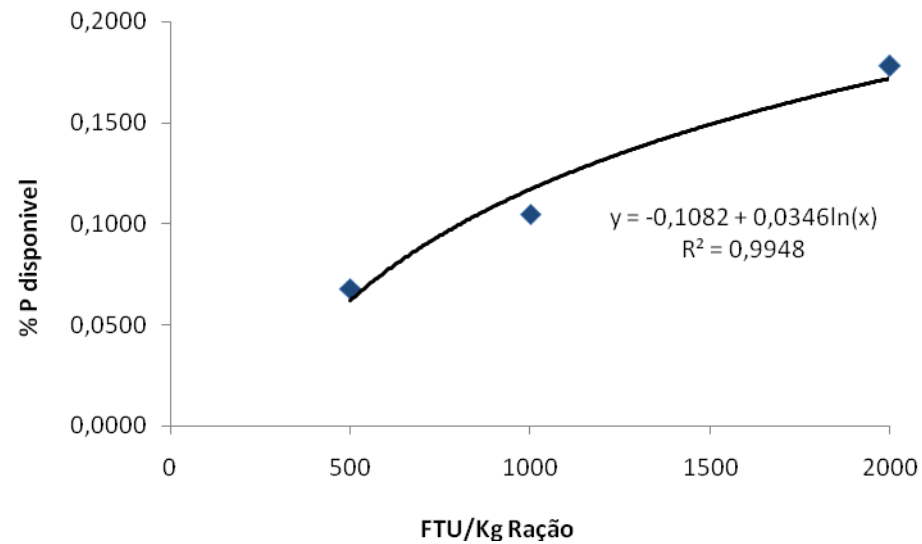


Tabela 5 - Valores equivalentes do P disponível (Pdisp) da fitase para parâmetros de desempenho, características ósseas, digestibilidade ileal aparente e balanço de P obtidas por equações lineares.

Variável	Equação P disponível	Equação Fitase	%Pdisp Equivalente Fitase		
			500 FYT	1000 FYT	2000 FYT
Desempenho					

Ganho de Peso	$Y = 471 + 21,50 X (\%P), R^2 = 0,90$	$Y = 531,8 + 13,051 X (\text{Fit}), R^2 = 0,54$	0,059	0,089	0,150
Conversão Alimentar	$Y = 1,47 - 0,0222 X (\%P), R^2 = 0,85$	$Y = 1,41 - 0,0176 X (\text{Fit}), R^2 = 0,62$	0,067	0,106	0,186
Características Ósseas (Tíbia)					
Peso, g	$Y = 916,8 + 19,383 X (\%P), R^2 = 0,96$	$Y = 967,8 + 13,909 X (\text{Fit}), R^2 = 0,72$	0,062	0,098	0,170
Cinza, %	$Y = 43,383 + 0,637 X (\%P), R^2 = 0,87$	$Y = 44,624 + 0,479 X (\text{Fit}), R^2 = 0,67$	0,057	0,095	0,170
Cinza, g	$Y = 397,4 + 16,067 X (\%P), R^2 = 0,95$	$Y = 435,6 + 11,617 X (\text{Fit}), R^2 = 0,72$	0,060	0,096	0,168
Fósforo, %	$Y = 4,8992 + 0,1154 X (\%P), R^2 = 0,95$	$Y = 5,584 + 0,0871 X (\text{Fit}), R^2 = 0,56$	0,100	0,135	0,210
Fósforo, mg	$Y = 44,284 + 2,3917 X (\%P), R^2 = 0,98$	$Y = 54,854 + 1,750 X (\text{Fit}), R^2 = 0,66$	0,081	0,117	0,191
Digestibilidade Ileal Aparente e Balanço de P					
Digestibilidade	$Y = 61,133 + 0,7144 X (\%P), R^2 = 0,91$	$Y = 63,00 + 0,5574 X (\text{Fit}), R^2 = 0,99$	0,065	0,104	0,182
Balanço de P	$Y = 64,794 + 0,5511 X (\%P), R^2 = 0,99$	$Y = 66,204 + 0,412 X (\text{Fit}), R^2 = 0,86$	0,063	0,100	0,175
Media			0,068	0,104	0,178

Gráfico 2 - Equação Logarítmica (Ln) dos valores médios estimados de equivalência do P disponível (Pdisp) para a fitase Rhonozyme Hiphos, obtidas por equações lineares.

$$Y (\text{P disp do FB}) = - 0,4315 + 0,0793 \text{Ln}X (\text{Fitase}); R^2=0,9617$$

Valores estimados pela equação: Equivalência de %P disp da fitase: 500 FTU/kg =0,0613% de Pdisp; 1000 FTU/kg =0,1163% de

Pdisp; 2000 FTU/kg =0,1713% de Pdisp

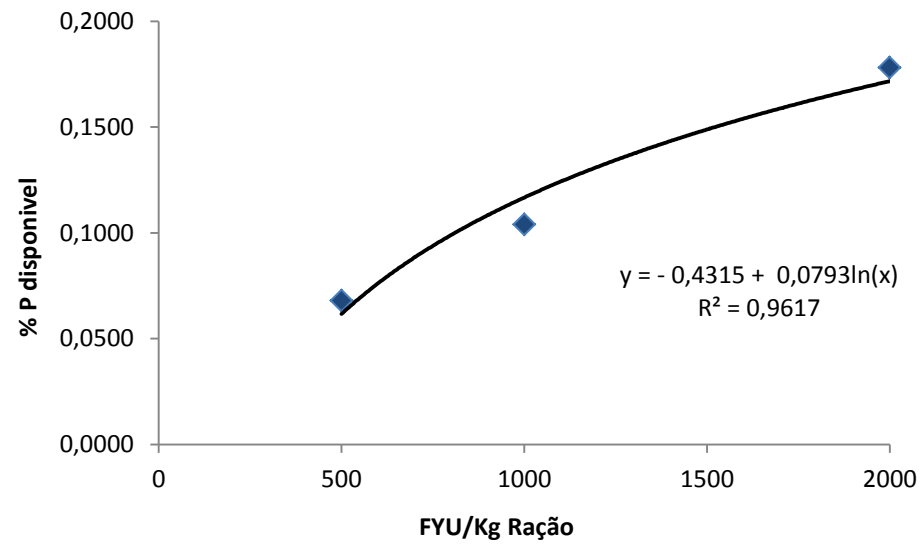


Tabela 6. Valores equivalentes do P disponível da fitase para parâmetros de desempenho, características ósseas, digestibilidade ileal aparente e balanço de P obtidas por equações quadráticas.

Variável	Equação P disponível	Equação Fitase	%Pdisp Equivalente Fitase		
			500 FYT	1000 FYT	2000 FYT
Desempenho					
Ganho de Peso	$Y=423,5+45,25X-1,3194X^2$ $R^2=0,99$	$Y=441,03+50,657X-1,855X^2$ $R^2=0,92$	0,061	0,113	0,092
Conversão Alimentar	$Y=1,533-0,0538X+0,0018X^2$ $R^2=0,99$	$Y=1,514-0,0615X+0,0021X^2$ $R^2=0,94$	0,156	0,157	0,158
Características Ósseas (Tíbia)					
Peso, mg	$Y=892,55+35,51X-0,6736X^2$ $R^2=0,99$	$Y=895,35+43,925X-1,449X^2$ $R^2=0,99$	0,069	0,131	0,134
Cinza, %	$Y=41,866+1,396X-0,0422X^2$ $R^2=0,98$	$Y=41,965+1,580X-0,0523X^2$ $R^2=0,97$	0,058	0,120	0,123
Cinza, mg	$Y=373,9+27,817X-0,6528X^2$ $R^2=0,99$	$Y=375,65+36,455X-1,199X^2$ $R^2=0,99$	0,065	0,126	0,130
Fósforo, %	$Y=4,936+0,0971X-0,0010X^2$ $R^2=0,96$	$Y=5,0065+0,326X-0,0116X^2$ $R^2=0,91$	0,178	0,350	0,286
Fósforo, mg	$Y=44,193+2,437X-0,0025X^2$ $R^2=0,98$	$Y=44,894+5,8767X-1,992X^2$ $R^2=0,97$	0,104	0,166	0,161
Digestibilidade Ileal Aparente e Balanço de P					
Digestibilidade	$Y=62,677-0,0578X+0,043X^2$ $R^2=0,99$	$Y=62,812+0,636X-0,0038X^2$ $R^2=0,99$	0,093	0,126	0,169
Balanço de P	$Y=64,737+0,58X-0,0016X^2$ $R^2=0,99$	$Y=64,869+0,965X-0,026X^2$ $R^2=0,99$	0,076	0,127	0,158
Media			0,096	0,157	0,158

Gráfico 3 - Equação Logarítmica (Ln) dos valores médios estimados de equivalência do P disponível (Pdisp) para a fitase, obtidas por equações quadráticas.

$$Y (\text{P disp do FB}) = - 0,1773 + 0,045 \text{LnX (Fitase)}; R^2=0,7619$$

Valores estimados pela equação: Equivalência de %P disp da fitase: 500 FYT /kg = 0,1024% de Pdisp; 1000 FYT /kg = 0,1335% de Pdisp; 2000 FYT /kg = 0,1647% de Pdisp

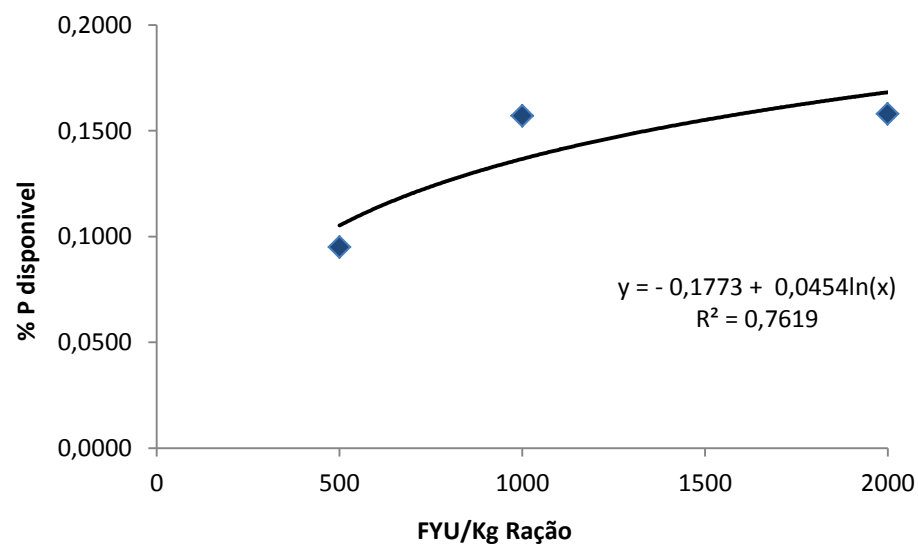


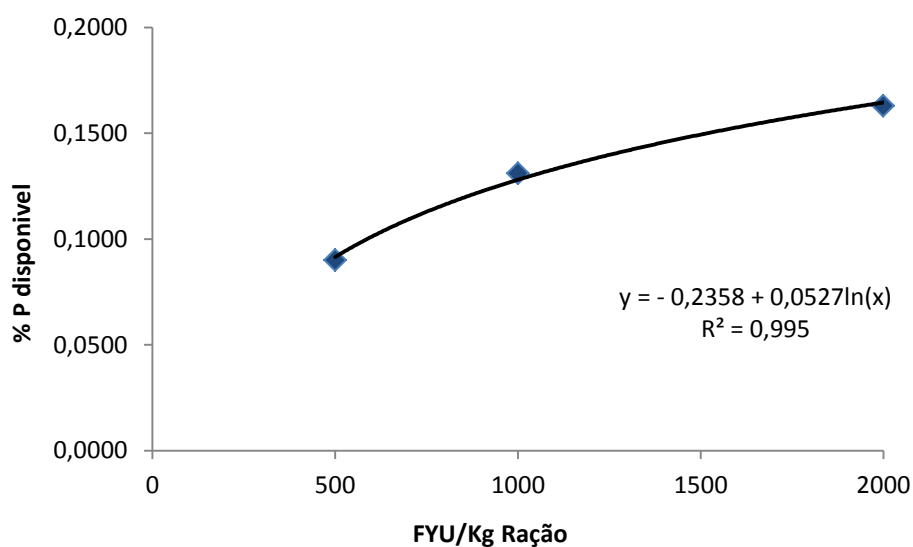
Tabela 7 - Valores médios da equivalência do Pdisp (%) da fitase para frangos de corte de 8 a 21 dias obtidos por diferentes metodologias.

Metodologias	% P disp Equivalente Fitase		
	500 FYT	1000 FYT	2000 FYT
Curva Padrão	0,106	0,133	0,154
Equações Lineares	0,068	0,104	0,178
Equações Quadráticas	0,096	0,157	0,158
Media	0,090	0,131	0,163

Gráfico 4 - Equação Logarítmica (Ln) dos valores médios estimados de equivalência do P disp (%) para a fitase.

$$Y (\text{P disp do FB}) = - 0,2358 + 0,0527 \ln X (\text{Fitase}); R^2 = 0,995$$

Valores estimados pela equação: Equivalência de %P disp da fitase: 500 FYT/kg = 0,092% de Pdisp; 1000 FYT /kg = 0,128% de Pdisp; 2000 FYT /kg = 0,165% de Pdisp



De acordo com Yi et al. (1996) são poucos os trabalhos acerca dos valores de equivalência do P disponível. No entanto, Jednza et al. (2006) citam valores de equivalência do P_{disp} para 500 FTU de 0,72; 0,78 e 1,19 g utilizando o fosfato monocalcico para ganho de peso, consumo de ração e cinza na tibia respectivamente. Onyango et al., (2005) observaram valores para 500 e 700 FTU de 0,757 e 1,116 g de P inorgânico do fosfato monosódico para cinza na tibia. Enquanto Adedokun et al., (2004) determinaram valores de 0,930 a 1,101 g de P do fosfato monosódico para 1000 FTU de fitase para % de cinza na tibia. Augspurger et al., (2003) citam valores de 1,25 g de P para 500 FTU de fitase para o fosfato de potássio.

