BIANCA ALMEIDA BRANDÃO MARTINS

**Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte
em farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada
com e sem a adição de fitase microbiana à dieta**

Pirassununga

2003

BIANCA ALMEIDA BRANDÃO MARTINS

**Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte
em farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada
com e sem a adição de fitase microbiana à dieta**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição Animal

Orientador:

Prof. Dr. Felix Ribeiro de Lima

Pirassununga

2003

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1333
FMVZ

Martins, Bianca Almeida Brandão

Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada com e sem a adição de fitase microbiana à dieta / Bianca Almeida Brandão Martins. – Pirassununga : B. A. B. Martins, 2003.
148 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, 2003.

Programa de Pós-graduação: Nutrição Animal.
Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Felix Ribeiro de Lima.

1. Trigo. 2. Soja. 3. Biodisponibilidade. 4. Frangos. I. Título.

ERRATA

MARTINS, B. A. B. **Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada, com e sem a adição de fitase microbiana à dieta.** [Relative bioavailability of phosphorus in wheat midds, and in soybeans roasted or extruded with and without phytase in the diet]. 2003. 148 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

Folha	onde se lê	leia-se
Resumo	143 f.	148 f.
Abstract	143 f.	148 f.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"

PARECER

Interessado: Bianca Almeida Brandão Martins

Assunto: Protocolo de experimentação adotado em experimento animal.

A Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, após analisar o projeto sob o número 367/2003, intitulado: "Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em soja integral tostada, soja integral extrusada e farelo de trigo com e sem adição de fitase microbiana à dieta", utilizando 504 pintinhos, referente à Tese de Mestrado, sob responsabilidade do Prof. Dr. Félix Ribeiro de Lima, constatou que o mesmo foi realizado de acordo com os princípios de bioética, adotados por esta Comissão.

São Paulo, 10 de outubro de 2003

Prof.ª Dr.ª Júlia Maria Matera

Presidente da Comissão de Bioética

FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome do autor: MARTINS, Bianca Almeida Brandão

Título: Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada com e sem adição de fitase microbiana à dieta

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Assinatura: _____ Julgamento: _____

Aos meus pais eu dedico esta obra.

Pelo carinho, amor e compreensão pelas minhas faltas,

por me darem uma educação sólida

e por terem me ensinado a ter fé na vida.

Muito obrigada pelas suas raízes e nossas asas.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Felix Ribeiro de Lima agradeço a oportunidade de realização deste trabalho, pela orientação amigável e pela formação crítica das minhas bases profissionais.

Ao Prof. Dr. David R. Ledoux e Prof. Dr. Paulo Henrique M. Rodrigues, agradeço os bons conselhos e a amizade estabelecida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela bolsa de estudos e pelo financiamento do projeto de pesquisa para a aplicação de novas tecnologias à experimentação animal.

À todos os professores do VNP, Ricardo Albuquerque, Aleksanders Spers, Aníbal Sant’Anna, Maria de Fátima Martins, Alexandre Augusto Gobesso, Carlos Augusto Fernandes de Oliveira, Romualdo Fukushima, Marcos Veiga dos Santos e Antônio César Fagundes pelo convívio diário.

Aos professores da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP de Botucatu, Prof. Dr. Pedro Padilha, Prof. Dr. Henrique Nunes de Oliveira, Prof. Dr. Luís Arthur Loyola Chardulo, e Prof. Dr. Antônio Carlos Silveira, pela amizade, orientação permanente e pela participação nas análises laboratoriais do projeto. Fabião, obrigada por tudo!

Por acreditar que cada sonho idealizado por nós é um alicerce sólido do futuro, agradeço ao Sandro, meu cúmplice e amigo, os momentos vividos.

As minhas inesquecíveis amigas e companheiras, Laurinha, Tatiana, Roberta e Xeila, pelos momentos de alegria, cumplicidade e muitas vezes compreensão neste pedaço de caminho que escolhemos compartilhar com simplicidade e fé.

À todos os meus amigos de pós-graduação do VNP e FZEA, agradeço o apoio e a sinceridade com que compartilharam este momento e pelas infindáveis “reuniões de produção científica”.

Aos funcionários do VNP e do aviário, agradeço a convivência amigável e os ensinamentos. Cris e Evanildo, agradeço a vocês em especial pela força constante; sem vocês eu não venceria.

E a todos que participaram de alguma maneira na realização deste projeto, muito obrigada por tudo.

RESUMO

MARTINS, B. A. B. **Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada, com e sem a adição de fitase microbiana à dieta.** [Relative bioavailability of phosphorus in wheat midds, and in soybeans roasted or extruded with and without phytase in the diet]. 2003. 143 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

Foram utilizados 504 pintos de corte, machos, da linhagem Cobb, de 1 dia de idade, distribuídos aleatoriamente em 18 tratamentos com 4 repetições pelo período de 21 dias, para determinar a biodisponibilidade relativa do fósforo (BRP) em farelo de trigo, soja integral tostada ou extrusada com e sem a adição de fitase. Foram adicionados dois níveis de fitase (0 ou 750 FTU/kg dieta) e dois níveis de fósforo suplementar (0,05 ou 0,10%) à dieta basal semi-purificada com baixo nível de fósforo total (0,40%) sendo a fonte padrão de fósforo o fosfato bicálcico. Ao término do experimento, foram removidas as tíbias esquerdas e os dedos médios direitos para posterior análise de cinzas ósseas. A BRP para cada fonte orgânica foi calculada pelo método do “slope ratio” através da regressão dos valores de peso de cinzas na tíbia em função dos níveis de fósforo suplementar ingerido (mg/dia). Os valores de BRP para farelo de trigo, soja integral tostada e extrusada sem a adição de fitase foram de 74,4; 56,9 e 56,5%, respectivamente. Com a adição de fitase estes valores foram para 79,4; 93,5 e 100%, respectivamente.

Palavras-chave: Trigo. Soja. Biodisponibilidade. Frangos.

ABSTRACT

MARTINS, B. A. B. **Relative bioavailability of phosphorus in wheat midds, and in soybeans roasted or extruded with and without microbial phytase in the diet** [Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada, com e sem adição de fitase microbiana à dieta]. 2003. 143 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

Five hundred and four male Cobb chicks were used in a 21 day study to determine the relative bioavailability of phosphorus (RBP) in wheat midds, or soybean roasted or extruded with and without added microbial phytase (0 or 750 FYT/kg of diet).

The reference standart was a purified grade calcium phosphate dibasics (DPS). The experimental ingredients, as well as the DPS, were added to the semi-purified starch-soybean meal control diet (22% protein; 0,32% P + 0,08% P from DPS) provinding 0,05 and 0,10% additional P, for a total of 9 experimental diets containing 0 FYT/kg, plus a second group of 9 diets containg 750 FYT/kg of diet. Slope ratio technique was used to calculate RBP, based on tibia bone ash weigt (TIAW) or toe bone ash weight (TOAW), regressed on added P intake within each P source. Coefficient of determination were higher to TIAW, so these values were used to express RBP. With no phytase added to the diet RBP values were 74,4 (wheat midds), 56,9 (soybean roasted) and 56,5% (soybean extruded), and the addition of 750 FYT/kg of diet increased these values to 79,4; 93,5 and 100%, respectively.

Key words: Wheat. Soybean, Bioavailability. Broiler.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Interação entre fonte e nível de fitase para peso de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, mg/dia.....	58
Gráfico 2 - Interação entre fonte e nível P suplementar para porcentagem de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, %.....	64
Gráfico 3 - Interação entre fonte e nível de fitase para porcentagem de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, %.....	65
Gráfico 4 - Interação entre fonte e nível de fitase para peso das cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade, mg.....	69
Gráfico 5 - Interação entre fonte e nível de P suplementar para porcentagem de cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade, %.....	73
Gráfico 6 - Interação entre nível de P suplementar e nível de fitase para porcentagem de cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade, %.....	74
Gráfico 7 - Biodisponibilidade relativa de fósforo para o farelo de trigo com base em ganho de peso (g/dia), cinzas na tíbia (mg) e cinzas no dedo médio (mg) com adição de 0 ou 750 FTU/ kg de ração.	94
Gráfico 8 - Biodisponibilidade relativa de fósforo para a soja integral tostada com base em ganho de peso (g/dia), cinzas na tíbia (mg) e cinzas no dedo médio (mg) com adição de 0 ou 750 FTU/ kg de ração.....	97
Gráfico 9 - Biodisponibilidade relativa de fósforo para a soja integral extrusada com base em ganho de peso (g/dia), cinzas na tíbia (mg) e cinzas no dedo médio (mg) com adição de 0 ou 750 FTU/ kg de ração.....	100
Gráfico 10 - Biodisponibilidade relativa de fósforo média para o farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada com base no ganho de peso (g/dia), cinzas na tíbia (mg) e cinzas no dedo médio (mg) com adição de 0 ou 750 FTU/ kg de ração.....	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais.....	42
Tabela 2 - Consumo de ração das aves aos 22 dias de idade, g/dia.....	49
Tabela 3 - Ganho de peso diário das aves aos 22 dias de idade, g/dia.....	51
Tabela 4 - Conversão alimentar das aves aos 22 dias de idade, g/ kg.....	54
Tabela 5 - Peso de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, mg.....	57
Tabela 6 - Interação entre fonte e nível de fitase para peso de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, mg/dia.....	58
Tabela 7 - Porcentagem de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, %.....	63
Tabela 8 - Interação entre fonte e nível P suplementar para porcentagem de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, %.....	64
Tabela 9 - Interação entre fonte e nível de fitase para porcentagem de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, %.....	65
Tabela 10 - Peso de cinzas no dedos médio das aves aos 22 dias de idade, mg.....	68
Tabela 11 - Interação entre fonte e nível de fitase para peso de cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade, mg.....	69
Tabela 12 - Porcentagem de cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade, %.....	72
Tabela 13 - Interação entre fonte e nível de P suplementar para porcentagem de cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade, %.....	73
Tabela 14 - Interação entre nível de P suplementar e nível de fitase para porcentagem de cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade, %.....	74
Tabela 15 - Fósforo total ingerido pelas aves aos 22 dias de idade, mg/dia.....	77
Tabela 16 - Fósforo total excretado pelas aves aos 22 dias de idade, mg/dia.....	79