Segundo, Adeola e Applegate (2010) muitos fatores influenciam as respostas das fitases, valores como o fato dos experimentos serem conduzidos com dietas a base de milho e farelo de soja, trigo e soja ou em dietas semi purificadas, diferentes fontes de fósforo, fitase, parâmetros de resposta, grau de deficiência das dietas basais, balanço eletrolítico das dietas e os níveis dietéticos de nutrientes como o cálcio e o fósforo não fítico, assim como a relação Ca:P (Selle e Ravindran, 2007). No entanto Yan et al., (2006) ressaltaram que a quantidade de Ca liberado pela fitase é mínima, assim níveis adequados de Ca dietético podem ser incluídos nas rações junto com fitase sem afetar o desempenho dos animais.

Drive et al., (2005) ressaltaram que os estudos que são conduzidos para determinar a equivalência do P utilizam níveis dietéticos normais de Ca e baixos de P seguidos da suplementação de fitase, a interpretação destas respostas é complexa devido não somente á redução na deficiência do P por parte da fitase como também do Ca ou do desequilíbrio Ca:P. Da mesma forma, Augspurger et al., (2003) relataram que em estudos com aves a liberação do P fítico proveniente da fitase *E. coli* foi de 0,124% para 500 FTU/kg em comparação a 0,032 ou 0,028% de uma dose comercial equivalente proveniente de fitases de *Aspergillus niger* ou *Peniphora lycii* respectivamente. Estes resultados indicam que a eficácia das fitases apresenta grande variação o que é corroborado por vários autores (Angel et al., 2002).

Os valores de equivalência do P da fitase geralmente são calculados com base no peso vivo e na porcentagem de deposição de cinza no osso já a

que são parâmetros de maior importância econômica e de fácil determinação (Walk et al., 2012). Da mesma forma, Augspurger et al. (2003) ressaltaram que a deposição de cinza no osso é o parâmetro mais sensível aos níveis dietéticos de P. Enquanto as diferenças do ganho de peso (Singh, 2008) podem ser influenciados pelas características extra fosfóricas da fitase e de outros nutrientes dietéticos. Igualmente, Sebastian et al., (1996) citaram que a retenção de P é o principal parâmetro quando é testada a eficácia das fitases.

Segundo Driver et al., (2005) a resposta das aves ao fornecimento de fitase depende das concentrações de Ca e P dietéticos. Os efeitos de uma dieta deficiente em P são exacerbados quando a concentração dietética de Ca aumenta. Isto pode ser o resultado da precipitação de fosfatos de cálcio na presença de altas concentrações de Ca dietético o qual tem a capacidade de quelatar-se ao fitato tornando a fitase menos solúvel diminuindo assim o acesso das fosfatases e fitases presentes no estômago (Singh, 2008).

Quian et al., (1997) relataram que a maior relação Ca:P reduz a atividade da fitase. Igualmente McGuaig et al., (1972) citado por Tamim et al., (2004) verificaram que o aumento no nível de Ca na ração de frangos de 0,6 a 1,5% promoveu a redução da atividade da fosfatase alcalina em 52% e da fitase endógena em 75%. Avaliando a influencia da relação Ca:P sobre o ganho de peso ou deposição de cinza na tíbia dos frangos de corte, Quian et al., (1997) citaram melhoras de 24 e 15% respectivamente em animais alimentados com dietas com baixo P e Ca (1,1:1) comparado com animais alimentados com dietas com baixo P e alto Ca (2,0:1).

CONCLUSÕES

A adição de fósforo disponível do fosfato bicálcico e de fitase em dietas deficientes em fósforo para frangos de corte de 7 a 21 dias de idade melhoram o desempenho dos animais, as características ósseas, a digestibilidade e balanço do fósforo. No entanto devem ser levados em consideração os fatores que afetam as respostas das fitases para não subestimar ou superestimar os resultados observados.

Os valores de equivalência do fósforo obtido pelo do método da curva padrão são: 0,107; 0,131 e 0,155% de P disponível para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente para a fitase Ronozyme HiPhos.

Os valores de equivalência do fósforo obtido pelo método de equações lineares são: 0,061; 0,116 e 0,171% de P disponível para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente para a fitase Ronozyme HiPhos.

Os valores de equivalência do fósforo obtido pelo método de equações quadráticas são: 0,102; 0,134 e 0,165% de P disponível para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente para a fitase Ronozyme HiPhos.

Os valores médios de equivalência do fósforo pelas médias de todos os métodos são: 0,092; 0,128 e 0,165% de P disponível para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente para a fitase Ronozyme HiPhos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ANGEL, R. AND APPELEGATE, T. Phytase Use – What Do We Know? **Proceedings of the 62nd Minnesota Nutrition Conference**, pp: 1-15. 2002

ADEDOKUN, S.A; SANDS, J.S AND ADEOLA, O. Determining The Equivalent Phosphorus Released by an *Escherichia coli*-Derived Phytase in Broiler Chicks. **Canadian Journal of Animal Science**. 84: 437–444. 2004

ADEOLA, O. Phosphorus Equivalency Value of an *Escherichia coli* Phytase in the Diets of White Pekin Ducks. **Poultry Science**.89:1199–1206. 2010

ADEOLA, O AND APPELEGATE, T.J..Phosphorus and Calcium Equivalency of Phytase. **Proceedings of the 1st International Phytase Summit**. Washington, D.C. 2010

ANGEL, R., N. M. TAMIM, T. J. APPELEGATE, A. S. DHANDU, AND L.E. ELLESTAD. Phytic Acid Chemistry: Influence on Phytin Phosphorus Availability and Phytase Efficacy. **Journal Applied Poultry Research**.11:471–480. 2002.

APPELEGATE, T. J., R. ANGEL, AND H. L. CLASSEN. Effect of Dietary Calcium, 25-Hydroxycholecalciferol, or Bird Strain on Small Intestinal Phytase Activity in Broiler Chickens. **Poultry Science**. 82:1140–1148. 2003

AUGSPURGER, N. I., D. M. WEBEL, X. G. LEI, AND D. H. BAKER. Efficacy of an *E. Coli* Phytase Expressed in Yeast for Releasing Phytate-Bound Phosphorus in Young Chicks and Pigs. **Journal of Animal Science**. 81:474–483. 2003.

AUGSPURGER, N.R AND UGALDE, E. Comparative Phytase Utilization in Pigs and Broiler Chickens. **Congresso sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos**. CBNA. Campinas-SP. 2009

AURELI, R; UMAR F.M; CECHOVA, P.B; PEDERSEN, S.G; ELVIG-JOERGENSEN, F AND BROZ, J. The Efficacy of a Novel Microbial 6-Phytase Expressed in *Aspergillus oryzae* on the Performance and Phosphorus Utilization in Broiler Chickens. **International Poultry of Science**. 160-168. 2011.

BROZ, J., P. OLDALE, A.-H.PERRIN-VOLTZ, G. RYCHEN, J.SCHULZE AND C. SIMOES NUNES. Effects of Supplemental Phytase on Performance and Phosphorus Utilization in Broiler Chickens Fed a Low Phosphorus Diet Without Addition of Inorganic Phosphates. **British Poultry Science**., 35: 273-280. 1994.

CORDELL, D; DRANGERT, J.O; WHITE, S. The Story of Phosphorus. Global Foods Security and Foods for Thought. **Global Environmental Change**. 19:292-305. 2009

COWIESON, A.J., WILCOCK, P. AND BEDFORD, M.R. Super-Dosing Effects of Phytase in Poultry and other Monogastrics. **World's Poultry Science Journal**, Vol. 67, June 2011.

DRIVER, J. P., G. M. PESTI, R. I. BAKALLI, AND H. M. EDWARDS. Effects of Calcium and Nonphytate Phosphorus Concentrations on phytase Efficacy in Broiler Chicks. **Poultry Science**. 84:1406–1417. 2005

IGBASAN F.A; MÄNNER, K; MIKSCH, G; BORRIS, R; FAROUK, A AND SIMON, O. Comparative Studies on the in Vitro Properties of Phytases from Various Microbial Origins. **Archive Animal Nutrition**. 353-373. 2000

JENDZA, J. A., R. N. DILGER, J. S. SANDS, AND O. ADEOLA. Efficacy and Equivalency of an *Escherichia coli*-Derived Phytase for Replacing Inorganic Phosphorus in the Diets of Broiler Chickens and Young Pigs. **Journal Animal Science**. 84:3364–3374. 2006

JOHNSTON, S.L. AND L.L. SOUTHERN. The Effect of Varying Mixes Uniformity (Simulated) of Phytase on Growth Performance, Mineral Retention and Bone Mineralization in Chicks. **Poultry Science**. 79: 1485-1490. 2000

JOSELYN, M.A. **Methods in food analysis (physical, chemical and instrumental methods of analysis)**. New York e Londres: Academic Press, 1970.

LEI, X.G., KU, P.K., MILLER, E.R., YOKOYAMA, M.T. AND ULLREY, D.E.. Calcium Level Effects the Efficacy of Supplemental Microbial Phytase in Corn–

Soybean Meal Diets of Weanling Pigs. **Journal of Animal Science**. Sci.72, 139–143. 1994

LESKE, K.L AND COON, C.N.. A Bioassay to Determine the Effect of Phytase on Phytate Phosphorus Hydrolysis and Total Phosphorus Retention of Feed Ingredients as Determined with Broilers and Laying Hens. **Poultry Science**. 78:1151-1157. 1999

OBERLEAS, D., Li, Y-C., STOECKER, B.J., HENLEY, S.A., KEIM, K.S., SMITH, J.C. The Rate of Chromium Transit Through the Gastrointestinal Tract. **Nutrition Research**. 1189-1194. 1990.

ONYANGO, E.M., ASEM, E.K., SANDS, J.S. And ADEOLA, O. Dietary Phytates Increase Endogenous Losses in Ducks and Chickens. **Journal of Animal Science** 82 (Suppl.): 149-150. 2004.

ONYANGO, E.M., BEDFORD, M.R. & ADEOLA, O. Efficacy of an Evolved *Eschericia Coli* Phytase in Diets of Broiler Chicks. **Poultry Science**. 84: 248-255. 2005.

POWELL, S.; JOHNSTON, S.; GASTON, L AND SOUTHERN.L.L. The Effect of Dietary Phosphorus Level and Phytase Supplementation on Growth Performance, Bone-Breaking Strength ,and Litter Phosphorus Concentration in Broilers. **Poultry Science**. 87:949–957. 2008

POWELL, S., T. D. BIDNER, AND L. L. SOUTJER. Phytase Supplementation Improved Growth Performance and Bone Characteristics in Broilers Fed Varying Levels of Dietary Calcium. **Poultry Science**. 90:604–608. 2011.

QUAN, H., E. T. KORNEGAY, AND D. M. DENBOW. Utilization of Phytate Phosphorus and Calcium as Influenced by Microbial Phytase, Cholecalciferol, and the Calcium:Total Phosphorus Ratio in Broiler Diets. **Poultry Science**. 76:37–46. 1997.

RAVINDRAN, V., CARBAHUG, S., RAVINDRAN, G., SELLE, P.H. AND BRYDEN, W.L. Response of Broiler Chickens to Microbial Phytase Supplementation as Influenced by Dietary Phytic Acid and Non-Phytate Phosphorous Levels. II. Effects on Apparent Metabolizable Energy, Nutrient Digestibility and Nutrient Retention. **British Poultry Science** 41: 193-200. 2000

RAVINDRAN, V., COWIESON, A.J. & SELLE, P.H. Influence of Dietary Electrolyte Balance and Microbial Phytase on Growth Performance, Nutrient Utilization and Excreta Quality of Broiler Chickens. **Poultry Science**. 87: 677-688. 2008.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais.** Viçosa: UFV, 2005. 141p.

RUTHERFURD, S.M; CHUNG, T.K; THOMAS, D.V; ZOU, M.L AND MOUGHAN, P.J. Effect of a Novel Phytase on Growth Performance, Apparent Metabolizable Energy, and the Availability of Minerals and Amino Acids in a Low-Phosphorus Corn-Soybean Meal Diet for Broilers. **Poultry Science.** 91:1118–1127. 2012.

SAKOMURA NK, ROSTAGNO HS. **Métodos De Pesquisa Em Nutrição De Monogástricos.** Editor FUNEP, Jaboticabal. 2007.

SEBASTIAN, S., S.P. TOUCHBURN, E.R. CHAVEZ AND P.C.LAGUE, Efficacy of Supplemental Microbial Phytase at Different Dietary Calcium Levels on Growth Performance and Mineral Utilization of Broiler Chickens. **Poultry Science.**, 75: 1516-1523. 1996.

SELLE, P.H. & RAVINDRAN, V. Microbial Phytase In Poultry Nutrition. **Animal Feed Science.** Technol.135: 1-41. 2007

SELLE, P. H., A. J. COWIESON, AND V. RAVINDRAN. Consequences of Calcium Interaction with Phytase and Phytase for Poultry and Pigs. **Livestock Science.** 124:126–141. 2009.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3.ed.Viçosa: UFV, 2002. 235p.