Tabela 17 - Fósforo total eliminado nas excretas das aves aos 22 dias de idade, %.....	82
Tabela 18 - Peso total de excreta das aves aos 22 dias de idade, g.....	85
Tabela 19 - Análise de variância do consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar, cinzas na tíbia (mg), cinzas na tíbia (%), cinzas no dedo (mg) e das aves aos 21 dias de idade (quadrados médios).....	86
Tabela 20 - Análise de variância de cinzas no dedo (%), P total ingerido (mg/dia), P total excretado (%), P total excretado (mg) e volume total de excreta (g) das aves aos 21 dias de idade (quadrados médios).....	87
Tabela 21 - Disponibilidade relativa do fósforo com base em ganho de peso (g/dia), cinzas na tíbia (mg) e cinzas no dedo médio (mg) – equações de regressão em função do fósforo suplementar ingerido (mg/dia), coeficientes de determinação e disponibilidade relativa para as diferentes fontes com adição de 0 ou 750 FTU/kg de ração.....	90
Tabela 22 - Atividade de fitase esperada e analisada nas dietas experimentais, nos ingredientes estudados e no premix fitase, U/kg.....	91

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	FÓSFORO	18
2.1.1	Funções	18
2.1.2	Absorção	19
2.1.3	Fontes de fósforo	21
2.1.3.1	<i>Fontes de origem mineral</i>	21
2.1.3.2	<i>Fontes de origem orgânica</i>	22
2.1.4	Biodisponibilidade de fósforo	25
2.1.5	Requerimentos nutricionais de fósforo para frangos de corte	27
2.2	FÓSFORO EXCRETADO AO AMBIENTE	28
2.3	ENZIMA FITASE	30
2.3.1	Propriedades	31
2.3.2	Fontes de fitase	31
2.3.3	Efeitos da fitase microbiana na digestibilidade de nutrientes e desempenho de aves	34
2.4	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
3	MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1	ANIMAIS, INSTALAÇÕES E PERÍODO EXPERIMENTAL	39
3.2	FONTES DE FÓSFORO E FITASE	40
3.3	RAÇÕES EXPERIMENTAIS	40
3.4	AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS	43
3.4.1	Desempenho animal	43
3.4.2	Parâmetros ósseos	43
3.4.3	Análise das excretas	44
3.4.4	Rações experimentais	45
3.5	BIODISPONIBILIDADE RELATIVA DO FÓSFORO	45
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	46

4	RESULTADOS	47
4.1	DESEMPENHO ANIMAL.....	47
4.1.1	Consumo de ração	47
4.1.2	Ganho de peso	50
4.1.3	Conversão alimentar	52
4.2	PARÂMETROS ÓSSEOS.....	55
4.2.1	Peso de cinzas na tíbia	55
4.2.2	Porcentagem de cinzas na tíbia	59
4.2.3	Peso de cinzas no dedo médio	66
4.2.4	Porcentagem de cinzas no dedo médio	70
4.3	INGESTÃO E EXCREÇÃO DE FÓSFORO.....	75
4.3.1	Fósforo total ingerido	75
4.3.2	Fósforo total excretado	78
4.3.3	Porcentagem de fósforo total excretado	80
4.3.4	Peso total de excreta	83
4.4	BIODISPONIBILIDADE RELATIVA DO FÓSFORO DOS INGREDIENTES.....	88
4.4.1	Farelo de trigo	92
4.4.2	Soja integral tostada	95
4.4.3	Soja integral extrusada	98
4.4.4	Biodisponibilidade relativa média entre os parâmetros avaliados	101
5	DISCUSSÃO	103
5.1	DESEMPENHO ANIMAL.....	103
5.1.1	Consumo de ração	103
5.1.2	Ganho de peso	106
5.1.3	Conversão alimentar	109
5.2	PARÂMETROS ÓSSEOS.....	111
5.2.1	Peso das cinzas na tíbia	111
5.2.2	Porcentagem de cinzas na tíbia	114
5.2.3	Peso de cinzas no dedo médio	117
5.2.4	Porcentagem de cinzas no dedo médio	119
5.3	INGESTÃO E EXCREÇÃO DE FÓSFORO.....	121

5.3.1	Fósforo total ingerido.....	121
5.3.2	Fósforo total excretado.....	122
5.3.3	Porcentagem de fósforo total excretado.....	124
5.3.4	Peso total de excreta.....	126
5.4	BIODISPONIBILIDADE RELATIVA DO FÓSFORO DOS INGREDIENTES.....	127
5.4.1	Biodisponibilidade relativa do fósforo sem adição de fitase.....	127
5.4.2	Biodisponibilidade relativa do fósforo com adição de fitase.....	130
6	CONCLUSÕES.....	133
	REFERÊNCIAS.....	134

1 INTRODUÇÃO

A produção rural vem passando por significativo processo de concentração e aumento de eficiência e produtividade, sendo que os negócios agropecuários hoje representam um quarto da economia mundial e envolvem cerca de metade dos empregados ativos na atividade econômica internacional (MEGIDO; XAVIER, 1998). Dentro deste contexto a avicultura moderna tem se mostrado bastante eficiente na redução dos custos de produção e constante aplicação de tecnologias gerando um produto de qualidade e alto valor biológico ao consumidor, consolidando-se como um importante segmento na economia mundial.

A avicultura brasileira é referência mundial no fomento de tecnologia e produção sendo a segunda maior produtora mundial de carne de frango e considerada a base sustentável ao plano econômico atual na distribuição de proteína de origem animal às classes sociais de baixa renda (MEGIDO; XAVIER, 1998).

Visando a redução nos custos de produção, o enfoque das pesquisas atuais tem sido a busca pela melhora na eficiência de utilização de alimentos associada, ao menor impacto causado ao ambiente pela concentração da produção animal, baseado no conhecimento da disponibilidade dos nutrientes provenientes dos ingredientes inseridos a uma formulação de ração dentro das exigências nutricionais.

Um dos nutrientes de maior impacto nos custos de formulação é o fósforo, ficando atrás somente da energia e proteína para aves e suínos (BORGES, 1997), porém sua essencialidade na nutrição é comprovada pelas diversas funções que desempenha no organismo sendo um nutriente fundamental especialmente no período de crescimento dos animais. Todavia, cerca de dois terços do fósforo contido nos grãos de cereais e sementes

oleaginosas encontram-se na forma de fitato, capaz de se ligar a outros nutrientes tornando-os indisponíveis a aves e suínos necessitando a adição de fósforo inorgânico à dieta (DENBOW et al., 1995).

Uma das soluções encontradas para a melhora na disponibilidade de nutrientes é a adição de enzimas exógenas nas rações. A enzima fitase tem sido produzida industrialmente a partir de microorganismos por meio de técnicas de recombinação de DNA e seu potencial está em melhorar a disponibilidade de fósforo nos ingredientes de origem vegetal presente na forma de fitato. Assim, a adição desta enzima permite que aves e suínos possam absorver o fósforo de maneira eficiente, reduzindo a necessidade de suplementação de fósforo inorgânico, melhorando o ganho de peso, a conversão alimentar, consumo de ração e a mineralização óssea, além de reduzir a mortalidade (QIAN et al., 1996).

Embasado nestes princípios o presente trabalho teve como objetivo geral estudar o efeito de níveis crescentes de fósforo fornecido pelo fosfato bicálcico, farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada no desempenho e parâmetros ósseos de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, alimentados com rações contendo 0 ou 750 FTU/ kg ração e determinar os valores de biodisponibilidade relativa do fósforo para os mesmos ingredientes, assim como a excreção de fósforo ao ambiente.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FÓSFORO

Descoberto e isolado em 1669 por Brand na Alemanha (SHEVE; BRINK JR, 1977) o fósforo é o elemento químico cujas funções biológicas atualmente estão melhores estabelecidas, sendo um dos minerais mais versáteis encontrado na natureza.

O fósforo é o segundo mineral mais abundante na composição do tecidos animais sendo que 80% do fósforo total está presente nos ossos e dentes, e o restante está distribuído entre fluídos e outros tecidos (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999). Os ossos, além de serem componentes estruturais do corpo, servem como reserva de cálcio e fósforo podendo ser mobilizados ocasionalmente quando o fornecimento desses minerais for inadequado para atender as exigências nutricionais (MAYNARD; LOOSLY; HINTZ, 1984).

2.1.1 Funções

Inúmeras funções podem ser atribuídas ao fósforo dentre elas, as principais são a formação da estrutura óssea, participação na formação de membranas celulares, utilização e transferência de energia na forma de ATP (LEHNINGER, 1994).

Também participa na atuação da composição de ácidos nucleicos (DNA e RNA) essenciais para o crescimento e diferenciação nuclear, atua na manutenção da pressão

osmótica e equilíbrio ácido-base, utilização e transferência de energia nas formas de adenosina mono, di- e tri-fosfato e formação de fosfolipídios, tendo como consequência a participação no transporte de ácidos graxos, absorção e deposição de gorduras, formação de proteínas, além de influenciar o apetite e a eficiência alimentar (RUNHO et al., 2001).

Ainda está envolvido na formação de colágeno e mineralização óssea, aumentando a resistência tênsil do osso e acelerando a cicatrização de fraturas, atua no metabolismo de glicídios e protídios, é componente de hexafosfatos, lecitina, caseína, pepsina, creatina-fosfato, participa das etapas de fosforilação da glicose, componente do AMP cíclico, ativador de coenzimas para o funcionamento de vitamina B, além de função tamponante no líquido intracelular e nos fluídos tubulares dos rins (PIZZOLANTE, 2000).

2.1.2 Absorção

O fósforo pode ser ingerido na forma inorgânica como mono, di- ou trifosfato, ou na forma orgânica como fitatos, fosfolipídeos ou fosfoproteínas, sendo absorvido no intestino delgado das aves na forma de ortofosfato (PO_4) por difusão simples seguindo gradiente de concentração ou transporte ativo na dependência de vitamina D e sódio (PIZZOLANTE, 2000). Sua taxa de absorção depende de fatores como pH e viscosidade intestinal, nível de disponibilidade de fósforo dietético, presença de vitamina D, relação cálcio e fósforo, presença de minerais como ferro, alumínio, magnésio e manganês (WALDROUP, 1989), forma e grau de pureza das fontes minerais empregadas (WALDROUP et al., 1965), idade das aves, nível de cálcio dietético e consumo de lactose e gordura (PIZZOLANTE, 2000).

O fósforo absorvido cai na corrente sangüínea e seu mecanismo de transporte às células é regulado por um sistema hormonal constituído pelos hormônios paratireoideanos (PTH), calcitonina (CT) e estrógeno (MURRAY et al., 1990).

A calcitonina atua na entrada do fosfato às células ósseas e no fluído periósseo diminuindo o movimento do cálcio ósseo para o plasma enquanto o paratormônio estimula o movimento do cálcio e fósforo dos ossos para o sangue (GUYTON, 1988). O estrógeno está ligado intimamente com a remodelação óssea, sendo que baixas concentrações deste hormônio causam a diminuição da massa óssea (RAISZ, 1999).

De uma forma mecânica, a deposição óssea é continuamente realizada pelos osteoblastos, encontrados na superfície externa dos ossos, bem como em suas cavidades, enquanto a absorção óssea ocorre pela ação dos osteoclastos havendo um equilíbrio entre deposição e absorção, exceto nos animais em crescimento. Os osteoblastos secretam grandes quantidades da enzima fosfatase alcalina no sangue indicando a deposição ativa de fosfato inorgânico na matriz óssea, sendo portanto um bom indicador de formação óssea (SWENSON; REECE, 1993).

A quantidade de cálcio e fósforo nas cinzas ósseas é de 36 e 17% respectivamente, aumentando linearmente com a idade das aves, sendo a relação entre eles de 2:1 com poucas variações (MURRAY et al., 1990).

2.1.3 Fontes de fósforo

As fontes de fósforo utilizadas para suprir as exigências nutricionais de aves são provenientes de alimentos ou suplementos minerais adicionados à ração (MCGILLIVRAY, 1980).

2.1.3.1 Fontes de origem mineral

Os fosfatos inorgânicos são sais de ácido fosfórico e apresentam diferentes propriedades dependentes de sua estrutura química, cristalinidade, tamanho da partícula, pH e concentração de elementos contaminantes, além de que muitos fosfatos comerciais são subprodutos de processo industrial ou são submetidos a um tipo de processamento, fatores relevantes na qualidade da fonte mineral escolhida para a utilização na alimentação animal (LIMA et al., 1999).

As fontes de fósforo inorgânico mais comumente encontradas são: ácido fosfórico (24% P), fosfato bicálcico (18,5% P), fosfato de rocha (9% P), fosfato de rocha defluorinado (18% P), fosfato diamônico (20-23% P), fosfato dissódico (20,5% P), fosfato monocalcico (21% P), fosfato monossódico (22,4% P), tripolifosfato de sódio (25,3% P), fosfato supertriplo (17,5% P), fosfato monoamônico (21% P) e fosfato termomagnésio (7,5% P) (LIMA et al., 1999).

O fosfato monocálcico é considerado a fonte mineral de maior disponibilidade de fósforo comercializada para a suplementação de dietas vegetais, porém representa um alto custo na formulação se comparada às demais fontes (SULLIVAN et al., 1992).

O fosfato bicálcico é comumente usado como fonte suplementar de fósforo nas rações animais sendo uma mistura de fosfato monocálcico e bicálcico, ácido fosfórico, carbonato de cálcio e impurezas, dependendo da origem do material e do processo aplicado na indústria para obtenção do fosfato comercial (LIMA et al., 1995).

Outra importante fonte de fósforo é o fosfato de rocha defluorinado, um fosfato tricálcico com baixos níveis de flúor (0,17%) e alta concentração de sódio (4,8 a 5,5%). Comparado ao fosfato monossódico, o ganho de peso, consumo e eficiência alimentar, resistência da tíbia e porcentagem de cinzas na tíbia foram melhorados ao adicionar o fosfato de rocha defluorinado na dieta de frangos de corte observados durante o período de 14 dias (COFFEY et al., 1994).

2.1.3.2 Fontes de origem orgânica

Cerca de 50 a 80% do fósforo contido nos ingredientes de origem vegetal são encontrados na forma de fitato ou sais de ácido fítico (HARLAND; NARULA, 1999).

O fitato ou hexafosfato de mio-inositol ($C_6H_{18}O_{24}P_6$ – IP6) descoberto por Pfeffer em 1872 (BILLINGTON, 1993) é a forma primária de armazenamento do fósforo nos vegetais, principalmente cereais, legumes e sementes oleaginosas (MAENZ; CLASSEN, 1998).

Sua natureza aniônica de seis grupos fosfatados e peso molecular de 659,86 apresenta grande potencial de se ligar a cátions mono e divalentes formando complexos quelatos com minerais, principalmente zinco, cálcio, ferro e manganês, proteínas, lipídios (COSGROVE,

1966) e amido (THOMPSON; YOON, 1984) reduzindo a disponibilidade biológica do fósforo, além de inibir a atividade de enzimas como α -amilase (DESHPANDE; CHERYAN, 1984) proteases (SINGH; KRIKORIAN, 1982) e lipases (KNUCKLES, 1988).

Carmovale et al. (1988) estudando a digestibilidade *in vitro* de proteína concentrada, proteína isolada, lactoalbumina, caseína e soro-albumina observaram um efeito negativo na digestibilidade protéica quando adicionado 10 mg de ácido fítico às fontes de proteínas estudadas após o período de uma hora de incubação.

Segundo Jongbloed et al. (1997), o fósforo fítico diminui a disponibilidade de aminoácidos pela formação de complexos proteína-fitado tanto naturais do alimento quanto na formação de novos complexos com aminoácidos livres no trato digestivo de animais. A interação entre fitatos e proteínas depende das condições do pH, que quando ácido, permite que o fitato forme ligações eletrostáticas com resíduos básicos como a arginina, lisina e histidina resultando num complexo insolúvel. Sob condições básicas, o fitato forma complexos com proteínas na presença de cátions divalentes (Ca, Mg, Zn) agindo como uma ponte para o grupo carboxila (COUSINS, 1999).

Quando o fitato é hidrolisado na membrana intestinal por enzimas endógenas ou exógenas em pH entre 5,5 e 6,5 em animais não ruminantes, este é capaz de perder grupamentos fosfato para o meio transformando-se em penta (IP5), tetra (IP4) ou tri (IP3) fosfato de mio-inositol. Somente IP5 e IP6 tem efeito negativo na biodisponibilidade de minerais nos animais (SANDBERG et al., 1989) e a presença de IP3 num canal especial do retículo endoplasmático é capaz de manter a homeostase de cálcio na célula (MAYRLEITNER; SCHAFER; FLEISCHER, 1995).

Para determinar a presença de fitato e seus subprodutos nos vegetais a cromatografia líquida (HPLC) ou a cromatografia aniônica são as melhores metodologias empregadas (XU; PRICE; AGGETT, 1992). De acordo com McKnight (1997), o teor de fósforo total da soja

integral é de 0,58% e do farelo de trigo de 0,85% (NRC, 1994), sendo que a soja integral apresenta 1,20 $\mu\text{mol/g}$ de ingrediente de fitato e o farelo de trigo 0,27 $\mu\text{mol/g}$ de ingrediente de fitato.

Do total de fósforo fítico, o milho apresenta 0,1 $\mu\text{mol/g}$ de IP3, 0,5 $\mu\text{mol/g}$ de IP4, 1,1 $\mu\text{mol/g}$ de IP5 e 1,5 $\mu\text{mol/g}$ de IP6, enquanto o trigo apresenta na mesma ordem, 0,47, 1,38, 3,21 e 6,28 $\mu\text{mol/g}$ e a soja integral 0, 0,13, 0,70 e 12,50 $\mu\text{mol/g}$ respectivamente (HARLAND; MORRIS, 1995).

Processamentos aplicados aos grãos utilizados em dietas de animais podem aumentar ou diminuir o efeito de fatores antinutricionais presentes nos ingredientes, no caso o fitato. Este é transformado de hexafosfato inositol para tri, tetra ou pentafosfato, produtos da hidrólise que apresentam maior disponibilidade dos minerais que o fitato. Ao retirar a casca de ervilhas o fósforo fítico é aumentado em 11% quando comparado aos grãos integrais (ALONSO; ORÚE; MARZO, 1998), o que pode ser explicado pela maior presença do fitato no cotilédone das sementes leguminosas. Ao aplicar a extrusão em seguida, há uma redução de 17,97% de fitato comparado ao grão sem casca e uma redução de 9% no fitato quando comparado ao grão com casca e quando é utilizada a fermentação nos grãos de soja integral o teor de ácido fítico decresce em 30,7% (EGOUNLETY; AWORH, 2003).

A soja integral tostada é resultado do processamento pela tostagem, onde o cozimento se faz por meio de calor seco (gerado por gás, ar quente ou vapor), sendo que tempo de cozimento e temperatura variam de acordo com o tipo de equipamento utilizado. Não há rompimento do grão, sendo necessária a moagem do produto final (WALDROUP, 1982).

A soja integral extrusada é resultante do processo de plasticização e cocção por meio de pressão, calor e cisalhamento mecânico, ocorrendo a gelatinização dos componentes amiláceos e desnaturação protéica provocando um rompimento da parede celular e dispensando moagem ao produto final (PABLOS, 1986).

Apesar da utilização de diferentes processamentos nos grãos de soja, Café et al. (2000) afirmam que a soja integral tostada ou extrusada apresentam composição bromatológica semelhantes, porém a digestibilidade dos nutrientes entre as sojas processadas são distintas. Estes resultados também foram observados por Rodrigues et al. (2002).

Segundo Sakomura et al. (1998), frangos de corte alimentados com dietas à base de soja integral extrusada apresentaram consumo superior aos alimentados com soja integral tostada em uma dieta contendo 22% de proteína bruta para frangos de corte entre 1 e 21 dias de idade, porém não houve diferença comparada à soja integral tostada em relação ao desempenho nos índices de produção, como conversão alimentar e ganho de peso das aves.

Edwards Jr. et al. (1999) ao utilizar dietas deficientes em fósforo para frangos de corte, não observaram efeito dos processos de peletização e extrusão em rações a base de milho e farelo de soja, o que pode estar ligado somente ao uso de grãos inteiros e tamanho de partícula dos ingredientes.

2.1.4. Biodisponibilidade de fósforo

A concentração de fósforo em um alimento tem pouco significado nutricional, a não ser que seja acompanhada de informações sobre sua disponibilidade biológica (MABE, 1997).

A biodisponibilidade do fósforo é expressa em porcentagem e indica o quanto o elemento é efetivamente destinado a uma função biológica, comparado a um fosfato padrão, a qual se atribui 100% de disponibilidade relativa (LOPES; PEREIRA, 1986) e sua variação em alimentos vegetais depende de fatores como o tipo de dieta adotada (GILLIS; EDWARDS JR.; YOUNG, 1962), nível de vitamina D (FRITZ et al., 1968), relação cálcio e fósforo

(WALDROUP et al., 1965), duração do período experimental (AMMERMAN et al., 1961), tamanho da partícula da ração (GRIFFITH; SCHEXNAILDER, 1970), diferenças no estado físico de hidratação ou modificação cristalina dos fosfatos (PEELER, 1972) e da escolha do fosfato utilizado como padrão (NELSON et al., 1990) além da metodologia empregada para a análise do fósforo disponível (SULLIVAN; DOUGLAS, 1990).