SIMONS, P.C.M., H.A.J. VERSTEEGH, A. W. JONGBLOED, PA. KEMME,P. SLUMP , K. D. BOS, M.G.E. WOLTERS, R. F. BEUDEKER, ANDG. J. VERSCHOOR. Improvement of Phosphorus Availability by Microbial Phytase in Broilers and Pigs. **British Journal Nutrition.**64:525–540. 1990.

SINGH, P.K., Significance of Phytic Acid and Supplemental Phytase in Chicken Nutrition: A Review. **Worlds' Poultry Science.** J., 64: 553-580. 2008.

Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas – **SAEG.** Versão 8.0. Viçosa: UFV, 2001. 142p.

TAMIM, N.M. & ANGEL, R. Phytate Phosphorus Hydrolysis as Influenced by Dietary Calcium and Micro-Mineral Source in Broiler Diets. **Journal Agriculture Food Chemical.** 51: 4687-4693. 2003.

TAMIM, N. M., R. ANGEL, And M. CHRISTMAN. Influence of Dietary Calcium and Phytase on Phytate Phosphorus Hydrolysis in Broiler Chickens. **Poultry Science**. 83:1358–1367. 2004.

WALK, C.L; BEDFORD, M.R And MCELROY, A.P. Influence of Limestone and Phytase on Broiler Performance, Gastrointestinal pH, and Apparent Ileal Nutrient Digestibility. **Poultry Science**. 91 :1371–1378. 2012

YI, Z., E. T. KORNEGAY, V. RAVINDRAN, And D. M. DENBOW. Improving Phytate Phosphorus Availability in Corn and Soybean Meal for Broilers Using Microbial Phytase and Calculation of Phosphorus Equivalency Values of Inorganic P by Phytase. **Poultry Science**. 75:240–249. 1996.

YIN, Y.-L., McEVOY, J.D.G., SHCHULZE, H., HENNING, U., SOUFFRANT, W.-B., McCracken, K.J. Apparent Digestibility (Ileal and Overall) of Nutrients as Evaluated with PTVC-cannulated or Ileal-rectal Anastomised Pigs Fed Diets Containing Two Indigestible Markers. **Livestock Production Science**. 62:133-141. 2000

ARTIGO 2

EQUIVALÊNCIA EM FÓSFORO DISPONÍVEL DA FITASE USANDO DIFERENTES METODOLOGIAS COM SUÍNOS

EQUIVALÊNCIA EM FÓSFORO DISPONÍVEL DA FITASE USANDO DIFERENTES METODOLOGIAS COM SUÍNOS

RESUMO

Foram utilizados 144 suínos machos castrados de peso médio aproximado de $18 \pm 0,84$ kg distribuídos em um delineamento experimental em blocos, sendo 6 tratamentos com 8 repetições e 3 animais por unidade experimental. Os tratamentos foram compostos por uma ração basal (T1) com base em milho e de farelo de soja baixa em Pdisp (0,157%), os tratamentos T2 e T3 foram compostos pela adição de 0,1 e 0,2% de Pdisp do fosfato bicálcico, para os tratamentos T4, T5 e T6 foram adicionadas 500, 1000 e 2000 FYT de fitase bacteriana expressa em *Aspergillus oryzae* (Ronozyme HiPhos). A cada tratamento foi adicionado 1% de cinza acida insolúvel utilizada como indicador fecal. O período experimental foi de 21 dias onde foi avaliado o ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar. Do 16° até o 20° dia do período experimental foi realizada coleta parcial de fezes para determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente do P. No 21° dia foi abatido um animal por gaiola para obtenção do metatarso e assim determinar a deposição de cinza (g e %) e de fósforo (mg e %) nos ossos. Os dados experimentais foram submetidos a análise de variância, as médias dos parâmetros avaliados foram utilizados para a obtenção de uma curva padrão, e de equações lineares para o cálculo da equivalência do P disp. O ganho de peso e a conversão alimentar apresentaram aumento linear ($P < 0,01$) com os níveis crescentes de P disp do FB e de fitase. No entanto não foi observado efeito significativo ($P < 0,01$) no consumo de ração. As características ósseas peso do metatarso (g), cinza (g e %) e P (g e mg) apresentaram efeito aumento ($P < 0,01$) com os níveis crescentes de P disp. Foi observado efeito quadrático ($P < 0,01$) com o aumento nos níveis de fitase a exceção da deposição de P, % nos ossos. A digestibilidade aparente do P aumentou linear ($P < 0,01$) e quadrático ($P < 0,01$) na digestibilidade aparente do P ao fornecimento de P disp e de fitase. Os valores de equivalência do fósforo pelo método da curva padrão foram: 0,066; 0,123 e 0,181% de P disponível para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente,

igualmente para o método das equações lineares: 0,060; 0,123 e 0,188% de P disponível para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente para a fitase. Os valores médios de equivalência do fósforo pelo método da curva padrão e de equações lineares são: 0,064; 0,126 e 0,187% de P disponível para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente para a fitase Ronozyme HiPhos.

Palavras Chave: Fósforo Disponível, Fitase, Fósforo Equivalente, Suínos

INTRODUÇÃO

O fósforo (P) é o terceiro nutriente mais oneroso nas rações para monogástricos, depois da proteína e a energia (Augspurger e Ugalde, 2009). É utilizado pelo organismo para crescimento muscular, formação óssea, componente dos ácidos nucleicos, fosfolípidios, ativador de sistemas enzimáticos, além de auxiliar na manutenção do balanço osmótico e equilíbrio ácido básico e de ser essencial no metabolismo da energia (ATP), proteína e aminoácidos (Coon et al., 2002). O P é encontrado normalmente nas sementes de cereais e oleaginosas, mais aproximadamente 60 a 80% deste esta sob a forma de ácido fítico (Selle et al., 2009) a forma menos disponível para os suínos.

O ácido fítico encontra-se normalmente distribuído na natureza ligado nas sementes ao myo-inositol (1, 2, 3, 4, 5, 6 hexaquis di-hidrogênio fosfato) sendo a principal forma de estoque de P (Kornegay, 2001). Nas plantas é encontrado na forma de sal de potássio (K) ou magnésio (Mg) e é relativamente não reativo, no entanto quando este é exposto a condições de baixo pH como as apresentadas no estômago, este interage com os íons de H substituindo o K e o Mg, podendo reagir eletrostaticamente com outros minerais principalmente com Ca e resíduos de aminoácidos básicos diminuindo sua digestibilidade e disponibilidade (Bedford e Cowieson, 2009). Segundo Selle et al., (2000) uma molécula de ácido fítico contém aproximadamente 282 g/kg de P.

Dentre os ingredientes usados normalmente nas dietas para suínos o milho e a soja ocupam lugar de destaque, no entanto a quantidade de P disponível (P_{disp}) nestes são insuficientes para atender as exigências para manutenção e produção (0,06% P_{disp} para o milho e 0,22% P_{disp} para a soja, Rostagno et al., 2011), fazendo necessário o fornecimento de fontes inorgânicas, usualmente o fosfato bicálcico (FB). A suplementação de fontes inorgânicas às dietas para monogástricos somados à baixa disponibilidade do P dos ingredientes usados aumentam a excreção deste ao ambiente, influenciando assim o processo de eutrofização das fontes freáticas, diminuindo sua qualidade e trazendo problemas graves de contaminação ambiental.

O P que se encontra ligado à molécula de ácido fítico pode ser disponibilizado através da ação enzimática de fitases (Ravindran et al., 2000). Embora a atividade da fitase tenha sido detectada no farelo de arroz há 100 anos, foi em 1991 que a enzima foi disponibilizada comercialmente em resposta a uma legislação que limitava o uso de P devido a seu impacto ambiental na Holanda. A restrição ao uso de farinhas de origem animal nas rações para monogástricos aumentou seu uso e o número de trabalhos de pesquisa. Buscando otimizar o aproveitamento do P nos cereais a enzima fitase têm sido identificadas em plantas, microrganismos e em alguns tecidos animais (Selle et al., 2006). Representam um grupo de fosfatases capazes de iniciar a defosforilação do ácido fítico (Greiner e Konietzny, 2006).

As fitases são capazes de hidrolisar um ou mais grupos fosfato produzindo uma série de pequenos ésteres fosfóricos que podem ser absorvidos pelo animal. A União Internacional de Bioquímica tem classificado as fitases em dois grupos, fitase-3 (EC 3.1.3.8) e fitase-6 (EC 3.1.3.6), dependendo da posição no anel do mioinositol onde é iniciada a defosforilação do P. As fitases-3 iniciam a defosforilação na posição 3 e as fitases-6 na posição 6 do fitato. Devido a esta propriedade as fitases-6 sempre fazem a defosforilação completa do fitato, quando comparada à fitase-3 (Wodzinski e Ullah, 1996), no entanto as duas fitases diferem na quantidade de P que pode ser liberado e o pH (Selle et al., 2000).

Usualmente uma dieta para suínos em fase inicial com base em milho e farelo de soja contém aproximadamente 0,3348% de fósforo total (PT), 0,1084% de fósforo disponível (P_{disp}) e 0,2264% de fósforo fítico (P_{fit}). A

adição de 500 FTU de uma fitase comercial disponibiliza em média 0,1% de P do ácido fítico, diminuindo aproximadamente em 35% o fornecimento de P inorgânico. O fosfato bicálcico tem uma disponibilidade de 100% (Rostagno et al., 2011) (18,5% P disponível), com uma liberação de 0,1% de P disponível de 500 FTU de fitase é possível poupar aproximadamente 5,4 a 9,7 kg de fosfato bicálcico/tonelada de ração o que traz uma economia importante para o produtor com a suplementação de fitase.

Atualmente são usadas duas fontes de suplementação de P para os monogástricos: o proveniente das rochas fosfóricas e o dos alimentos de origem vegetal. Estas fontes são diferentes na sua disponibilidade para os animais, mais é possível comparar e determinar a equivalência de P uma por médio da outra (Adeola e Applegate, 2010). Estas metodologias assumem importância devido a que é possível determinar a equivalência do P da fitase pela comparação da resposta obtida pelos parâmetros avaliados com a suplementação de P descrevendo a relação apropriada entre elas com a aplicação de um grupo de equações para obter os valores de equivalência da fitase; este método tem sido demonstrado em muitos estudos (Harper et al., 1997; Augspurger et al., 2003; Adeola et al., 2006; Jednza et al., 2006).

Na literatura são encontrados trabalhos com diferentes respostas por parte dos suínos ao uso de fitases, segundo Singh (2008) fatores como os níveis de nutrientes específicos utilizados nas rações, concentração e fonte de fitato e da proteína na dieta, a taxa de inclusão da fitase, níveis de cálcio e fósforo, aditivos e vitamina D entre outros que podem influenciar tal resposta. Igualmente Adeola e Applegate, (2010) citam que a interpretação dos trabalhos determinando a equivalência do P pode ser influenciada pelo substrato, ingredientes, método utilizado para obter os valores de equivalência, parâmetro utilizado como resposta, idade e tempo experimental, assim como o grau de deficiência utilizado nos experimentos.

Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar o uso de uma fitase de origem bacteriana expressa em *Aspergillus oryzae* (RONOZYME HiPhos, DSM Nutritional Products) em dietas á base de milho e farelo de soja, sobre o desempenho, parâmetros ósseos, digestibilidade aparente do P e bioequivalência do P para suínos em crescimento de 18 a 26 kg utilizando diferentes metodologias.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor da Suinocultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa no período de 23 de fevereiro a 15 de março de 2010.

Foram utilizados 144 suínos (72 machos castrados e 72 fêmeas) com peso médio inicial e final de $16,52 \pm 0,84$ e $29,24 \pm 1,34$ kg respectivamente distribuídos em um delineamento experimental em blocos, sendo 6 tratamentos com 8 repetições e 3 animais por unidade experimental (total de 24 suínos por tratamento).

Os animais foram alojados numa sala de creche de alvenaria, com piso de concreto, dotada de gaiolas metálicas suspensas, medindo $1,60 \times 1,0 \times 0,56$ m, com piso de plástico expandido e laterais de tela metálica, equipadas com comedouros semi-automáticos e bebedouros tipo chupeta.

Foi utilizada uma ração basal a qual atendia as recomendações de Rostagno et al., (2005) para suínos na fase inicial, exceto para fósforo disponível (Pdisp) e cálcio total (CaT) os quais foram ajustados utilizando-se o fosfato bicálcico (FB) e o calcário calcítico obtendo assim valores de 0,157% e 0,803% para Pdisp e CaT respectivamente, igualmente foram adicionados 1.500 UI de vitamina D para atender as exigências dos animais neste nutriente. Nas rações experimentais foi adicionado 1% de Cinza Ácida Insolúvel (CAI) (Celite) como indicador fecal para determinação da digestibilidade aparente do P. Foi utilizada uma fitase de origem bacteriana expressa em *Aspergillus oryzae* para compor os tratamentos 4 até o 6 (500, 1000 e 2000 FYT respectivamente) (Tabela 8).

Tabela 8. Composição das dietas experimentais para suínos na fase inicial.