Atualmente, a metodologia aplicada para a determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo implica na utilização de dietas basais semi-purificadas e deficientes no mineral em estudo, suplementada com níveis crescentes de fósforo proveniente de uma fonte padrão considerada com 100% de disponibilidade. Os outros tratamentos são formados por no mínimo dois níveis da fonte a ser comparada ao padrão. Com os dados obtidos são elaboradas equações de regressão linear simples ou múltipla, sendo as médias de resposta as variáveis dependentes e os níveis do mineral as variáveis independentes. As variáveis dependentes podem ser parâmetros biológicos como peso vivo, ganho de peso, eficiência alimentar, consumo de ração, percentual de cinzas na tíbia, peso da tíbia, resistência a quebra da tíbia, além de medidas de densidade óssea. A disponibilidade relativa do fósforo é calculada pela relação entre os coeficientes de regressão da fonte padrão e da fonte em estudo (LIMA, 1994).

Em frangos de corte, os critérios mais utilizados para a determinação da biodisponibilidade do fósforo são a taxa de crescimento e o conteúdo de cinzas ósseas devido a simplicidade da técnica (SULLIVAN; DOUGLAS, 1990). Segundo Potter (1988), o parâmetro cinzas no dedo médio de aves tem se mostrado um método criterioso no estudo da disponibilidade de fósforo.

Garzillo (1996), considera que os resultados de parâmetros ósseos e desempenho zootécnico variam de acordo com a fonte de fósforo oferecida, sendo que nem sempre o melhor resultado de desempenho vem acompanhado de bons resultados nos parâmetros ósseos, particularmente no caso de fosfatos com alto teor de flúor.

De acordo com Anzai (1998), a biodisponibilidade relativa de fósforo para frangos de corte de fosfatos bicálcicos comerciais é de 99,1% e segundo Lima (1994) para diferentes amostras de fosfatos bicálcicos comerciais o valor médio da disponibilidade é de 103,5%.

2.1.5 Requerimentos nutricionais de fósforo para frangos de corte

As exigências de cálcio e fósforo apresentam notória importância durante as fases de crescimento, postura e formação dos ovos nas aves. Quando as exigências nutricionais não são atendidas, observa-se durante o período de produção diminuição do desempenho zootécnico das aves, elevação nos índices de mortalidade, queda na produção de ovos, piora na eficiência de utilização dos alimentos, mineralização óssea inadequada (NRC, 1994), levando ao desenvolvimento anormal dos ossos e apresentando anomalias como o raquitismo, a osteoporose, osteomalácia e osteodistrofia, discondroplasia da tíbia ou mesmo desmineralização óssea (QIAN et al., 1996).

Segundo autores como Gomes, Gomes e Lima (1993), Koch, Mahan e Corley (1984) e Libal, Peo e Andrews (1969), o requerimento de fósforo para otimizar o desempenho é inferior àquele requerido para maximizar o desenvolvimento de ossos. O requerimento nutricional de fósforo disponível para frango de corte no período de 1 a 28 dias de idade segundo NRC (1994) e Rostagno (1996) é de respectivamente, 0,151 e 0,141%.

Trabalhando com fêmeas de corte no período de 1 a 21 dias de idade, Rostagno et al. (1988), utilizaram uma ração basal com baixo nível de fósforo disponível, suplementada com quatro diferentes níveis de fósforo. Os autores concluíram que a exigência nutricional de

fósforo disponível para fêmeas variou de 0,303% para ganho de peso e 0,392% para fósforo no fêmur.

Runho et al. (2001) trabalhando com machos e fêmeas no período de 1 a 21 dias de idade, utilizaram uma dieta basal de milho e farelo de soja com suplementação de diferentes níveis de fósforo disponível, sugerindo que a exigência de fósforo para frangos de corte neste período estudado é de 0,45% de fósforo total ou 0,148% de fósforo disponível/ Mcal de EM.

2.2. FÓSFORO EXCRETADO AO AMBIENTE

A poluição ambiental é definida como a contaminação por venenos, substâncias produzidas pelo homem, produção animal e outros organismos (WILLIAMS, 1995).

A produção intensiva comercial de frangos de corte tem crescido no Brasil na última década e juntamente com a produção de carne para a população, a produção de dejetos acompanha esta escala (GOVINDASAMY; COCHRAN, 1995). De acordo com Pizzolante (2000), somente nos Estados Unidos foram excretados cerca de 320 mil toneladas de fósforo por ano.

Uma das alternativas de uso dos dejetos gerados é a utilização destes como fertilizante orgânico para a agricultura, porém o mal uso acarreta em impactos socio-econômicos já que o nitrogênio, o fósforo e metais pesados são capazes de poluir principalmente a superfície de ambientes aquáticos. A deterioração da qualidade da água de costas marítima como o Golfo Pérsico e Mar Mediterrâneo têm sido relacionada ao processo de eutroficação e o excesso de nitrogênio e fósforo na água (HEATHWAITE; SHARPLEY, 1999), sendo que a escala do

problema já saiu do enfoque regional de poluição de açudes, lagos e rios documentado por Rast e Thornton (1996) e Ryding e Rast (1989).

De acordo com Burkholder e Glasgow Jr. (1997) e Matuszak et al. (1997), a alta concentração de nutrientes, principalmente fósforo e nitrogênio, encontrada na água de superfície do leste dos Estados Unidos, causou a proliferação do dinoflagelado *Pfiesteria piscida* que foi associado como o causador dos problemas neurológicos e câncer estomacal em humanos que consumiram de alguma forma esta água.

A retenção de fósforo no solo é um dos temas de relevância na perspectiva da nutrição da planta e eficiência de fertilização. Ao adicionar fósforo ao solo deve-se estar atento ao equilíbrio entre as fases sólidas e solúveis baseados na taxa de fósforo nas partículas do solo (TOOR; BAHL, 1999) e a adição deste deve estar embasado na saturação de fósforo no solo e na presença de outros minerais como ferro, aluminossilicatos, carbonatos e matéria orgânica (GOVINDASAMY; COCHRAN, 1995).

As perdas de fósforo por lixiviação podem variar entre 0,8 e 2,3 kg P por hectare por ano para solos fertilizados (FLAIG; REDDY, 1995), pois é na primeira camada do solo, entre 0 e 20 cm, que ocorre 60 a 90% do fósforo armazenado (SHARPLEY et al., 1994). Estas perdas em condições normais dependem da coincidência de fatores originais (solo, manejo, colheita) e de fatores de transporte (superfície, erosão e canalização) de acordo com Gburek e Sharpley (1998).

A adição de dejetos de frangos no solo como adubo inorgânico pode aumentar em até 0,167% o fósforo disponível para a planta para cada unidade de fósforo adicionado, quando não há saturação de fósforo no solo. (TOOR; BAHL, 1997).

As excretas de frangos de corte apresentam 1,8% de P, 11% de K e 1% de N na MS segundo Nicholson, Chambers e Smith. (1996). Ihnat e Fernandes (1996) descrevem o conteúdo analisado das excretas de frangos como sendo de 4,1% de P, 2,2% de K e 4,6% de N

na MS e estas características dependem do sistema de criação das aves, como tipo de instalação, dieta, aditivos empregados, tipo de cama e estocagem da excreta.

Existem estratégias que podem diminuir a excreção de nutrientes ao ambiente, sendo a primeira delas a melhora na eficiência alimentar utilizando conceitos como proteína ideal, suplementação com aminoácidos sintéticos, fontes de fósforo disponíveis, vitamina D, promotores de crescimento, formulações próximas aos requerimentos dos animais, granulometria adequada da dieta e rações peletizadas (NAHM, 2002). Outras são melhorar a disponibilidade nutricional dos alimentos suplementando as dietas com enzimas, aumentar a digestibilidade de fibras, avaliar a biodisponibilidade dos nutrientes no alimento e diminuir a ação de fatores antinutricionais (NAHM, 2002).

A redução de 12 a 15% no fósforo excretado foi observada por Wyatt e Harker (1995) quando utilizaram a fitase na dieta das aves.

Assim, por uma perspectiva sócio-econômica tem-se aliado o tratamento dos solos e das fontes de fósforo e nitrogênio para diminuir a poluição ambiental por nutrientes utilizados em larga escala na produção animal e agricultura comercial (NAHM, 2002).

2.3 ENZIMA FITASE

Existem diversas razões para a difusão e aplicação do uso de enzimas na nutrição animal e dentre as mais citadas estão a melhora no desempenho zootécnico dos animais, a redução na variação da qualidade dos ingredientes inseridos numa dieta e a redução na contaminação ambiental pela perda de nutrientes ao meio (WALDROUP, 1999).

A fitase ou mio-inositol hexaqui-fosfato fosfohidrolase é uma enzima pertencente ao grupo das fosfatases de histidina ácida que hidrolisam o fitato para mio-inositol e ácido ortofosfórico necessário ao processo metabólico na biosíntese celular (PANDEY et al., 2001). Há dois tipos de fitase a mio-inositol hexaqui-fosfato 3-fosfohidrolase (EC 3.1.3.8) denominada 3-fítase e a mio-inositol hexaqui-fosfato 6-fosfohidrolase (EC 3.1.3.26) denominada 6-fítase ou fitato 6-fosfatase (VOHRA; SATYANARAYANA, 2003).

2.1.3 Propriedades

Apesar de ter sido descoberta em 1907 por Suzuki et al. (KONERDAY, 1996b), somente a partir de 1991 foi que a enzima tornou-se economicamente viável para o uso em produção animal. Isto ocorreu porque a partir deste período pôde-se produzir a enzima a baixos custos através da tecnologia do DNA recombinante e devido ao aumento na demanda de produtos que diminuem a poluição ambiental, principalmente por fósforo e nitrogênio, produzido pelos animais criados em confinamento (KIES; VAN HEMERT; SAUER, 2001).

2.3.2 Fontes de fitase

De acordo com Vohra e Satyanarayana (2003), tem sido encontrada a fitase em cereais como arroz, trigo, milho, soja, feijão, triticle, sorgo e outras leguminosas ou sementes oleaginosas. Segundo Selle (1997), alimentos como cevada, farelo de trigo e arroz são ricos

em atividades de fitase, entretanto, milho e farelo de soja, ingredientes mais utilizados na fabricação de rações, contém pouca ou nenhuma atividade.

A fitase também foi encontrada no sangue de aves, répteis, peixes e tartaruga do mar (RAPOPORT; LEVA; GUEST, 1941), intestino de ratos (PATWARDHAN, 1937), intestino de suínos, ovinos e bovinos (SPITZER; PHILLIPS, 1972), frangos e humanos (BITAR; REINHOLD, 1972). Estudando a expressão gênica da enzima fitase no intestino e duodeno e frangos de corte e poedeiras, Maenz e Classen (1998) demonstraram que galinhas poedeiras apresentam atividade de fitase 35% maior no íleo que frangos, sendo que a atividade no íleo das aves é duas vezes maior que no duodeno.

Mesmo apresentando diferentes fontes de fitase, estudos têm comprovado que as mais promissoras comercialmente ainda são as microbianas como as provenientes das bactérias *Bacillus sp*, *Enterobacter sp*, *Escherichia coli*, de leveduras como *Arxula adenivorans* e *Hansenula polymorpha* e fungos como *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*. E *Talaromyces thermophilus* (PANDEY et al., 2001).

Técnicas como fermentação submersa e fermentação sólida são os processos de produção da enzima fitase mais discutidos recentemente, sempre considerando os fatores que afetam as técnicas de produção como o tipo de cepa, condições da cultura e disponibilidade de nutrientes para o crescimento microbiano (PANDEY; SOCCOL; MITCHELL, 2000). Em geral, o substrato mais utilizado para o *A. niger*, *A. terreus* e *E. coli* é o ácido fítico (WYSS et al., 1999).

A atividade da fitase é expressa como sendo a quantidade de enzima que hidrolisa 1 micromol de fósforo inorgânico por minuto proveniente de 1,5 mM de fitato de sódio em pH 5,5 e à temperatura de 37°C, expresso em unidade de fitase, PU ou FTU (YI et al., 1996). A fitase produzida a partir do *Aspergillus sp*. Apresenta atividade de 1.075 unidades de fitase/

minuto/ ml de cultura bruta em pH 5,5 a 40°C por 10 dias no processo de fermentação submersa (PANDEY et al., 2001).

De acordo com Dvorakova, Volfova e Kopecky (1997), a enzima fitase proveniente do *Aspergillus niger* 92 apresenta propriedades como 100 Kda , pH ótimo de funcionamento de 5,0, temperatura ótima de crescimento a 55°C e Km igual a 0,44. Estudando a biosíntese de fitase pela cultura de *Aspergillus niger* 307, Gargova e Sariyska (2003) e Simons et al. (1990) encontraram maiores atividades de fitase em pH 5,0 para temperatura de 58°C e em pH 2,5 para 56°C.

O pH ótimo de atividade da fitase de origem vegetal está entre 5,0 e 6,5, sendo inativada em pH menor ou igual a 3,0 (CASEY; WALSH, 2003).

A concentração de fósforo no meio é um fator determinante na biosíntese de fitase em cultura. Se utilizado como meio de cultura um grão de milho contendo altos níveis de fósforo, há uma supressão na produção de fitase. Se eliminar o fosfato do meio de cultura, a atividade específica para o *A. niger* é aumentada em 7,3 vezes (ZYTA; GOGOL, 2002).

As enzimas utilizadas como suplemento a nutrição animal devem suportar temperaturas altas devido a processamentos aplicados em rações comumente utilizadas nas indústrias como a peletização e a extrusão (BEDFORD, 2000).

As fitases provenientes do *A. fumigatus* e *A. niger* são desnaturadas a temperaturas entre 50 e 70°C, sendo que a última fitase quando exposta a temperaturas entre 55 a 90°C entra num processo irreversível de perda de atividade enzimática podendo chegar a 80% de perda da atividade total (WYSS et al., 1998).

2.3.3 Efeitos da fitase microbiana na digestibilidade de nutrientes e desempenho de aves

A viabilização da técnica de produção comercial das enzimas exógenas é um marco importante para a nutrição animal, pois permite o melhor aproveitamento dos nutrientes representando uma economia significativa no custo final das formulações de ração (KIES; VAN HEMERT; SAUER, 2001).

Trabalhos recentes têm demonstrado respostas positivas quanto a digestibilidade de nutrientes e desempenho de aves e suínos alimentados com rações à base de milho e soja quando suplementadas por enzimas exógenas (RAVINDRAN et al., 1999).

Nelson et al. (1968) foram os primeiros a adicionar a enzima fitase a uma ração líquida de soja para pintos de um dia de idade e obtiveram como resultado um considerável aumento na porcentagem de cinzas nos ossos, indicando assim a hidrólise do fósforo fítico pela enzima.

A suplementação de fitase na dieta à base de milho e farelo de soja com baixo fósforo não fítico é capaz de modificar os requerimentos nutricionais de frangos de 3 a 6 semanas de idade (NRC, 1994). Os requerimentos nutricionais de frangos para fósforo decresceram 0,84% quando suplementados com 0,20% de fósforo não fítico e 0,60% suplementados com 0,10% baseados nos valores de ganho de peso e eficiência alimentar. Baseado nos valores de retenção mineral na tíbia, houve um decréscimo de 1,2% quando suplementados com 0,35% de P não fítico e 1,0% quando suplementado com 0,25% de P não fítico (YAN; KERSEY; WALDROUP, 2001).

Em um ensaio de digestibilidade utilizando dietas semi-purificadas Ravindran et al. (1999) observaram uma melhora significativa na digestibilidade ileal de proteína e aminoácidos em diferentes ingredientes pela adição de fitase. Segundo o autor, os

ingredientes que naturalmente apresentavam baixa digestibilidade ileal demonstravam melhores respostas à adição da fitase. As respostas a adição de fitase são influenciadas não somente pela quantidade de fósforo fítico, mas também pelas propriedades químicas e estruturais dos complexos formados entre o fitato e proteínas.

Konergay (1996b) e Sebastian et al. (1997) observaram em seus estudos as melhorias na digestibilidade de proteínas e aminoácidos com a adição de fitase microbiana em 1,8 a 4,3%. De acordo com os autores, o fitato presente nos alimentos inibe a ação de enzimas digestivas e ao adicionar a fitase para quebrar o complexo do fósforo fítico, diminui-se a ação do fitato sobre estas enzimas aumentando a digestibilidade.

Utilizando duas fontes distintas de fitase, sendo a fonte um com 500 FTU/ kg de dieta e a fonte dois com 750 FTU/kg de dieta, Tejedor et al. (2001) comprovaram que a adição de ambas as fontes incrementaram os coeficientes de digestibilidade de proteína bruta em 1 e 1,7%, de energia bruta em 1 e 1,2%, de cálcio em 3,5 e 5% e de fósforo em 3,5 e 4%, respectivamente para as fontes de fitase um e dois.

Sebastian et al. (1996a) obtiveram resultados próximos aos descritos por Tejedor et al. (2001) em dietas com baixo teor de P adicionadas de 600 FTU/kg dieta de Natuphós®, incrementando em 12,4% a digestibilidade aparente de P em frangos machos de 21 dias de idade. A suplementação de fitase também melhorou o teor de P e Ca na tíbia em 0,65% e 1,4%, respectivamente, e o peso corporal das aves em 13,2% para machos e 5,8% para fêmeas, sem afetar a eficiência alimentar.

Também foi observado por Viveros et al. (2002) que a inclusão de 500 FTU/ kg dieta de Natuphós®, melhorou em 6,3% o ganho de peso e não houve efeito de consumo e eficiência alimentar em frangos de corte durante o período de 6 semanas. A retenção de fósforo aumentou em 10,1% no mesmo período e a retenção de Ca, Mg e Zn aumentou

respectivamente 15, 23 e 93,6%. Além disso, a excreção de P e Ca foi diminuída em 6,3 e 2,7% nos frangos que se alimentaram das dietas com baixo P total adicionando a enzima.

Resultados semelhantes em frangos também foram encontrados por Ahmad et al. (2000), Broz et al. (1994), Fernandes et al. (1999), Leeson et al. (2000), Perney et al. (1993) e Punna e Roland (1999).

Quando a fitase foi adicionada à uma dieta semi-purificada para frangos de corte com baixos níveis de fósforo total, Meister (2001) determinou que a biodisponibilidade relativa do fósforo baseada na mineralização óssea, foi melhorada em 225% com o uso do milho como fonte alternativa, em 1400% com o uso do sorgo e 142% para o triticales comparada ao uso do fosfato como fonte de fósforo.

Johnston e Southern (2000) estudando a desuniformidade na mistura de fitase em dietas para frangos de corte, não encontraram diferença significativa na eficiência e consumo alimentar, sendo que o ganho de peso foi diminuído conforme aumentou a variação do nível de fitase adicionada. Também não houve diferença significativa para retenção de fósforo e cálcio na tíbia, assim como resistência à quebra dos ossos com os níveis alternados de fitase. Contudo, ao comparar a dieta com e sem a adição de fitase (600 FTU/ kg dieta), os autores encontraram diferenças significativas em todos os parâmetros estudados, em concordância com os demais autores citados.

Schoener et al. (1993) demonstraram que a suplementação de fitase é dose dependente, onde o aumento dos níveis de fitase aumenta a utilização de Ca. Os mesmos resultados foram encontrados por Shirley e Edwards Jr (2003) utilizando diferentes níveis de fitase inclusive acima do estipulado pelos fabricantes. A suplementação de fitase em 12000 FTU/kg dieta melhorou em 180% o ganho de peso, 156% o consumo alimentar, aumentou o peso da tíbia em 300%, retenção de P total em 157%, retenção de N em 134%, energia metabolizável aparente em 106% e reduziu o índice de raquitismo de 80 para 3%.

A discondroplasia da tíbia é uma lesão na cartilagem do osso na região tíbia-tarso e tarso-metatarso e inicia-se na matriz óssea durante o período de crescimento. As causas ainda não foram bem identificadas. Punna e Roland (2001) selecionaram frangos com alta e baixa sensibilidade genética em apresentar a lesão e adicionaram 600 FTU/ kg dieta de Natuphós® na dieta com baixo fósforo. Comparada ao controle, a dieta suplementada com fitase diminuiu o escore de lesão de 1,88 para 1,5 nos frangos com alta sensibilidade e reduziu de 33,3 para 24,9% a incidência da lesão nos frangos com baixa sensibilidade, sugerindo que a fitase é capaz de reduzir a incidência de discondroplasia da tíbia por melhorar a utilização de P e Ca pelas aves.

O nível de cálcio na dieta também se torna um importante fator a ser considerado ao suplementar a dieta com fitase, pois o cálcio em altas concentrações pode precipitar o fitato formando um complexo insolúvel Ca-fitato no intestino, além de competir pelos mesmos sítios de atividade da enzima. Sebastian et al. (1996b) concluíram que o menor nível de cálcio estudado (0,66%) foi o que apresentou o melhor desempenho para os animais com a suplementação de fitase.