Ingredientes	Tratamentos					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Milho Grão	60,52	60,52	60,52	60,52	60,52	60,52
Farelo Soja (45%)	32,77	32,77	32,77	32,77	32,77	32,77
Óleo de Soja	2,27	2,27	2,27	2,27	2,27	2,27
Sal Comum	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46
Suplemento Vitaminico ¹	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Suplemento Mineral ²	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
DL-Metionina (99%)	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
L-Lisina HCl (79%)	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
L-Treonina (98%)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Cloreto de Colina 60%	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT	0,01	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
Celite	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Sub-Total	97,72	97,72	97,72	97,72	97,72	97,72
Calcário Calcítico	1,610	1,262	0,913	1,610	1,610	1,610
Fosfato Bicálcico	0,250	0,790	1,331	0,250	0,250	0,250
Amido	0,420	0,228	0,036	0,419	0,418	0,416
Fitase	-	-	-	0,001 ³	0,002 ⁴	0,004 ⁵
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Composição Calculada						
EM, Kcal/Kg	3,244	3,244	3,244	3,244	3,244	3,244
Proteína Bruta, %	20,4	20,4	20,4	20,4	20,4	20,4
Fósforo Total, %	0,385	0,485	0,585	0,385	0,385	0,385
Fósforo Disponível, %	0,157	0,257	0,357	0,157	0,157	0,157
Cálcio Total, %	0,803	0,803	0,803	0,803	0,803	0,803
Composição Analisada						
Proteína Bruta, %	20,42	20,42	20,45	20,43	20,42	20,43
Fósforo Total, %	0,388	0,487	0,588	0,386	0,387	0,387
Cálcio Total, %	0,804	0,805	0,806	0,804	0,804	0,805

¹ Composição por kg de Ração: Vitamina A, 6.875 UI; Vitamina D3, 1.500 UI; Vitamina E, 40,0 UI; Vitamina B1, 1,0mg; Vitamina B2, 3,13mg; Vitamina B6, 2,0 mg; Ácido Pantotênico, 15,0 mg; Biotina, 0,100 mg; Vitamina K3, 3,0mg, Vitamina B12, 0,02 mg; Ácido Nicotínico, 30,0mg, Cloreto de Colina (60%), 0,1%; Antioxidante, 30 g; Selenito de Sódio, 0,36 mg.

² Composição por kg de Ração: Ferro, 80,0 mg; Cobre, 12,0 mg; Manganês, 40,0mg; Zinco, 110 mg; Iodo, 1,0mg; ³ 500 FYT: 10 g/ton, ⁴1000 FYT: 20g/ton, ⁵2000 FYT: 40 g/ton.

Os tratamentos experimentais foram:

T1 Ração Basal baixo P (0,157% P_{disp} e 0,385% P_{total})

T2 Ração Basal + 0,1 % de P_{disp} do FB

- T3 Ração Basal + 0,2 % de Pdisp do FB
- T4 Ração Basal + 500 FYT de Fitase
- T5 Ração Basal + 1000 FYT de Fitase
- T6 Ração Basal + 2000 FYT de Fitase

O período experimental foi de 21 dias onde foram avaliados os parâmetros consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar. Os animais receberam ração e água a vontade. Do 16° ao 21° dia do período experimental foram realizadas diariamente duas coletas de fezes por amostragem, estes dados foram utilizados nas equações adaptadas para determinar a digestibilidade aparente do P em porcentagem (Sakomura e Rostagno, 2007).

Coeficiente de Digestibilidade Aparente do Fósforo (CDAP)

$$\text{CDAP (\%)} = \frac{\% \text{ P dieta} - (\% \text{ P fezes} \times \text{FI})}{\% \text{ P dieta}} \times 100$$

Fator de indigestibilidade (FI)

$$\text{FI} = \frac{\% \text{ CAI dieta}}{\% \text{ CAI fezes}}$$

As análises das amostras foram realizadas no laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia – UFV. A determinação de matéria seca (MS) e de fósforo total foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Silva & Queiroz (2002) e a determinação da CAI foi realizada seguindo a metodologia descrita por Joselyn (1970).

No 21^o dia foi abatido um animal por gaiola (8 suínos por tratamento) para obtenção do metatarso para avaliação de parâmetros ósseos (peso do metatarso seco e desengordurado (g), cinzas do metatarso (% e g) e fósforo do metatarso (% e mg)). A composição química das fontes de fósforo utilizadas foi determinada previamente para possibilitar a adequada formulação das rações experimentais (Tabela 9).

Tabela 9. Conteúdo de fósforo e cálcio total dos ingredientes usados nas rações experimentais para suínos na fase inicial (na matéria natural).

Ingrediente	Fósforo Total, %	Cálcio Total, %
Milho	0,23	0,026
Farelo de Soja (45%)	0,54	0,24
Fosfato Bicálcico	18,52	24,54
Calcário Calcítico	-	38,39

Os dados experimentais foram submetidos a análise de variância utilizando o pacote estatístico SAEG (Universidade Federal de Viçosa). As médias dos parâmetros avaliados dos tratamentos 1 a 3 (níveis de Pdisp) foram utilizadas para a obtenção de uma equação linear (Curva Padrão), posteriormente as médias dos tratamentos 4 a 6, contendo fitase, foram utilizadas para calcular o valor correspondente de P de cada nível de fitase. Os parâmetros dos tratamentos 1, 4, 5 e 6 (níveis de fitase) foram processados estatisticamente mediante uma análise de regressão (Sakomura e Rostagno 2007). O modelo de regressão linear utilizado foi:

$$Y = a + bx_1,$$

Onde Y, corresponde ao parâmetro avaliado, *a* é o intercepto, *b* é a inclinação da reta, e *X* é o nível de suplementação de Pdisp do fosfato bicálcico.

Posteriormente, foi utilizada a metodologia descrita por Jendza et al., (2006) onde os valores significativos foram utilizados na obtenção de equações lineares para cada parâmetro avaliado a partir da suplementação de Pdisp e fitase, e as variáveis dependentes (critérios de resposta) foram utilizadas em equações de regressão contra as variáveis independentes (Pdisp calculado a partir da suplementação do fosfato bicálcico ou da fitase). A equivalência do fósforo da fitase foi determinada igualando as duas equações para a variável independente como um nível equivalente da variável dependente. Exemplo:

Equações Lineares:

$$\text{Eq. 1 } Y(\text{Parâmetro avaliado}) = a_1 + b_1 (\% \text{ Pdisp})$$

$$\text{Eq. 2 } Y (\text{Parâmetro avaliado}) = a_2 + b_2 (\text{FYT/Kg ração})$$

$$a_1 + b_1 (\% \text{ Pdisp}) = a_2 + b_2 (\text{FYT /Kg Ração})$$

$$\% \text{ Pdisp} = \frac{a_2 - a_1 + b_2 (\text{FYT /Kg Ração})}{b_1}$$

Equações Quadráticas:

$$\text{Eq. Y1 (Parâmetro avaliado)} = a_1 + b_1 (\% \text{Pdisp}) + c_1 (\% \text{Pdisp})^2;$$

$$\text{Eq. Y2 (Parâmetro avaliado)} = a_2 + b_2 (\text{FYT /kg Fitase}) + c_2 (\text{FYT /kg Ração})^2;$$

$$\% \text{ Pdisp} = \frac{-b_1 \pm \sqrt{(b_1)^2 - 4a_1(c - Y_2)}}{2a_1}$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As temperaturas médias mínimas e máximas durante o período experimental foram $25^{\circ}\text{C} \pm 1,2$ e $28^{\circ}\text{C} \pm 1,3$, respectivamente.

Na tabela 10, são apresentados os dados de desempenho, características ósseas e de digestibilidade do P de suínos alimentados com diferentes níveis de Pdisp e fitase.

O ganho de peso e a conversão alimentar apresentaram aumento linear ($P < 0,01$) nos níveis de Pdisp do FB (0, 0,1 e 0,2% Pdisp) e de fitase (500, 1000 e 2000 FYT). O consumo de ração apresentou efeito linear ($P < 0,01$) somente para os níveis crescentes de Pdisp, não mostrando efeito significativo para os níveis de fitase.

Tabela 10. Parâmetros de desempenho, características ósseas e de digestibilidade do fósforo de suínos alimentados com diferentes níveis de fósforo disponível e de fitase

Parâmetros Avaliados	Níveis P disp do FB, %			Níveis de Fitase FYT			P		CV, % ³	Fitase		CV, % ³
	0	0,1	0,2	500	1000	2000	R ²			R ²		
							L ¹	Q ²		L ¹	Q ²	
Desempenho												
Ganho de Peso	645	725	812	695	718	749	0,99	NS	10,35	0,99	NS	11,68
Consumo de Ração	1,583	1,565	1,697	1,501	1,510	1,545	0,78	NS	5,66	NS	NS	11,88
Conversão Alimentar	2,44	2,18	2,10	2,16	2,12	2,08	0,91	NS	8,47	0,98	NS	11,87
Características Ósseas (Metatarso)												
Peso metatarso, g	718	784	879	740	811	883	0,99	NS	3,59	0,76	0,99	4,36
Cinza, %	52,43	53,66	56,39	52,51	54,48	54,63	0,96	NS	2,25	0,71	0,83	1,20
Cinza, g	377	421	496	389	442	483	0,98	NS	4,71	0,76	0,98	4,57
Fósforo, %	9,736	9,808	10,581	10,136	10,331	10,541	0,81	NS	3,29	0,99	NS	2,60
Fósforo, mg	69,908	76,977	92,946	74,927	83,758	93,043	0,95	NS	4,60	0,83	1,00	4,15
Digestibilidade Aparente do P, %												
Digestibilidade	39,44	50,17	72,45	50,27	60,68	69,48	0,96	1,00	3,62	0,95	1,00	3,27

¹ L = Efeito Linear (P < 0,01)

² Q = Efeito Quadrático (P < 0,01)

³ CV = Coeficiente de Variação

NS = Efeito Não Significativo

As características ósseas peso do metatarso (g), cinza (g e %) e P (g e mg) apresentaram aumento linear ($P < 0,01$) com os níveis de Pdisp. Foi observado efeito quadrático ($P < 0,01$) com o aumento nos níveis de fitase a exceção da deposição de P em porcentagem. Foi observado efeito linear ($P < 0,01$) e quadrático ($P < 0,01$) na digestibilidade aparente do P ao fornecimento de Pdisp e de fitase.

Observou-se que a suplementação de 0,1 e 0,2% de Pdisp do FB melhoram o ganho de peso em 12 e 26%, a conversão alimentar em 12 e 16%, o peso do metatarso, g em 9 e 22%, a cinza, % em 2 e 5%, a cinza, g em 12 e 32%, o P, % em 0,7 e 8% o P, mg em 10 e 33%, e a digestibilidade aparente do P em 27 e 84% respectivamente em comparação á ração basal. No entanto o consumo de ração foi somente influenciado com a adição de 0,2% de Pdisp em 7,2% em comparação á ração basal. De maneira semelhante o fornecimento de 500, 1000 e 2000 FYT melhoram o ganho de peso (8, 11 e 16%), a conversão alimentar (13, 15 e 17%), o peso do metatarso, g (3, 13 e 23%), a cinza, % (0,1, 3,9 e 4,2%), a cinza, g (3, 17 e 28%), o P, % (4, 6 e 8%) o P, mg (7, 20 e 33%), e a digestibilidade aparente do P (27 54 e 76%) respectivamente em comparação á ração basal sem a adição de fitase.

Os resultados são similares aos verificados por Jednza et al., (2006) que observaram aumento no ganho de peso, na deposição de cinza no metatarso e na digestibilidade aparente do P com o aumento dos níveis de P e de fitase, não sendo observado efeito significativo para o consumo de ração. Já Kornegay e Quian (1996) verificaram efeito linear para o consumo de ração para o ganho de peso, a eficiência alimentar, a digestibilidade aparente de P e a deposição de cinza, com o aumento do nível de P. Do mesmo modo os autores observaram aumento linear com a adição de fitase para o ganho de

peso eficiência alimentar, digestibilidade aparente do P e deposição de cinza.

Os resultados concordam com Steiner et al., (2006) que verificaram que a suplementação 550 U/kg de fitase aumentou a digestibilidade do P 22,6% em comparação ao tratamento controle sem a adição de fitase.

Nos resultados encontrados de digestibilidade do P, Kerr et al., (2010) avaliaram o efeito de diferentes fontes de fitase (Natuphos, OptiPhos, Phyzyme e RonozymeP) sob a digestibilidade do P, e verificaram que a fitase RonozymeP embora tenha mostrado efeito linear na digestibilidade do P com o aumento nos níveis de fitase, liberam 0,03% de Pdisp com o uso de 500 FTU.

Valores menores aos verificados na presente discussão com a utilização da enzima Ronozyme Hiphos (0,07% Pdisp) são diferentes daqueles determinados por Poulsen et al., (2007) o quais verificaram melhoras na digestibilidade do fósforo com a adição de fitase (250, 500 e 750 FTU) em 27, 42 e 53% respectivamente. Da mesma forma, Augspurger e Uglade (2009) comparando diferentes fontes de fitase observaram aumento na digestibilidade do P em 0,05; 0,10; 0,04 e 0,03% para 500 U de fitase/kg de ração para as fitases Natuphos, Optiphos, Phyzyme XP e Ronozyme, respectivamente, em comparação á ração basal.

Nos últimos anos as pesquisas avaliando os efeitos das fitases sobre os parâmetros produtivos em suínos têm aumentado e mostrado melhoras no desempenho (Varley et al., 2010), na digestibilidade do Ca e do P com a adição de fitase. Entretanto, muitas destas pesquisas são inconsistentes e alguns vezes conflitantes (Poulsen et al., 2010), colocando em evidencia que são vários os fatores que afetam a resposta ao fornecimento de fitases e devem ser considerados no momento de interpretar estes resultados.