Assim, a adição de fitase às dietas pode trazer benefícios à produção de aves melhorando a utilização do fósforo, reduzindo a ocorrência dos processos de eutroficação das águas e diminuindo o uso de fontes inorgânicas nas rações comerciais (ZANINI et al., 1999).

2.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Frente as questões econômicas, ambientais e sociais apresentadas, os objetivos deste presente estudo são:

1. Estudar o efeito de níveis crescentes de fósforo fornecido por fosfato bicálcico, soja integral tostada, soja integral extrusada e farelo de trigo nos parâmetros consumo de ração, conversão alimentar, ganho de peso e mineralização óssea em frangos de corte no período 21 dias, alimentados com rações contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração.
2. Estudar os efeitos da fitase microbiana sobre a excreção do fósforo em frangos de corte.
3. Estudar a eficiência e determinar a biodisponibilidade relativa do fósforo nos ingredientes soja integral tostada, soja integral extrusada e farelo de trigo

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS, INSTALAÇÕES E PERÍODO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido nas dependências do aviário experimental da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, localizado no Campus de Pirassununga – SP, no período de 6 de agosto a 27 de agosto de 2002.

Foram utilizados 504 pintos de corte, machos, de um dia de idade, da linhagem comercial Cobb, distribuídos em 18 tratamentos com 4 repetições, sendo alocados 7 pintos/gaiola, durante o período de 21 dias. O peso médio dos pintos ao primeiro dia de idade foi de 0,045 kg/ave e durante as primeiras 24 horas onde os pintos receberam ração comercial à vontade à base de milho e farelo de soja e quando iniciado os tratamentos experimentais, os cochos foram limpos para a troca de dieta. As aves foram distribuídas aleatoriamente nas gaiolas aleatoriamente sendo que a média geral do peso das aves foi de 0,065 kg/ ave (desvio padrão $\pm 0,0015$).

As gaiolas de aço inoxidável eram dispostas em 3 baterias (2,0 x 1,70 x 0,73 m) de 6 andares totalizando 24 gaiolas equipadas com aquecimento elétrico de lâmpadas de 60 W, um comedouro por gaiola (0,64 x 0,06 x 0,06m) e dois bebedouros tipo “nipple”, sendo o abastecimento de água individualizado por bateria e à vontade. Abaixo de cada gaiola, havia uma bandeja também de aço inoxidável (0,97 x 0,32m) para coleta individual de excreta da unidade experimental.

A temperatura ambiental foi registrada diariamente por meio de termômetro de máxima e mínima posicionado entre as baterias para determinar se houve efeito de estresse térmico durante o período experimental.

As temperaturas máxima e mínima foram de 36,5 e 22°C respectivamente, sendo a média de 26,4°C.

3.2 FONTES DE FÓSFORO E FITASE

Foram utilizadas quatro fontes de fósforo para determinar a disponibilidade biológica relativa do fósforo sendo elas o fosfato bicálcico, como fonte mineral e o farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada, como fontes orgânicas de fósforo.

A fonte de fitase utilizada foi a Ronozyme® (Roche Ltda), contendo 2.500 unidades de fitase por grama de produto. Cada unidade de fitase é definida como a quantidade de enzima capaz de liberar 1 μmol de fósforo inorgânico por minuto de 5,1 mM de fitato de sódio em pH 5,5 a 37°C.

3.3 RAÇÕES EXPERIMENTAIS

Foi confeccionada uma dieta basal semi-purificadas à base de amido de milho e farelo de soja de acordo com os padrões de exigências nutricionais do National Research Council (NRC, 1994) para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, sendo que somente o fósforo total apresentava-se abaixo da exigência, calculado em 0,40% de P total em todas as rações. Foi adicionado 0,20% de óxido crômico à dieta basal como marcador de digestibilidade.

A partir da dieta basal foram produzidas outras oito rações contendo 0,05 ou 0,10% de P adicionado fornecido por fosfato bicálcico, soja integral tostada, soja integral extrusada ou farelo de trigo, estes incluídos às expensas do amido de milho da dieta. Outras nove rações foram produzidas, idênticas às nove anteriores, porém contendo Ronozyme® adicionada de modo a fornecer o equivalente a 750 FTU/ kg de ração, totalizando 18 rações experimentais com a composição nutricional expressa em seguida na Tabela 1.

As rações experimentais foram fornecidas na forma farelada sendo a distribuição diária e à vontade, formuladas de modo que a energia metabolizável era constante para todas as dietas, variando o teor de óleo de soja adicionado e apresentando os mesmo valores dos aminoácidos metionina + cistina, variando a inclusão de DL-metionina sintética

O nível de cálcio calculado foi ajustado para cada tratamento de modo que a relação Ca:P fosse mantida constante em 2:1, variando-se a quantidade de calcário e de amido empregados.

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais ⁽¹⁾

INGREDIENTES	1 e 10	2 e 11	3 e 12	4 e 13	5 e 14	6 e 15	7 e 16	8 e 17	9 e 18
Amido-Milho	50,15	49,52	48,89	43,24	36,44	40,49	30,92	30,92	30,92
Farelo de Trigo				4,40	8,70				
Soja, grão tostado						8,70	17,30		
Soja, grão extrusado								8,70	17,30
Óleo soja	0,17	0,43	0,70	2,50	4,70	1,00	1,80	1,80	1,80
Farelo de Soja	46,50	46,50	46,50	46,50	46,50	46,50	46,50	46,50	46,50
Sal	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Calcário-38%	1,41	1,50	1,58	1,60	1,90	1,60	1,80	1,60	1,80
Fosf.Bic. 18/24%	0,54	0,82	1,10	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54
Colina-Cl-60%	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
DL-Metionina-99%	0,30	0,30	0,30	0,29	0,28	0,26	0,21	0,21	0,21
Px. Min.Aves ⁽²⁾	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Px.vit. frangos ⁽³⁾	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40

ANÁLISE CALCULADA

Prot.Bruta (%)	21,10	21,10	21,10	21,78	22,46	24,29	27,45	24,29	27,45
Ext.Etéreo (%)	0,37	0,37	0,37	0,50	0,63	1,94	3,49	1,94	3,49
Fibra Bruta (%)	3,26	3,26	3,26	3,74	4,21	3,73	4,21	3,73	4,21
Cálcio (%)	0,80	0,90	1,00	0,90	1,00	0,90	1,00	0,90	1,00
Fósforo Total (%)	0,40	0,45	0,50	0,45	0,50	0,45	0,50	0,45	0,50
Fósforo não fitico (%)	0,22	0,27	0,31	0,23	0,24	0,23	0,24	0,23	0,24
EM-AVES (Kcal/Kg)	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900
Metionina	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77
Lisina	1,28	1,28	1,28	1,31	1,33	1,47	1,67	1,47	1,67
Metionina+Cistina	1,08	1,08	1,08	1,10	1,11	1,13	1,18	1,13	1,18

⁽¹⁾ Suplementação com fitase: 0 FTU (dietas 1 a 9) e 750 FTU (dietas 10 a 18).

⁽²⁾ Suplemento mineral, fornece por Kg de dieta: ferro, 40 mg; cobre, 12 mg; zinco, 120 mg; manganês, 100 mg; iodo, 2,5 mg; cobalto, 0,75 mg.

⁽³⁾ Suplemento vitamínico, fornece por Kg de dieta: vitamina A, 10000 UI; vitamina D3, 2000 UI; vitamina E, 10 mg; vitamina K3, 2 mg; tiamina, 1 mg; riboflavina, 5 mg; piridoxina, 2 mg; vitamina B 12, 15,4 mcg; ácido nicotínico, 125 mg; pantotenato de cálcio, 10 mg; ácido fólico, 0,25 mg; biotina, 0,02 mg; selênio, 0,1 mg; antioxidante, 30 mg.

3.4 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS

3.4.1 Desempenho animal

No 7º, 14º e 21º dias de experimento foram colhidos os dados referentes a peso corporal e consumo de ração por gaiola, designada unidade experimental, sendo a mortalidade registrada diariamente.

Os valores de ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e mortalidade foram calculados semanalmente para o período de 21 dias de experimento.

3.4.2 Parâmetros ósseos

Ao final do período experimental, 3 aves por gaiola foram abatidas por deslocamento cervical de modo a serem coletadas as respectivas amostras para posterior análise laboratorial.

Foram retiradas as tíbias esquerdas e direitas de cada ave formando um “pool” de 3 amostras por repetição. As tíbias esquerdas foram descarnadas no momento do abate sem injúrias de osso e cartilagem e congeladas a -20°C. As amostras de osso da tíbia após descongelamento, foram secas a 105°C por 48 horas e submetidas em seguida à extração de gordura por tratamento sucessivo com éter de petróleo durante o período de 8 horas. Em seguida, foram colocados a estufa 105°C para secagem por 12 horas, pesados, calcinados em mufla a 600°C por 8 horas e novamente pesados após resfriamento.

Foram removidos os dedos médios das pernas direitas entre o 2º e 3º tarso da porção distal, retirando-se a unha (FRITZ et al., 1968). O “pool” de dedos médios direitos foi seco a 105°C em estufa durante 12 horas e pesados após resfriamento. Em seguida foram levados a mufla 600°C por 8 horas e pesados em seguida para cálculo de cinzas ósseas.

3.4.3 Análise das excretas

As excretas dos frangos foram colhidas em cada um dos 3 dias anteriores ao abate formando um “pool” de 3 amostras por repetição e congeladas imediatamente a -20°C.

Após serem descongeladas, as excretas foram pré secas a 65°C e então pesadas. Após serem moídas em peneira de 1 mm, foram pesadas e secas em estufa 105°C para determinação de matéria seca. Em seguida foram calcinadas em mufla a 550°C por 4 horas, pesadas novamente e solubilizadas em ácido clorídrico para obtenção de solução mineral e posterior análise de fósforo.

À partir de uma alíquota de 0,2 ml da amostra de solução mineral, foram adicionados molibdato de amônio e ácido ascórbico para leitura do fósforo total em colorímetro em filtro 670 nm, sendo determinada a porcentagem de fósforo excretado pelas aves.

3.4.4 Rações experimentais

As rações foram analisadas para proteína bruta, extrato etéreo, cálcio, fósforo e energia bruta e a soja integral tostada e extrusada avaliadas para solubilidade e urease de acordo com as metodologias aplicadas pela A.O.A.C. (1980).

As dietas foram analisadas para atividade de fitase pela Roche Vitaminas através do método “Vanadate Manual” (ENGELEN et al., 1994).