A variabilidade entre as respostas das fitases citada na literatura em comparação á determinada nesta pesquisa podem ser devido a diversos fatores como os ressaltados por Kornegay (2001) onde o nível dietético de P disp, vitamina D, Ca, relação Ca:P e status fisiológico do animal podem afetar estas respostas. Da mesma forma, Singh (2008) ressaltaram que a concentração e fonte de fitato e da proteína, nível de inclusão da fitase e o uso de aditivos entre outros também podem influenciar estas respostas. De acordo com Steiner et al., (2006) as propriedades químicas das fitases aumentam a variação nas respostas observadas. Entretanto, Liao et al., (2005) citam que a

variabilidade na composição das dietas experimentais é um dos principais fatores que afetam a resposta ao fornecimento de fitase nos animais. Segundo, Johansen e Poulsen (2003), o efeito da fitase em suínos apresenta uma maior eficácia quando são adicionados a dietas baseadas em milho e farelo de soja em comparação a dietas baseadas em trigo e cevada, o que pode explicar em parte a variabilidade observada nos trabalhos, como os valores citados por Kornegay e Quian (2007) onde avaliaram a resposta ao fornecimento de 250, 500, 750 e 1000 U fitase/kg de ração em animais em crescimento e verificaram valores de liberação do P fítico de 42, 66, 82 e 91% de P. Yi et al., (1994) determinaram valores de 40, 64, 83 e 93% de P fítico ao fornecimento de 250, 500 e 1000 U fitase/kg de ração.

Diversas pesquisas têm demonstrado que existe interação entre os níveis de inclusão de fósforo dietético e o fornecimento de fitase em dietas para monogástricos. Selle et al., (2007) explicaram que este fenômeno é devido possivelmente a três causas: 1) o P inorgânico produto final da hidrólise do fitato inibe fortemente a atividade catalítica da fitase, 2) o aumento na liberação de P induzido pela fitase pode levar a um desequilíbrio Ca/P no trato gastrointestinal e 3) a alta inclusão de fitase pode alterar possivelmente o balanço eletrolítico devido á influência na secreção de sódio no lúmen intestinal.

Outro fator que pode afetar a eficácia das fitases são as fontes de cálcio dietético, principalmente o calcário calcítico o qual tem a capacidade de aumentar o pH reduzindo assim a solubilidade do fitato e a eficácia das fitases (Selle e Ravindran, 2008). Além disto, Kornegay and Quian (1996) relataram que uma maior relação Ca:P pode diminuir também a ação das fitases devido uma vez que: 1) Ca se liga ao fitato formando um complexo insolúvel diminuindo o aceso da fitase e 2) o Ca extra pode competir diretamente com os sítios ativos da enzima. Da mesma forma, Liu et al., (2000) reportam que a eficácia da fitase pode diminuir quando a concentração de Ca é 2 ou mais vezes que a de P. Liu et al., (2000) aumentando a relação Ca:P de 1,0 para 1,5:1 observaram redução na absorção ileal do P de 4,5 para 2,2 g/dia em suínos alimentados com dietas com baixos níveis de P e suplementados com fitase. Da mesma forma Adeola et al., (2006) diminuiu a relação Ca:P de 1,8 para 1,2 e observou melhora no ganho de peso em 17,3% e na eficiência

alimentar em 35,2%.

A idade dos animais é uma característica que também pode influenciar os valores de digestibilidade do P. Fernandez (1995) e Kemme et al., (1997) sugeriram que a digestibilidade do P melhora em aproximadamente 8% quando o peso vivo dos suínos aumenta de 30 a 60 kg, depois deste peso os valores permanecem estáveis até os 100 kg de peso vivo. Os mesmo autores observaram diferenças na equivalência do P em animais com diferente status fisiológico, obtendo resultados de 0,066; 0,083; 0,032 e 0,074% para animais desmamados, em crescimento, porcas lactantes e gestantes respectivamente.

Assim, Kemme et al., (1997) citam que as diferenças observadas na digestibilidade do P entre as fases de crescimento podem ser causadas pela combinação de diferenças nas exigências e perdas endógenas do P. Além disto a maior eficácia da fitase observada em animais adultos em comparação aos animais jovens é devido as fitases exercerem maior efeito nas condições de pH do estômago o qual varia dependendo da idade. Os mesmos autores citam que na formulação de dietas para suínos jovens são usados ingredientes com baixos níveis de fitato (milho e farelo de soja) o que pode resultar em um substrato não ótimo para a fitase diminuindo a digestibilidade do Ca e P.

Steiner et al., (2006) sugeriram que melhoria na digestibilidade do Ca e do P com o aumento no consumo pode ser atribuídos às mudanças nas condições gástricas de pH. Assim uma alimentação restrita favorece um baixo pH gástrico (pH 2,8) a diferença do pH obtido com uma alimentação a vontade (pH 4,4) este último está mais perto das condições ótimas de pH na hidrolise do fitato por parte da fitase (*Penicillium*), o que pode explicar em parte a pouca influência do consumo de ração sob os valores de digestibilidade do P observados neste trabalho. A diferença do verificado por Steiner et al., (2006) observando efeito positivo e linear do nível de consumo sobre a digestibilidade do Ca e do P. Mroz et al. (1994) verificaram um aumento moderado mas não significativo na digestibilidade aparente do P com o aumento no consumo de ração o que foi atribuído possivelmente ao rápido esvaziamento gástrico e ao curto tempo de retenção da digesta no intestino delgado com o aumento no consumo de ração. Igualmente, Paditz et al. (2004) considerarem que o nível de consumo pode influenciar a eficiência da fitase para hidrolisar o P fítico em dietas para suínos.

Na determinação da digestibilidade são utilizadas diferentes metodologias: coleta total de excretas e o uso do indicador fecal. Dentre os indicadores fecais são utilizados o óxido crômico, cinza acida insolúvel e óxido de titânio. Embora o óxido crômico seja o indicador mais utilizado na determinação da digestibilidade, Sakomura e Rostagno (2007) ressaltaram que existe variabilidade entre os resultados obtidos com o uso deste o que pode ser atribuído a fatores como a incompleta recuperação do óxido crômico na excreta e a dificuldade para reproduzir estes resultados em diferentes laboratórios. Igualmente Selle e Ravindran (2007) citam que a distribuição do óxido crômico na digesta durante o transito gastrintestinal é menor, assim a taxa de passagem do cloreto de cromo é maior devido á sua associação com a parte aquosa da digesta. Também é possível que o aumento no consumo de ração devido á adição de fitase influencie a taxa de passagem e conseqüentemente a digestibilidade. Segundo Yin et al., (2000) a variabilidade nos resultados com o uso de óxido crômico assim como a sua baixa recuperação é atribuída a problemas analíticos devido á presença de P e de outros minerais na digesta.

Nas tabelas 11 e 12, são apresentados os valores equivalentes em P disp (%) do FB e da fitase para os parâmetros produtivos, características ósseas e de digestibilidade para suínos em crescimento utilizando a metodologia da curva padrão e através de equações lineares respectivamente. Igualmente, nos gráficos 5 e 6 estão apresentadas as equações logarítmicas e os valores de P disp estimados para a adição de 500, 1000 e 2000 FYT de fitase.

Na tabela 13, são apresentados os valores médios equivalentes de P disp (%) do FB usando metodologias da curva padrão e de equações lineares para suínos na fase inicial. No gráfico 7 é apresentada a equação logarítmica e os valores médios estimados de equivalência de P disp pelas metodologias empregadas para a adição de 500, 1000 e 2000 FYT de fitase.

Tabela 11. Valores equivalentes do Pdisp de uma fitase expressa em *Aspergillus oryzae* para parâmetros de desempenho, características ósseas e de digestibilidade utilizando a metodologia da curva padrão.

Parâmetros Avaliados	Equações Curva Padrão		%Pdisp Equivalente Fitase		
			500 FYT	1000 FYT	2000 FYT
Desempenho					
Ganho de Peso	$Y = 0,643 + 0,835 X (\%Pdisp)$	$R^2 = 0,99$	0,062	0,089	0,127
Consumo de Ração ¹	$Y = 1,558 + 0,0057 X (\%Pdisp)$	$R^2 = 0,63$	- 0,1	0,084	0,023
Conversão Alimentar	$Y = 2,41 - 1,70 X (\%Pdisp)$	$R^2 = 0,91$	0,147	0,170	0,194
Características Ósseas (Metatarso)					
Peso, g	$Y = 0,713 + 0,805 X (\%Pdisp)$	$R^2 = 0,99$	0,033	0,121	0,211
Cinza, %	$Y = 52,18 + 19,8 X (\%Pdisp)$	$R^2 = 0,96$	0,020	0,116	0,123
Cinza, g	$Y = 0,371 + 0,595 X (\%Pdisp)$	$R^2 = 0,98$	0,030	0,119	0,188
Fósforo, %	$Y = 9,619 + 4,225 X (\%Pdisp)$	$R^2 = 0,81$	0,122	0,168	0,218
Fósforo, mg	$Y = 68,42 + 115,1 X (\%Pdisp)$	$R^2 = 0,95$	0,056	0,133	0,214
Digestibilidade P					
Digestibilidade Aparente, %	$Y = 37,51 + 165 X (\%Pdisp)$	$R^2 = 0,96$	0,077	0,140	0,193
Média			0,068	0,132	0,184

¹ Valores não utilizados

Gráfico 5. Equação Logarítmica (Ln) dos valores médios estimados de equivalência do P disp para uma fitase expressa em *Aspergillus orizae*, utilizando a metodologia da curva padrão

Y (P disp do FB)= - 0,45 + 0,083 LnX (Fitase); R²=0,996.

Valores estimados pela equação: Equivalência de %P disp expressa em *Aspergillus orizae*: 500 FYT/kg =0,066% de Pdisp; 1000 FYT /kg =0,123% de Pdisp; 2000 FYT /kg =0,181% de P disp

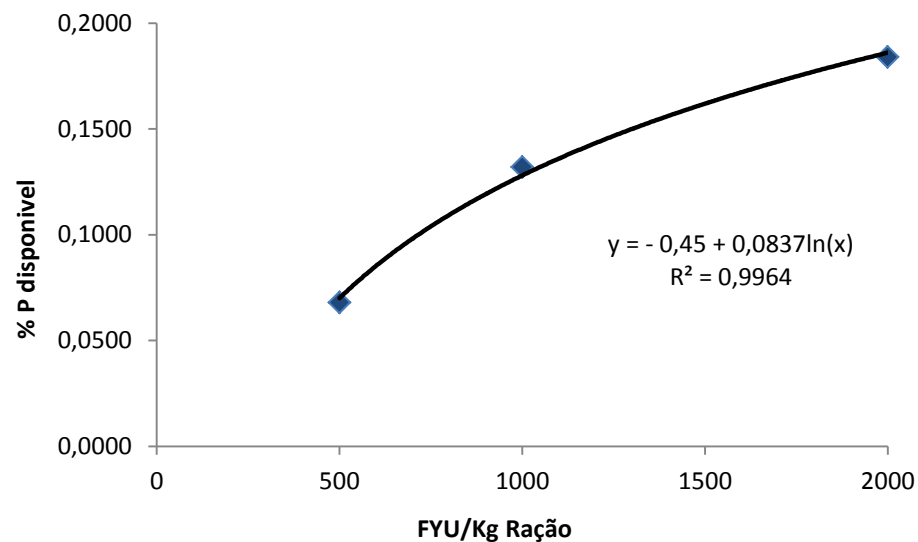


Tabela 12. Valores equivalentes do Pdisp de uma fitase expressa em *Aspergillus orizae* para parâmetros de desempenho, características ósseas e de digestibilidade igualando duas equações lineares.

Variável	Equação Pdisp	Equação Fitase	% Pdisp Equivalente Fitase		
			500	1000	2000
Desempenho					
Ganho de Peso	$Y=643,83+8,35X$ (%Pdisp), $R^2=0,99$	$Y= 658,8 + 4,9086X$ (Fit), $R^2= 0,91$	0,0485	0,0781	0,1372

Conversão Alimentar	$Y=2,41-0,017X$ (%Pdisp), $R^2=0,91$	$Y= 2,336 - 0,0155X$ (Fit), $R^2=0,66$	0,0891	0,1347	0,2259
Características Ósseas (Metatarso)					
Peso, g	$Y=713,17+8,05X$ (%Pdisp), $R^2=0,99$	$Y= 712,4 + 8,64X$ (Fit), $R^2=0,97$	0,0529	0,1066	0,2139
Cinza, %	$Y=52,18+0,198X$ (%Pdisp), $R^2=0,96$	$Y= 51,405 + 0,85X$ (Fit), $R^2= 0,85$	0,0444	0,0747	0,1354
Cinza, g	$Y=371,83+5,95X$ (%Pdisp), $R^2=0,98$	$Y= 373,6 + 5,6171X$ (Fit), $R^2= 0,95$	0,0516	0,0988	0,1933
Fósforo, %	$Y=9,619+0,042X$ (%Pdisp), $R^2=0,81$	$Y= 9,854 + 0,0379X$ (Fit), $R^2= 0,89$	0,1005	0,1453	0,2350
Fósforo, mg	$Y=68,425+1,152X$ (%Pdisp), $R^2=0,95$	$Y= 70,059 + 1,183X$ (Fit), $R^2= 0,98$	0,0655	0,1168	0,2193
Digestibilidade Aparente de P					
Digestibilidade, %	$Y=37,515+1,651X$ (%Pdisp), $R^2=0,96$	$Y= 42,012 + 1,4806X$ (Fit), $R^2=0,95$	0,0721	0,1170	0,2067
Media			0,0656	0,1090	0,1958

Gráfico 6. Equação Logarítmica (Ln) dos valores médios estimados de equivalência do P disponível para uma fitase expressa em *Aspergillus orizae*, através de duas equações lineares.

$$Y (\text{P disp do FB}) = - 0,5253 + 0,0939 \text{ LnX (Fitase)}; R^2=0,964.$$

Valores estimados pela equação: Equivalência de %Pdisp de uma fitase expressa em *Aspergillus orizae*: 500 FYT /kg =0,060% de Pdisp; 1000 FYT /kg =0,123% de Pdisp; 2000 FYT /kg =0,188% de Pdisp

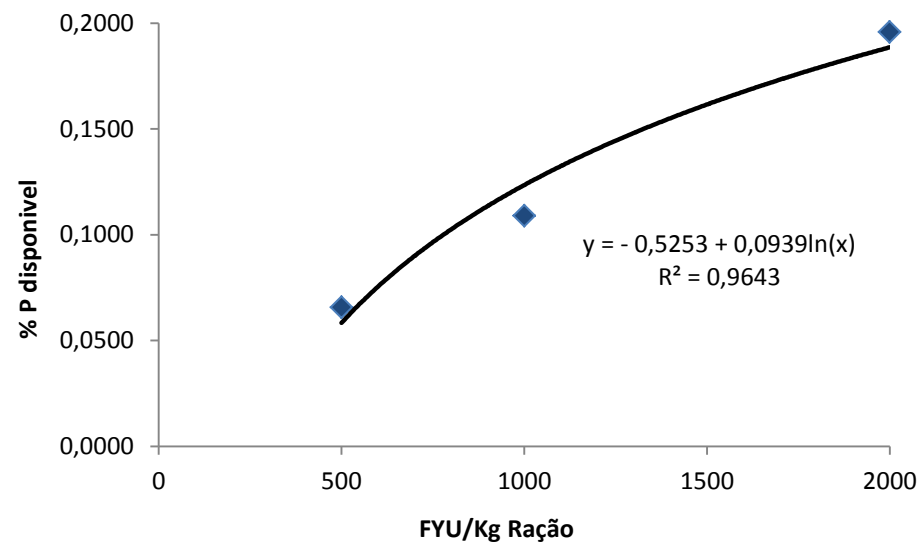


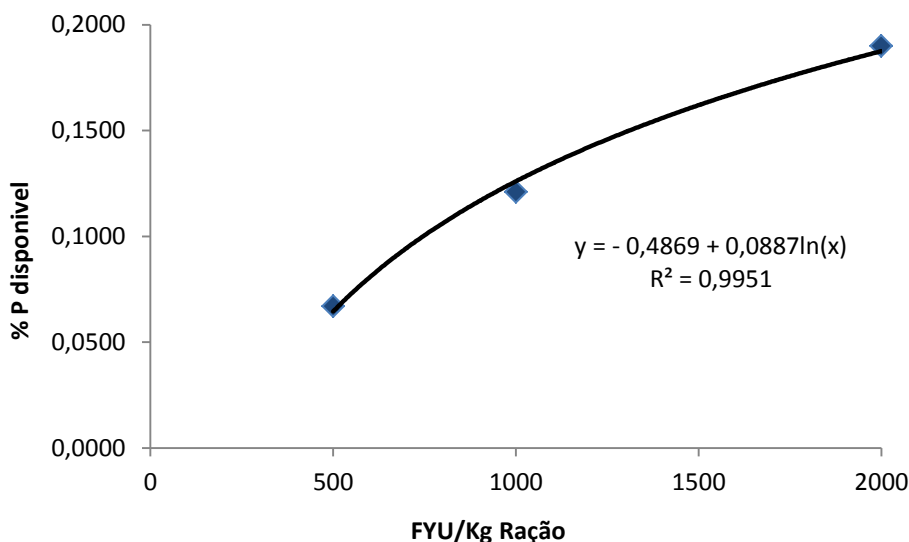
Tabela 13. Valores médios das metodologias utilizadas na obtenção dos dados de equivalência do Pdisp (%) de uma fitase expressa em *Aspergillus orizae* para suínos

Metodologias	% Pdisp Equivalente Fitase		
	500 FYT	1000 FYT	2000 FYT
Curva Padrão	0,068	0,132	0,184
Equações Lineares	0,066	0,109	0,196
Media	0,067	0,121	0,190

Gráfico 7. Equação Logarítmica (Ln) dos valores médios estimados de equivalência do P disp para uma fitase expressa em *Aspergillus orizae*, obtida pela metodologia da curva padrão e de equações lineares.

$$Y (\text{P disp do FB}) = - 0,4869 + 0,0887 \text{ LnX (Fitase)}; R^2 = 0,995.$$

Valores estimados pela equação: Equivalência de %P disp de uma fitase expressa em *Aspergillus orizae*: 500 FYT/kg = 0,064% de Pdisp; 1000 FYT/kg = 0,126% de Pdisp; 2000 FYT/kg = 0,187% de Pdisp



Para a obtenção das equações da curva padrão e de equações lineares os valores de Pdisp (0, 0,1 e 0,2) foram transformados (0, 10 e 20) para facilitar a obtenção destas. Embora o consumo de ração apresentou efeito linear para os níveis crescentes de P, não foram utilizados os valores obtidos pela curva padrão devido ao R^2 baixo em comparação ao dos outros parâmetros avaliados com valores de R^2 acima de 0,81.

De acordo com a curva padrão obteve-se a equação logarítmica: $Y = -0,45 + 0,0837 \ln(X)$, $R^2 = 0,99$, onde os valores de x são os níveis de fitase. Os valores de equivalência em porcentagem do Pdisp obtidos por esta equação foram: 0,066; 0,123 e 0,181% para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente.

Com a utilização de equações lineares foi obtida a seguinte equação logarítmica $Y = -0,5253 + 0,0939 \ln(x)$, $R^2 = 0,96$, obtendo valores de 0,060; 0,123 e 0,188% para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente.

Utilizando os valores médios dos dois métodos foi desenvolvida uma equação única que representasse o modelo da curva padrão e a equação linear, sendo $Y = -0,4869 + 0,0887 \ln(x)$, $R^2 = 0,99$, obtendo valores de 0,0643; 0,126 e 0,187% de Pdisp para 500, 1000 e 2000 FYT, respectivamente para uma fitase expressa em *Aspergillus oryzae*.

Com a adição de 500 FYT foram liberados em média 0,067% de Pdisp do fosfato bicálcico, no entanto com a adição de +500FYT (1000 FYT) foram liberados 0,054% de Pdisp e com a adição de +1000 FYT (2000 FYT) foram liberados 0,069% mostrando que a adição de fitase não apresenta uma

resposta geométrica.

São muitos os fatores a serem considerados no momento da interpretação dos dados de equivalência do P, dentre eles, Selle e Ravindran (2007) afirmaram que variações na dieta basal, principalmente na relação Ca:P, origem e concentração do P fítico, a fonte do fósforo inorgânico e a fitase utilizada nas pesquisas contribuem nas diferenças entre os trabalhos, os mesmos autores citaram que estes valores usualmente são obtidos de dietas com base em milho e farelo de soja e outro ingrediente ou dietas purificadas aumentando assim a variabilidade nos resultados. Além disto, a extrapolação de resultados destes trabalhos onde são fornecidas dietas deficientes de P a dietas praticas com níveis adequados de P é questionável.

De acordo com Adeola e Applegate (2010) as unidades de fitase utilizadas nos experimentos dificultam a comparação entre os valores citados por alguns autores, devido a que as unidades de fitase usadas diferem nas características químicas principalmente, no pH o qual aumenta a possibilidade de superestimar ou subestimar estas comparações. Da mesma forma Kornegay et al., (1996) consideram que a escolha do critério resposta na obtenção destes valores estão baseados na importância econômica destes, assim são utilizados normalmente o ganho de peso e a deposição de cinza no metatarso, outros nos valores de R^2 , no entanto tem que ser considerados os fatores que interferem nas respostas observadas.

Rosen (2002) adverte que o modelo utilizado no processamento dos dados é importante na interpretação deles. Angel et al., (2002) conduziu cinco experimentos com frangos de corte utilizando a mesma matriz nutricional, fonte de P inorgânico, tempo experimental, fonte de fitase, idade e genética dos animais, com valores de equivalência do P de 0,1% baseado na cinza no osso observando uma variabilidade entre 781 e 1413 FTU/kg ração. Igualmente, Augspurger e Uglade (2009) utilizando a curva padrão para comparar diferentes fontes de fitase, os autores concluíram que o P equivalente do fosfato monosódico para a fitase Optiphos foi de 0,133; 0,144 e 0,195% para 250, 500 e 1000 FTU.

O nível de P assim como o grau de deficiência da ração basal associado ao parâmetro avaliado e ao tempo experimental aumenta a dificuldade para comparar os resultados. Experimentos avaliando o crescimento de animais em um curto período de tempo podem subestimar os valores de equivalência do P devido ao ganho de peso não ser o parâmetro mais sensível às variações de P, além da influência dos fatores extrafosfóricos das fitases poderem influenciar estes valores, a diferença da avaliação da deposição de cinza no osso a qual é mais sensível às variações do P dietético (Adeola e Applegate, 2010). Da mesma forma Yi et al., (1996) ressaltaram que dietas deficientes em P, muito próximas das exigências dos animais, vão apresentar efeito não linear quando comparadas às respostas observadas em animais alimentados com dietas mais deficientes.

Jendza et al., (2006) relataram valores de equivalência do P do fosfato monossódico para 500 FTU de 0,049 e 0,1004 % de P_{disp} para o ganho de peso e o conteúdo de cinza nos ossos respectivamente. Da mesma forma, Harper et al., (1997) determinaram que 500 FTU equivalem a 0,087% de P_{disp} baseados no ganho de peso e digestibilidade do P do fosfato monobásico e 0,096% de P_{disp} baseado no ganho de peso, digestibilidade do P e força de quebra do osso para o fosfato monobásico. Adeola et al., (2006) comparando a resposta de várias fitases baseado na deposição de cinza no osso, citaram para 500 FTU 0,0572% e 0,0770% de P_{disp} para *Peniphora lycii* e *Escherichia coli* respectivamente do fosfato monossódico. Augspurger et al., (2003) comparando a resposta da *Peniphora lycii*, *Escherichia coli* e *Aspergillus niger* determinarem 0,043% P_{disp}; 0,081% P_{disp} e 0,108% P_{disp} para 400 FTU baseado na resposta de deposição de cinza no osso do fosfato monopotássico.

Segundo, Selle e Ravindran (2008), vários parâmetros são usados para determinar a equivalência do P na adição de fitase em suínos. Geralmente estes estudos usam níveis de fósforo inorgânico e/ou de fitase exógena adicionados a uma dieta basal deficiente em P. São avaliadas as respostas no desempenho dos animais (ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar), parâmetros ósseos (deposição de cinza e P e força de quebra do osso) e de digestibilidade para calcular estes valores. Os mesmos autores

afirmam que os resultados obtidos através de parâmetros de desempenho podem trazer confusão devida às características extrafosfóricas da fitase o que pode aumentar os valores de equivalência do P obtidos.

Neste trabalho foram usados os parâmetros de ganho de peso, conversão alimentar, parâmetros ósseos (cinza (% e g), P (% e mg)) assim como a digestibilidade aparente do P para calcular os valores de equivalência do P contrastando com trabalhos citados anteriormente onde foram usados os ganhos de peso, a digestibilidade aparente do P. Diferentes fontes de fósforo inorgânico usadas nas rações e a idade dos animais usados nos experimentos e o modelo matemático utilizado também explicam em parte os valores de equivalência distintos obtidos por diferentes autores (Harper et al., 1997).

CONCLUSÕES

O aumento do fósforo disponível proveniente do fosfato bicálcico em dietas deficientes em fósforo para suínos melhoram o desempenho dos animais, as características ósseas e a digestibilidade do fósforo.

Os valores médios de equivalência do fósforo obtidos pela equação logarítmica resultante do método da curva padrão e de equações lineares são: 0,064; 0,126 e 0,187% de P disponível para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente para a fitase Ronozyme HiPhos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ADEOLA, O AND APPLGATE, T.J. Phosphorus and Calcium Equivalency of Phytase. **Proceedings of de 1st International Phytase Summit**. Washington, D.C. 2010

ADEOLA, O., OLUKOSI, O.A., JEDNZA, J.A., DILGER, R.N., BEDFORD, M.R. Reponse of Growing Pigs to Peniphora lycii and Escherichia coli Derived Phytases or Varying Ratios of Calcium to Total Phosphorus. **Animal Science**. 82, 637-644. 2006.

ANGEL, R AND APPLGATE, T. Phytase Use – What Do We Know?. **Proceedings of the 62nd Minnesota Nutrition Conference**, pp: 1-15.2002

AUGSPURGER, N. R., D. M. WEBEL, X. G. LEI, AND D. H. BAKER. Efficacy of an *E. coli* Phytase Expressed in Yeast for Releasing Phytate-Bound Phosphorus in Young Chicks and Pigs. **Journal Animal Science**. 81:474–483. 2003.

AUGSPURGER, N.R AND UGALDE, E. Comparative Phytase Utilization in Pigs and Broiler Chikens. Congresso Sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos. **CBNA**. Campinas, SP. 2009

BEDFORD, M.R AND COWIESON, A.J Phytase and Phytate Interactions. **17TH European Symposium on Poultry Nutrition**. Edinburg-Scotland. 2009

BEDFORD, M.R AND PATRIDGE, G.G. (Eds.) **Enzymes in Farm Animal Nutrition 2nd Edition**.CABI, Oxfordshire, OX108 DE, England. 2010.