3.5 BIODISPONIBILIDADE RELATIVA DO FÓSFORO

A estimativa da biodisponibilidade relativa do fósforo proveniente dos alimentos testados foi calculada pela técnica do “slope ratio” (COMBS JR, 1955 apud WALDROUP et al., 1965; AMMERMAN; BAKER; LEWIS, 1995), na qual a inclinação da curva de regressão de cada alimento testado, em função de níveis de fósforo suplementar ingeridos, foi dividida pela inclinação da linha de regressão do fosfato padrão, para o qual se estabeleceu o valor de 100%. Os parâmetros utilizados para esta estimativa foram ganho de peso das aves, peso de cinzas na tíbia e no dedo médio aos 21 dias do período experimental.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados de acordo com o delineamento de blocos casualizados, utilizando procedimentos de análise de variância descritos por Snedecor e Cochran (1967) com o emprego de rotinas do “General Linear Model” do programa estatístico “Statistical Analysis System” (SAS, 1990).

A análise de variância dos parâmetros de desempenho e ósseos obedeceu a um modelo fatorial 4x2x2 com quatro fontes de fósforo, dois níveis de fitase e dois níveis suplementares de fósforo. Foi utilizado teste de Duncan para o contraste entre as médias das fontes e análise de variância para as médias dos níveis de fósforo e fitase (SAS, 1990). Os resultados obtidos com o uso da dieta basal (com e sem fitase) foram utilizados apenas nos cálculos de biodisponibilidade de fósforo, sendo, portanto, excluídos da análise de variância.

Os resultados de ganho de peso, peso de cinzas na tíbia e nos dedos médios foram submetidos a análise de regressão em função dos níveis suplementares de fósforo ingerido (SAS, 1990) e os dados de mortalidade foram analisados pelo Teste do Qui-Quadrado (SNEDECOR; COCHRAN, 1967).

4 RESULTADOS

4.1 DESEMPENHO ANIMAL

4.1.1 Consumo de ração

Os valores referentes aos consumos médios diários de ração (g/dia) no período de 1 a 22 dias de idade são apresentados na Tabela 2, de acordo com as diferentes fontes e níveis de fósforo e adição de fitase. Os valores referentes as aves que receberam dietas basais (P total = 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da Tabela 2.

A média geral do consumo médio de ração diário foi de 41,00 g/dia e as aves que receberam as dietas basais (P total= 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/ kg de ração, apresentaram valores de consumo de ração de 36,92 ou 39,11 g/dia, respectivamente.

O consumo médio de ração das aves alimentadas com as quatro diferentes fontes de fósforo estudadas demonstrou diferença ($P<0,05$) independentemente dos níveis de fósforo e adição de fitase (Tabela 20). O consumo de ração foi maior ($P<0,05$) como uso do fosfato bicálcico (42,37 g/dia) e menor com o uso da soja integral tostada (39,40 g/dia), porém os valores de consumo encontrados com o uso do farelo de trigo (40,71 g/dia) e soja integral extrusada (41,53 g/dia) não diferiram do valor encontrado com o uso do fonte fosfato bicálcico. Os valores de consumo encontrados como uso do farelo de trigo, da soja integral tostada e da soja integral extrusada apresentados acima, não diferiram entre si.

Houve diferença ($P < 0,05$) entre os níveis de fósforo, independentemente das fontes de fósforo e adição de fitase para consumo de ração. As aves que receberam na dieta a adição de 0,05% de P apresentaram valor de consumo médio de ração de 40,08 g/dia, sendo 4,62% menor que o consumo das aves que receberam 0,10% de P suplementar (41,93 g/dia).

Não foi observada diferença para adição de fitase independentemente dos níveis de fósforo e fontes de fósforo. As aves alimentadas com as dietas sem adição de fitase apresentaram valores médios de consumo de 40,32 g/dia e com a adição de 750 FTU/kg de ração apresentaram valores médio de 41,68 g/dia. Entretanto, independentemente das fontes de fósforo, o maior valor de consumo de ração pelas aves ($P < 0,05$) foi observado para o nível de 0,10% de P suplementar com adição de fitase (43,00 g/dia) e o menor para 0,05% de P suplementar com a adição de fitase (40,36 g/dia), sendo que não houve diferença entre os níveis de P suplementar sem a adição de fitase à dieta das aves.

O consumo de ração pelas aves diferiu entre as fontes estudadas na ausência de fitase independentemente do nível de fósforo suplementar. Foram observados que os maiores valores de consumo de ração pelas aves ($P < 0,05$) foram com o uso do fosfato bicálcico (41,78 g/dia), farelo de trigo (41,16 g/dia) e soja integral extrusada (41,48 g/dia). O menor valor de consumo médio foi observado para o uso da soja integral tostada (38,11 g/dia), porém não houve diferença quanto ao consumo das aves observado pelo uso da soja integral extrusada.

Não foi observado diferença entre as fontes estudadas com a adição de 750 FTU/kg ração independentemente do nível de P suplementar e não houve efeito de interação entre fontes de fósforo, níveis de fósforo e níveis de fitase.

Tabela 2 - Consumo de ração das aves aos 22 dias de idade, g/dia ⁽¹⁾⁽²⁾

Fonte de P	Fitase, FTU/kg								Geral	
	0				750					
	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	Médias	Desvio Padrão
0,05	0,10	0,05			0,10					
Fosfato	41,06	42,49	41,78 ^A	1,62	41,83	44,09	42,96	3,15	42,37 ^A	2,50
Farelo de Trigo	41,00	41,33	41,16 ^A	3,33	39,96	40,55	40,26	4,69	40,71 ^{AB}	3,96
Soja tostada	38,11	38,11	38,11 ^B	2,78	38,76	42,62	40,69	4,24	39,40 ^B	3,72
Soja extrusada	39,00	41,48	40,24 ^{AB}	2,29	40,88	44,74	42,81	2,84	41,53 ^{AB}	2,83
Níveis										
Médias	39,79	40,85			40,36 ^b	43,00 ^a				
Desvio Padrão	2,67	2,98			4,41	2,67				
Fitase										
Médias		40,32				41,68			41,00	
Desvio Padrão		2,84				3,83			3,41	

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de consumo médio de ração de 36,92 ou 39,11 g/dia, respectivamente.

⁽²⁾ Linhas com letras maiúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.
Colunas com letras minúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pela análise de variância.

4.1.2 Ganho de peso

Os valores referentes aos ganhos de peso médios diários (g/dia) no período de 1 a 22 dias de idade são apresentados na Tabela 3, de acordo com as diferentes fontes e níveis de fósforo e diferentes níveis de fitase. Os valores referentes as aves que receberam dietas basais (P total = 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da Tabela 3.

A média geral referente ao ganho de peso médio diário foi de 34,68 g/dia e as aves que receberam as dietas basais (P total= 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/ kg de ração, apresentaram valores de ganho de peso de 20,42 ou 22,01 g/dia, respectivamente.

Os valores referentes ao ganho de peso das aves não diferiram entre si quando adicionadas as diferentes fontes de fósforo, independentemente dos níveis de P suplementar e adição de fitase. Entretanto, a adição de 0,10% de P suplementar à dieta basal aumentou em 8,71% o ganho de peso das aves (23,65 g/dia para 0,05% de P suplementar e 25,71 g/dia para 0,10% de P suplementar), independentemente das fontes de fósforo e adição de fitase.

Não foi observada diferença ($P < 0,05$) entre os valores de ganho de peso com ou sem a adição de fitase independentemente das fontes e dos níveis de fósforo. Na ausência de fitase, o valor de ganho de peso de 25,23 g/dia referente a adição de 0,10% de P foi maior em 6,85% que o valor de 23,50 g/dia para a adição de 0,05% de P. Para a adição de 750 FTU/kg de ração, o ganho de peso foi 9,09% maior para 0,10% que para 0,05% de P suplementar (26,19 vs 23,81 g/dia).

Não houve efeito de interação entre fontes de fósforo e níveis de fósforo e níveis de fitase ($P < 0,05$).

Tabela 3 - Ganho de peso diário das aves aos 22 dias de idade, g/dia ⁽¹⁾⁽²⁾

Fonte de P	Fitase, FTU/kg								Geral	
	0				750					
	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	Médias	Desvio Padrão
0,05	0,10	0,05			0,10					
Fosfato	23,29	24,88	24,08	1,09	24,16	25,57	24,87	1,70	24,47	1,44
Farelo de Trigo	23,98	26,16	25,07	2,71	23,09	25,04	24,07	2,20	24,57	2,44
Soja tostada	23,45	23,40	23,42	1,79	23,57	26,74	25,16	3,52	24,29	2,84
Soja extrusada	23,28	26,47	24,87	2,08	24,40	27,41	25,91	2,68	25,39	2,38
Níveis										
Médias	23,50 ^b	25,23 ^a			23,81 ^b	26,19 ^a				
Desvio Padrão	1,76	1,94			2,6	1,97				
Fitase										
Médias		24,36				25,00			24,68	
Desvio Padrão		2,02				2,57			2,32	

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de Ganho de peso médio diário de 20,42 ou 22,01 g/dia, respectivamente.

⁽²⁾ Linhas com letras maiúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.
Colunas com letras minúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pela análise de variância.

4.1.3 Conversão alimentar

Os valores obtidos de conversão alimentar (g de ração/ kg de peso vivo) das aves no período de 1 a 22 dias de idade estão apresentados na Tabela 4 de acordo com as fontes de fósforo, níveis de fósforo suplementar e níveis de fitase. Os valores de conversão alimentar das aves que receberam as dietas basais (P total= 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da Tabela 4.

A média geral para conversão alimentar das aves foi de 1666 g/kg de ração e as aves que receberam as dietas basais (P total = 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/ kg de ração, apresentaram valores de 1817 ou 1777 g/kg, respectivamente.

Os melhores valores de conversão alimentar das aves foram observados para o uso do farelo de trigo (1662 g/kg), soja integral tostada (1627 g/kg) e soja integral extrusada (1641 g/kg), sendo o pior valor e diferente dos demais com o uso do fosfato bicálcico (1732 g/kg). Foi observada diferença ($P<0,05$) para nível de P suplementar, independente de fonte de fósforo e níveis de fitase. A adição de 0,10% de P suplementar piorou em 3,92% a conversão alimentar das aves (1698 vs 1634 g/kg para 0,05% e 0,10% de P suplementar, respectivamente).

Considerando o efeito da adição de fitase independentemente dos níveis de P suplementar e fontes de fósforo, não foi observada diferença ($P<0,05$) na conversão alimentar das aves com ou sem a adição de fitase nas dietas. Contudo, ao considerar os níveis de P adicionados às dietas independentemente das fontes de fósforo, foi observada diferença ($P<0,05$) de 75 g/kg entre os níveis 0,05 e 0,10% de P suplementar na ausência de fitase (1696 vs 1621 g/kg, respectivamente), não havendo diferença entre os níveis de fósforo na adição de 750 FTU/ kg de ração.