COON, C.N., S. SEO, AND M.K. MANANGI. The determination of retainable phosphorus, relative biological availability, and relative biological value of phosphorus sources for broilers. **Poultry Science**. 86:857-868. 2002

COWIESON, A.J., WILCOCK, P. AND BEDFORD, M.R. Super-Dosing Effects of Phytase in Poultry and Other Monogastrics. **World's Poultry Science Journal**. Vol. 67, June 2011.

FERNANDEZ, J. A. Calcium and Phosphorus Metabolism in Growing Pigs. I. Absorption and Balance Studies. **Livestock Production Science**. 41:233–241. 1995.

GENTILE, J.M., RONEKER, K.R., CROWE, S.E., POND, W.G AND LEI, X.G. Effectiveness of an Experimental Consensus Phytase in Improving Dietary Phytate-Phosphorus Utilization by Weanling Pigs. **Journal Animal Science**, 81:2751-2757. 2003.

GREINER, R. AND KONIETZNY, U. Phytase for Food Application. **Food Technol. Biotechnol**. 44:125-140. 2006

HARPER, A. F., E. T. KORNEGAY, And T. C. SCHELL. Phytase Supplementation of Low-Phosphorus Growing-Finishing Pig Diets Improves Performance, Phosphorus Digestibility and Bone Mineralization and Reduces Phosphorus Excretion. **Journal Animal Science**. 75:3174–3186. 1997.

JENDZA, J. A., R. N. DILGER, J. S. SANDS, And O. ADEOLA, Efficacy and Equivalency of an *Escherichia coli*-Derived Phytase for Replacing Inorganic Phosphorus in the Diets of Broiler Chickens and Young Pigs. **Journal Animal Science**. 84:3364–3374. 2006.

JOHANSEN, K., POULSEN, H.D. **Substitution of Inorganic Phosphorus in Pig Diets by Microbial Phytase Supplementation —A Review**. Pig News Inf. 24, 77N–82N. 2003.

JOSELYN, M.A. **Methods in Food Analysis** (Physical, Chemical and Instrumental Methods of Analysis). New York e Londres: Academic Press, 1970.

KEMME, P. A., A. W. JONGBLOED, Z. MROZ, And A. C. BEYNEN. The Efficacy of *Aspergillus niger* phytase in Rendering Phytate Phosphorus Available for Absorption in Pigs is Influenced by Pig Physiological Status. **Journal Animal Science**. 75:2129–2138. 1997.

KERR, B.J., WEBER, T.E., MILLER, P.S., SOUTHERN, L.L. Effect of Phytase on Apparent Total Tract Digestibility of Phosphorus in Corn-Soybean Meal Diets Fed to Finishing Pigs. **Journal Animal Science**. 88:238-247. 2010.

KIES, A. K., P. A. KEMME, L. B. J. SEBEK, J. TH. M. VAN DIEPEN, And A. W. JONGBLOED. Effect of Graded Doses and a High Dose of Microbial Phytase on the Digestibility of Various Minerals In Weaner Pigs. **Journal of Animal Science**. 84:1169–1175. 2006.

KORNEGAY, E.T., QIAN, H. Replacement of Inorganic Phosphorus by Microbial Phytase for Young Pigs in a Maíz-Soyabean-Meal Diet. **British Journal of Nutrition**. V76:563-578. 1996.

KORNEGAY, E. T. **Digestion of Phosphorus and Other Nutrients: The Role of Phytases and Factors Influencing Their Activity**. Pages 237–371 in *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. M. R. Bedford and G. C. Partridge, ed. CABI Publishing, Marlborough, UK. 2001.

LEI, X.G., STAHL, C.H. Nutritional Benefits of Phytase and Dietary Determinants of its Efficacy. **Journal Applied Animal Research**. 17, 97-112. 2000.

LIAO, S. F., W. C. SAUER, A. K. KIES, Y. C. ZHANG, M. CERVANTES, And J. M. HE. Effect of Phytase Supplementation to Diets for Weanling Pigs on the Digestibilities of Crude Protein, Amino Acids, and Energy. **Journal Animal Science**. 83:625–633. 2005.

LIU, J., BOLLINGER, D.W., LEDOUX, D.R And VEUM, T.L. Effects of Dietary Calcium:Phosphorus Ratios on Aparent Absortion of Calcium and Phosphorus in The Small Intestine, Cecum and Colon of Pigs. **Journal of Animal Science**. 78:106-109. 2000.

MROZ, Z., A. W. JONGBLOED, And P. A. KEMME. Apparent Digestibility and Retention of Nutrients Bound to Phytate Complexes as Influenced by Microbial Phytase and Feeding Régimen in Pigs. **Journal Animal Science**. 72:126-132. 1994

ONYANGO, E.M., ASEM, E.K., SANDS, J.S. And ADEOLA, O. Dietary Phytates Increase Endogenous Losses in Ducks and Chickens. **Journal of Animal Science** 82 (Suppl.): 149-150. 2004.

PADITZ, K., KLUTH, H AND RODEHUTSCORD, M. Relationship Between Graded Doses of Three Microbial Phytases and Digestible Phosphorus in Pigs. **Journal of Animal Science**. 78: 429-438. 2004.

POULSEN, H.D., BLAABJERG, K., FEUERSTEIN, D. Comparison of Different Levels and Sources of Microbial Phytases. **Livestock Production**. 109, 255–257. 2007.

POULSEN, H.D., CARLSON, D., NORGAARD, J.V., BLAABJERG, K. Phosphorus Digestibility is Highly Influenced by Phytase but Slightly by Calcium in Growing Pigs. **Livestock Science**. 134-100-102. 2010.

RAVINDRAN, V., CARBAHUG, S., RAVINDRAN, G., SELLE, P.H AND BRYDEN, W.L. Response of Broiler Chickens to Microbial Phytase Supplementation as Influenced by Dietary Phytuc Acid and Non-Phytate Phosphorus Levels. II. Effects on Apparent Metabolizable Energy, Nutrient Digestibility and Nutrient Retention. **British Poultry Science**. 41:193-200. 2000

ROSEN, G. Multifactorial Analyses of the Effects ofr Microbial Phytase in Broiler Nutrition. **Proceedings 49th Maryland Nutrition Conference**. 49:88-101. 2002

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos**. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. Viçosa: UFV, 2005. 141p.

ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T., DONZELE, J.L. et al. **Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos: Composição de Alimentos de Exigências Nutricionais.** Viçosa, MG: UFV, 2011. 186 P.

SAKOMURA NK, ROSTAGNO HS. **Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos.** Editor FUNEP, Jaboticabal. 2007.

SALES J., JANSSENS G.P.J. Acid-Insoluble Ash as a Marker in Digestibility Studies: A Review (Abstract). **Journal Animal Feed Science.**, V. 12, P.383-401. 2003.

SELLE, P.H., RAVINDRAN, V., CALDWELL, R.A AND BRYDEN, W.L. Phytate and Phytase: Consequences for Protein Utilization. **Nutrition Research and Review.** 13:255-278.2000

SELLE, P.H., CRESWELL, D.C., CADAGON, D.J., PARTRIDGE, G.G. And SCOTT, T.T. Phytase Supplementation of Wheat Based Broiler Diets Reduces Dependence on Meat and Bone Meal. **Journal of Poultry Science** 43(4): 330.338. 2006.

SELLE, P.H., RAVINDRAN, V. MICROBIAL PHYTASE IN POULTRY NUTRITION. **Animal Feed Science Technology.** 135, 1-41. 2007.

SELLE, P.H., RAVINDRAN, V. Phytate Degrading Enzymes in Pig Nutrition. **Livestock Science.** 113, 99–122. 2008.

SELLE, P.H.; COWIESON, A.J..RAVINDRAN, V. Consequences of Calcium Interactions with Phytate and Phytase for Poultry and Pigs. **Livestock Science.** V.124, P.126-141. 2009.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3.ed.Viçosa: UFV, 2002. 235p.

SINGH, P.K. Significance of Phytic Acid and Supplemental Phytase in Chicken Nutrition: A Review. **World's Poultry Science Journal**, Vol. 64, December 2008.

STEINER, T., MOSENTHIN, R., FUNDIS, A., JAKOB, S. Influence of Feeding Level on Apparent Total Tract Digestibility of Phosphorus and Calcium in Pigs Fed Low-Phosphorus Diets Supplemented with Microbial or Wheat Phytase. **Livestock Science** 102:1-10. 2006.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise De Alimentos** (Métodos Químicos E Biológicos). 3.Ed.Viçosa: UFV, 2004. 235p.

SISTEMA DE ANÁLISES ESTATÍSTICAS E GENÉTICAS – **SAEG**. Versão 8.0. Viçosa: UFV, 2001. 142p.

VARLEY, P.F., LYNCH, P.B., CALLAN, J.J. AND O'DOHERTY, J.V. Effect of Dietary Phosphorus Level and Phytase Inclusion on Weaner Pig Performance and Subsequent Bone Development. **Livestock Science**. 134:215-217. 2010
WODZINSKI, R.J., ULLAH, A, A.H.J. Phytase. **Adv. Appl. Microbiol.** 42, 263-302. 1996.

YI, A., KORNEGAY, E.T., RAVINDRAN, V AND DENBOW, M. Improving Phytate Phosphorus Availability in Corn and Soybean Meal for Broilers Using Microbial Phytase and Calculation of Phosphorus Equivalency Values of Inorganic P by Phytase. **Poultry Science**. 75-240-249.1996

YIN, Y.L., McEVOY, J.D.G., SCHULZE, H., McCracken, K.J. Studies on Cannulation Method and Alternative Indigestible Markers and the Effects of Food Enzyme Supplementation in Barley-Based Diets on Ileal and Overall Apparent Digestibility in Growing Pigs. **Animal Science**. 70, 63-72. 2000

CONCLUSOES GERAIS

A adição de fósforo disponível do fosfato bicálcico e de fitase em dietas deficientes em fósforo para frangos de corte de 7 a 21 dias de idade e suínos em crescimento melhoram o desempenho dos animais, características ósseas, digestibilidade e balanço do fósforo. No entanto devem ser levados em consideração os fatores que afetam as respostas das fitases para não subestimar ou superestimar os resultados observados.

Os valores médios de equivalência do fósforo pelo método da curva padrão e de equações lineares e quadráticas para frangos de corte são: 0,090; 0,122 e 0,154% de P disponível para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente para a fitase Ronozyme HiPhos.

Os valores médios de equivalência do fósforo pelo método da curva

padrão e de equações lineares para suínos em crescimento são: 0,064; 0,126 e 0,187% de P disponível para 500, 1000 e 2000 FYT respectivamente para a fitase Ronozyme HiPhos.

APENDICE

ANOVA NIVEIS DE FÓSFORO DISPONIVEL PARA SUINOS

Análise de Variância (anova fósforo)

GANHO DE PESO

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	2	0.1207570	0.6037850E-01	10.732	0.00149
Linear R ² =0.99	1	0.1207562	0.1207562	21.463	0.00039
Quadrat. R ² =1.00	1	0.7500000E-06	0.7500000E-06	0.000	*****
Bloco	7	0.1582613	0.2260876E-01	4.019	0.01289
Resíduo	14	0.7876633E-01	0.5626167E-02		

Coeficiente de Variação =10.348

CONSUMO DE RAÇÃO

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	2	96457.45	48228.73	5.826	0.01442
Linear R ² =0.78	1	74932.22	74932.22	9.052	0.00939
Quadrat. R ² =1.00	1	21525.23	21525.23	2.600	0.12916
Bloco	7	818002.2	116857.5	14.116	0.00002
Resíduo	14	115897.0	8278.360		

Coeficiente de Variação =5.660

CONVERSAO ALIMENTAR

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	2	0.5158583	0.2579292	7.161	0.00721
Linear R ² =0.91	1	0.4658063	0.4658063	12.932	0.00292
Quadrat. R ² =1.00	1	0.5005208E-01	0.5005208E-01	1.390	0.25812
Bloco	7	0.2758625	0.3940893E-01	1.094	0.41749
Resíduo	14	0.5042750	0.3601964E-01		

Coeficiente de Variação = 8.465

COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE APARENTE

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	2	4537.588	2268.794	592.741	0.00000
Linear R ² =0.96	1	4359.730	4359.730	1139.015	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	177.8585	177.8585	46.467	0.00000
Bloco	7	35.48496	5.069280	1.324	0.30917
Resíduo	14	53.58683	3.827630		

Coeficiente de Variação = 3.621

PESO METATARSO (g)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	2	0.1044076	0.5220379E-01	64.428	0.00000
Linear R ² =0.99	1	0.1033623	0.1033623	127.566	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	0.1045333E-02	0.1045333E-02	1.290	0.27510
Bloco	7	0.9909625E-02	0.1415661E-02	1.747	0.17720
Resíduo	14	0.1134375E-01	0.8102679E-03		

Coeficiente de Variação =3.586

CINZA (g)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	2	0.5784400E-01	0.2892200E-01	70.029	0.00000
Linear R ² =0.98	1	0.5664400E-01	0.5664400E-01	137.153	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	0.1200000E-02	0.1200000E-02	2.906	0.11035
Bloco	7	0.4150625E-02	0.5929464E-03	1.436	0.26695
Resíduo	14	0.5782000E-02	0.4130000E-03		

Coeficiente de Variação =4.714

CINZA (%)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	2	65.58110	32.79055	22.114	0.00005
Linear R ² =0.96	1	62.63535	62.63535	42.241	0.00001
Quadrat. R ² =1.00	1	2.945748	2.945748	1.987	0.18052
Bloco	7	8.462223	1.208889	0.815	*****
Resíduo	14	20.75920	1.482800		

Coeficiente de Variação =2.248

FÓSFORO (mg)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	2	2228.625	1114.313	82.362	0.00000
Linear R ² =0.95	1	2123.021	2123.021	156.919	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	105.6044	105.6044	7.806	0.01435
Bloco	7	176.2653	25.18076	1.861	0.15276
Resíduo	14	189.4121	13.52944		

Coeficiente de Variação =4.601

FÓSFORO (%)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	2	3.512848	1.756424	16.064	0.00024
Linear R ² =0.81	1	2.856945	2.856945	26.130	0.00016
Quadrat. R ² =1.00	1	0.6559025	0.6559025	5.999	0.02808
Bloco	7	1.049609	0.1499441	1.371	0.29060
Resíduo	14	1.530716	0.1093368		

Coeficiente de Variação = 3.293

ANOVA NIVEIS DE FITASE (0, 500, 1000, 2000 UFT fitase)

Análise de Variância

GANHO DE PESO

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	0.5265175E-01	0.1755058E-01	2.631	0.07036
Linear R ² =0.99	1	0.5190108E-01	0.5190108E-01	7.782	0.00956
Quadrat. R ² =1.00	1	0.7461030E-03	0.7461030E-03	0.112	*****
Cubico. R ² =1.00	1	0.4566644E-05	0.4566644E-05	0.001	*****
Bloco	1	0.8590513E-01	0.8590513E-01	12.880	0.00130

Resíduo	27	0.1800806	0.6669653E-02
Coeficiente de Variação = 11.677			

CONSUMO DE RAÇÃO

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	19255.06	6418.354	0.194	*****
Linear R ² =0.19	1	3613.502	3613.502	0.109	*****
Quadrat. R ² =1.00	1	15524.10	15524.10	0.470	*****
Cubico. R ² =1.00	1	117.4576	117.4576	0.004	*****
Bloco	1	398771.4	398771.4	12.068	0.00175
Resíduo	27	892155.5	33042.80		
Coeficiente de Variação = 11.888					

CONVERSAO ALIMENTAR

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	0.6495344	0.2165115	3.156	0.04091
Linear R ² =0.98	1	0.6360143	0.6360143	9.272	0.00514
Quadrat. R ² =1.00	1	0.1337865E-01	0.1337865E-01	0.195	*****
Cubico. R ² =1.00	1	0.1414365E-03	0.1414365E-03	0.002	*****
Bloco	1	0.4278125E-02	0.4278125E-02	0.062	*****
Resíduo	27	1.852159	0.6859850E-01		
Coeficiente de Variação = 11.873					

COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE APARENTE

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	3982.847	1327.616	406.712	0.00000
Linear R ² =0.95	1	3779.498	3779.498	1157.839	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	194.3961	194.3961	59.553	0.00000
Cubico. R ² =1.00	1	8.952401	8.952401	2.743	0.10929

Bloco	1	8.897871	8.897871	2.726	0.11032
Resíduo	27	88.13524	3.264268		

Coeficiente de Variação = 3.272

PESO METATARSO (g)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	0.1345911	0.4486370E-01	38.072	0.00000
Linear R ² =0.76	1	0.1024265	0.1024265	86.921	0.00000
Quadrat. R ² =0.99	1	0.3141537E-01	0.3141537E-01	26.660	0.00002
Cubico. R ² =1.00	1	0.7492158E-03	0.7492158E-03	0.636	*****
Bloco	1	0.6212813E-03	0.6212813E-03	0.527	*****
Resíduo	27	0.3181659E-01	0.1178392E-02		

Coeficiente de Variação = 4.356

CINZA (g)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	0.5776584E-01	0.1925528E-01	51.594	0.00000
Linear R ² =0.76	1	0.4388472E-01	0.4388472E-01	117.588	0.00000
Quadrat. R ² =0.98	1	0.1282725E-01	0.1282725E-01	34.370	0.00000
Cubico. R ² =1.00	1	0.1053871E-02	0.1053871E-02	2.824	0.10441
Bloco	1	0.4575313E-03	0.4575313E-03	1.226	0.27796
Resíduo	27	0.1007659E-01	0.3732072E-03		

Coeficiente de Variação = 4.573

CINZA (%)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	33.84054	11.28018	27.496	0.00000
Linear R ² =0.71	1	23.90111	23.90111	58.259	0.00000
Quadrat. R ² =0.83	1	4.322470	4.322470	10.536	0.00312
Cubico. R ² =1.00	1	5.616957	5.616957	13.691	0.00097
Bloco	1	0.9360540	0.9360540	2.282	0.14253
Resíduo	27	11.07683	0.4102528		

Coeficiente de Variação = 1.196

FÓSFORO (g)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	2489.298	829.7659	74.707	0.00000
Linear R ² =0.83	1	2065.457	2065.457	185.961	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	416.0738	416.0738	37.461	0.00000
Cubico. R ² =1.00	1	7.766955	7.766955	0.699	*****
Bloco	1	10.60647	10.60647	0.955	*****
Resíduo	27	299.8867	11.10692		

Coeficiente de Variação = 4.145

FÓSFORO (%)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	2.815121	0.9383736	13.417	0.00002
Linear R ² =0.99	1	2.776725	2.776725	39.703	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	0.3820087E-01	0.3820087E-01	0.546	*****
Cubico. R ² =1.00	1	0.1947517E-03	0.1947517E-03	0.003	*****
Bloco	1	0.9625781E-02	0.9625781E-02	0.138	*****
Resíduo	27	1.888316	0.6993763E-01		

Coeficiente de Variação = 2.596

ANOVA NIVEIS DE FÓSFORO DISPONIVEL PARA FRANGOS

Análise de Variância (anova fósforo)

GANHO DE PESO

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	0.7404785	0.2468262	281.305	0.00000
Linear R ² =0.90	1	0.6656690	0.6656690	758.656	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	0.7277828E-01	0.7277828E-01	82.945	0.00000
Cubico R ² =1.00	1	0.2031159E-02	0.2031159E-02	2.315	0.13935
Resíduo	28	0.2456809E-01	0.8774319E-03		

Coeficiente de Variação =4.459

CONVERSAO ALIMENTAR

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	0.8321467	0.2773822	74.961	0.00000
Linear R ² =0.84	1	0.6985637	0.6985637	188.783	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	0.1322755	0.1322755	35.747	0.00000
Cubico R ² =1.00	1	0.1307483E-02	0.1307483E-02	0.353	*****
Resíduo	28	0.1036101	0.3700360E-02		
Coeficiente de Variação =4.788					

BALANÇO DE FÓSFORO

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	437.9157	145.9719	58.874	0.00000
Linear R ² =1.00	1	437.3841	437.3841	176.407	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	0.1068796	0.1068796	0.043	*****
Cubico R ² =1.00	1	0.4247065	0.4247065	0.171	*****
Resíduo	28	69.42339	2.479407		
Coeficiente de Variação =2.257					

COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE ILEAL APARENTE

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	811.8661	270.6220	262.304	0.00000
Linear R ² =0.91	1	734.9676	734.9676	712.377	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	76.33907	76.33907	73.993	0.00000
Cubico R ² =1.00	1	0.5594408	0.5594408	0.542	*****
Resíduo	28	28.88793	1.031712		
Coeficiente de Variação =1.503					

PESO DA TIBIA (g)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	0.5630955	0.1876985	110.323	0.00000
Linear R ² =0.96	1	0.5432261	0.5432261	319.290	0.00000

Quadrat. R ² =1.00	1	0.1886466E-01	0.1886466E-01	11.088	0.00244
Cubico R ² =1.00	1	0.1004813E-02	0.1004813E-02	0.591	*****
Resíduo	28	0.4763799E-01	0.1701357E-02		

Coeficiente de Variação =3.780

CINZA TIBIA (g)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	0.3938716	0.1312905	296.286	0.00000
Linear R ² =0.95	1	0.3741323	0.3741323	844.313	0.00000
Quadrat. R ² =0.99	1	0.1734453E-01	0.1734453E-01	39.142	0.00000
Cubico R ² =1.00	1	0.2394756E-02	0.2394756E-02	5.404	0.02756
Resíduo	28	0.1240737E-01	0.4431205E-03		

Coeficiente de Variação = 3.884

CINZA TIBIA (%)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	673.8432	224.6144	3638.753	0.00000
Linear R ² =0.87	1	585.1523	585.1523	9479.467	0.00000
Quadrat. R ² =0.98	1	73.71712	73.71712	1194.217	0.00000
Cubico R ² =1.00	1	14.97381	14.97381	242.576	0.00000
Resíduo	28	1.728395	0.6172840E-01		

Coeficiente de Variação = 0.506

FÓSFORO TIBIA (mg)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	8392.027	2797.342	187.162	0.00000
Linear R ² =0.98	1	8237.156	8237.156	551.125	0.00000
Quadrat. R ² =0.98	1	0.2663184	0.2663184	0.018	*****
Cubico R ² =1.00	1	154.6048	154.6048	10.344	0.00326
Resíduo	28	418.4901	14.94607		

Coeficiente de Variação = 5.875

FÓSFORO TIBIA (%)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	20.20977	6.736591	139.140	0.00000
Linear R ² =0.95	1	19.17602	19.17602	396.068	0.00000
Quadrat. R ² =0.95	1	0.4197753E-01	0.4197753E-01	0.867	*****
Cubico R ² =1.00	1	0.9917776	0.9917776	20.484	0.00010
Resíduo	28	1.355649	0.4841602E-01		
Coeficiente de Variação = 3.706					

ANOVA NIVEIS DE FITASE (0, 500, 1000, 2000 UFT fitase)

Análise de Variância (anova fitase)

GANHO DE PESO

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	0.5502031	0.1834010	169.216	0.00000
Linear R ² =0.68	1	0.3736706	0.3736706	344.770	0.00000
Quadrat. R ² =0.95	1	0.1501623	0.1501623	138.548	0.00000
Cubico R ² =1.00	1	0.2637015E-01	0.2637015E-01	24.331	0.00003
Resíduo	28	0.3034709E-01	0.1083825E-02		
Coeficiente de Variação = 5.097					

CONVERSAO ALIMENTAR

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	0.8731818	0.2910606	71.318	0.00000
Linear R ² =0.76	1	0.6607653	0.6607653	161.906	0.00000
Quadrat. R ² =0.97	1	0.1841306	0.1841306	45.117	0.00000
Cubico R ² =1.00	1	0.2828593E-01	0.2828593E-01	6.931	0.01363

Resíduo	28	0.1142726	0.4081163E-02
Coeficiente de Variação = 5.094			

BALANÇO DE FÓSFORO

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	347.1379	115.7126	69.143	0.00000
Linear R ² =0.96	1	334.2664	334.2664	199.738	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	11.48686	11.48686	6.864	0.01404
Cubico R ² =1.00	1	1.384652	1.384652	0.827	*****
Resíduo	28	46.85876	1.673527		
Coeficiente de Variação = 1.856					

COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE ILEAL APARENTE

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	389.8692	129.9564	48.613	0.00000
Linear R ² =0.94	1	367.6409	367.6409	137.524	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	22.21944	22.21944	8.312	0.00748
Cubico R ² =1.00	1	0.8817930E-02	0.8817930E-02	0.003	*****
Resíduo	28	74.85182	2.673279		
Coeficiente de Variação = 2.465					

PESO DA TIBIA (g)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	0.4759154	0.1586385	317.249	0.00000
Linear R ² =0.85	1	0.4053059	0.4053059	810.540	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	0.6965418E-01	0.6965418E-01	139.296	0.00000
Cubico R ² =1.00	1	0.9553176E-03	0.9553176E-03	1.910	0.17784
Resíduo	28	0.1400124E-01	0.5000442E-03		
Coeficiente de Variação = 2.052					

CINZA DA TIBIA (g)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	0.3303306	0.1101102	1087.412	0.00000
Linear R ² =0.85	1	0.2812329	0.2812329	2777.364	0.00000
Quadrat. R ² =1.00	1	0.4774050E-01	0.4774050E-01	471.470	0.00000
Cubico R ² =1.00	1	0.1357225E-02	0.1357225E-02	13.404	0.00103
Resíduo	28	0.2835250E-02	0.1012589E-03		

Coeficiente de Variação = 1.874

CINZA DA TIBIA (%)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	594.8239	198.2746	2168.411	0.00000
Linear R ² =0.81	1	480.0065	480.0065	5249.543	0.00000
Quadrat. R ² =0.98	1	105.5822	105.5822	1154.690	0.00000
Cubico R ² =1.00	1	9.235210	9.235210	101.000	0.00000
Resíduo	28	2.560257	0.9143776E-01		

Coeficiente de Variação = 0.619

FÓSFORO DA TIBIA (mg)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	8132.986	2710.995	1633.316	0.00000
Linear R ² =0.79	1	6439.209	6439.209	3879.484	0.00000
Quadrat. R ² =0.98	1	1528.289	1528.289	920.761	0.00000
Cubico R ² =1.00	1	165.4888	165.4888	99.703	0.00000
Resíduo	28	46.47469	1.659811		

Coeficiente de Variação = 1.836

FÓSFORO DA TIBIA (%)

Fontes de Variação	G.L	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
Tratamento	3	23.85321	7.951072	2626.922	0.00000
Linear R ² =0.68	1	16.31687	16.31687	5390.864	0.00000
Quadrat. R ² =0.94	1	6.085688	6.085688	2010.626	0.00000
Cubico R ² =1.00	1	1.450658	1.450658	479.277	0.00000
Resíduo	28	0.8474937E-01	0.3026763E-02		

Coeficiente de Variação = 0.867