Na ausência de fitase, o pior valor de conversão alimentar apresentado pelas aves foi observado com o uso do fosfato bicálcico (1735 g/kg), sendo que o farelo de trigo (1.649 g/kg), a soja integral tostada (1629 g/kg) e a soja integral extrusada (1622 g/kg) não diferiram entre si nos valores de conversão. Com a adição de 750 FTU/ kg de ração, não houve diferença entre as fontes estudadas e não houve efeito de interação entre fontes de fósforo e níveis de fósforo, e níveis de fitase ($P < 0,05$).

Tabela 4 - Conversão alimentar das aves aos 22 dias de idade, g/ kg ⁽¹⁾⁽²⁾

Fonte de P	Fitase, FTU/kg								Geral	
	0				750					
	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	Médias	Desvio Padrão
0,05	0,10	0,05			0,10					
Fosfato	1762	1709	1735 ^A	56	1732	1725	1729	89	1732 ^A	72
Farelo de Trigo	1720	1578	1649 ^B	110	1726	1621	1673	138	1662 ^B	121
Soja tostada	1626	1632	1629 ^B	83	1653	1598	1626	75	1627 ^B	76
Soja extrusada	1677	1566	1622 ^B	76	1684	1638	1661	122	1641 ^B	100
Níveis										
Médias	1696 ^a	1621 ^b			1699	1646				
Desvio Padrão	95	73			120	96				
Fitase										
Médias		1659				1672			1666	
Desvio Padrão		92				110			101	

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de Ganho de peso médio diário de 1817 ou 1777 g/kg, respectivamente.

⁽²⁾ Linhas com letras maiúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.
Colunas com letras minúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pela análise de variância.

4.2 PARÂMETROS ÓSSEOS

4.2.1 Peso de cinzas na tíbia

Os pesos de cinzas na tíbia das aves (mg) durante o período de 1 a 22 dias de idade são apresentadas na Tabela 5 de acordo com fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase. Os mesmos valores apresentados pelas aves que consumiram as dietas basais (P total= 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da Tabela 5.

A média geral para peso de cinzas na tíbia foi de 1907 mg. e as aves que receberam as dietas basais (P total = 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/ kg de ração, apresentaram valores de peso de cinzas na tíbia de 1347 ou 1572 mg respectivamente.

Houve diferença ($P<0,01$) no peso de cinzas na tíbia das aves alimentadas com as diferentes fontes de fósforo independentemente de níveis de P suplementar e adição de fitase. Aos 22 dias de idade, o peso de cinzas na tíbia das aves foi maior com o uso do fosfato bicálcico (2047 mg). Os valores encontrados de peso de cinzas na tíbia com o uso do farelo de trigo, da soja integral tostada ou extrusada não diferiram entre si (1830, 1834 e 1917 mg, respectivamente).

Foi observada diferença ($P<0,01$) entre os níveis de fósforo independentemente das fontes de fósforo e adição de fitase. O peso de cinzas na tíbia das aves com a suplementação de 0,10% de P foi de 2030 mg, sendo maior ($P<0,05$) que o nível de 0,05% de P suplementar (1784 mg).

Foi observado um incremento de 12,06% (1799 vs 2016 mg) com a adição de 750 FTU/kg de ração à dieta, independentemente dos níveis de P suplementar e fontes de fósforo

($P<0,01$). Na ausência de fitase, houve uma diferença ($P<0,01$) de 13,73% no peso de cinzas na tíbia das aves com a suplementação de 0,05 ou 0,10% de fósforo (1683 vs 1914 mg, respectivamente) e com a adição de fitase a diferença entre os níveis de P suplementar 0,05 e 0,10%, foi de 13,96% (1884 e 2147 mg, respectivamente). Com a adição de fitase foi observada diferença ($P<0,05$) entre os valores de peso de cinzas na tíbia das aves para as fontes de fósforo estudadas, independentemente dos níveis de P suplementar. O peso de cinzas na tíbia apresentou maior valor com o uso do fosfato bicálcico (1967 mg) e menor valor com o uso da soja integral tostada (1617 mg), na ausência de fitase. O valor encontrado com o uso do farelo de trigo (1855 mg) não diferiu do valor encontrado com o uso do fosfato bicálcico e da soja integral extrusada (1755 mg), porém foi maior que o peso de cinzas na tíbia com o uso da soja integral tostada ($P<0,05\%$). Não houve diferença entre os valores de peso das cinzas na tíbia com o uso da soja integral extrusada e da soja integral tostada. Quando adicionado 750 FTU/kg à dieta, foi observado menor valor de peso das cinzas na tíbia ($P<0,05$) com o uso do farelo de trigo (1806 mg) que com o uso do fosfato bicálcico, soja integral tostada ou extrusada (2128, 2051 e 2079 mg, respectivamente).

Houve efeito de interação ($P<0,01$) entre fontes de fósforo e adição de fitase, independentemente de níveis de fósforo adicionado, indicando que o efeito da adição de fitase foi diferente nas distintas fontes avaliadas. As interações entre fontes de fósforo e níveis de fitase para peso de cinzas na tíbia são apresentados na Tabela 6 e ilustrados pelo Gráfico 1.

Na ausência de fitase, o peso de cinzas na tíbia com o uso do fosfato bicálcico (1967 mg) e o farelo de trigo (1855 mg) foram maiores que com o uso da soja integral tostada (1617) ou extrusada (1755 mg). Quando adicionada fitase, o peso de cinzas na tíbia foram maiores ($P<0,05$) com o uso do fosfato bicálcico (2128 mg), da soja integral tostada (2051 mg) e da soja integral extrusada (2079 mg) e menor com o uso do farelo de trigo (1806 mg).

Tabela 5 - Peso de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, mg ⁽¹⁾⁽²⁾

Fonte de P	Fitase, FTU/kg								Geral	
	0				750					
	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	Médias	Desvio Padrão
0,05	0,10	0,05			0,10					
Fosfato	1781	2152	1967 ^A	213	1931	2324	2128 ^A	259	2047 ^A	244
Farelo de Trigo	1787	1924	1855 ^{AB}	137	1664	1948	1806 ^B	204	1830 ^B	170
Soja tostada	1457	1777	1617 ^C	256	1979	2122	2051 ^A	199	1834 ^B	315
Soja extrusada	1709	1802	1755 ^{BC}	117	1964	2193	2079 ^A	226	1917 ^B	241
Níveis										
Médias	1683 ^b	1914 ^a			1884 ^b	2147 ^a				
Desvio Padrão	167	214			210	213				
Fitase										
Médias		1799 ^b				2016 ^a			1907	
Desvio Padrão		222				247			257	

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de cinzas na tíbia de 1347 ou 1572 mg respectivamente.

⁽²⁾ Linhas com letras maiúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.
Colunas com letras minúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pela análise de variância.

Tabela 6 - Interação entre fonte e nível de fitase para peso de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, mg/dia ⁽¹⁾

Fonte de P	0		Fitase, FTU/ kg			Desvio Padrão
			Desvio Padrão	750		
Fosfato	1967	BC	213	2128	A	259
Farelo de Trigo	1855	BD	137	1806	D	204
Soja tostada	1617	E	256	2051	AC	199
Soja extrusada	1755	DE	117	2079	A	226

⁽¹⁾ Linhas e colunas com letras distintas diferem significativamente ($P < 0,05$) pela análise de variância.

Gráfico 1 - Interação entre fonte e nível de fitase para peso de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, mg/dia

4.2.2 Porcentagem de cinzas na tíbia

Os valores de cinzas na tíbia (%) aos 22 dias de idade são apresentados na Tabela 7, de acordo com fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase. Os valores referentes às aves que receberam as dietas basais (P total = 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da Tabela 7.

A média geral de porcentagem de cinzas na tíbia foi de 32,88% e as aves que receberam as dietas basais (P total= 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/ kg de ração, apresentaram valores de porcentagem de cinzas na tíbia de 28,31 ou 31,57%, respectivamente.

Os resultados encontrados demonstraram que o maior valor de porcentagem de cinzas na tíbia ($P<0,05$) foi com o uso do fosfato bicálcico (36,24%) e o menor valor foi com o uso da soja integral tostada (31,03%), independentemente de níveis de P suplementar e adição de fitase. Os valores encontrados com o uso do farelo de trigo (32,34%) e da soja integral extrusada (31,94%) não diferiram entre si, bem como o valor encontrado para o uso da soja integral extrusada não diferiu daqueles encontrados com o uso da soja integral tostada.

Considerando os níveis de fósforo suplementar, houve diferença ($P<0,01$) nos valores de porcentagem de cinzas nas tíbias, independentemente de fonte de fósforo e adição de fitase. A suplementação com 0,10% de P apresentou maior valor de porcentagem de cinzas na tíbia das aves que a adição de 0,05% de P (33,69 vs 32,08%, respectivamente).

Com a adição de 750 FTU/ kg de ração à dieta, independentemente de fontes e níveis de fósforo, houve um incremento de 7,34% nos valores de porcentagem de cinzas na tíbia das aves (31,72% vs 34,05%). Foi observado que a suplementação de 0,10% de P com a adição de fitase à dieta melhorou em 6,45% a porcentagem de cinzas na tíbia, quando comparado a

suplementação de 0,05% de P (35,11 vs 32,98%, respectivamente), o que não foi observado sem a adição de fitase à dieta.

Na ausência de fitase, foi observado que com o uso do fosfato bicálcico (35,28%) resultou no maior valor de porcentagem de cinzas na tíbia, sendo que o uso da soja integral tostada (28,95%) resultou no menor valor para o parâmetro analisado. O uso do farelo de trigo (31,82%) e da soja integral extrusada (30,84%), não diferiram entre si para porcentagem de cinzas na tíbia. Ao adicionar 750 FTU/ kg de ração, com o uso do fosfato bicálcico foi observado o valor de porcentagem de cinzas na tíbia de 36,24% diferente do valor encontrado como uso do farelo de trigo (32,86%), da soja integral tostada (33,11%) e da soja integral extrusada (33,04%).

Houve efeito de interação ($P < 0,05$) entre as fontes de fósforo e níveis de fósforo para porcentagem de cinzas na tíbia. Os resultados estão apresentados na Tabela 8 e ilustrados no Gráfico 2.

Com a adição de 0,10% de P à dieta basal, o uso do fosfato bicálcico (38,00%) resultou num maior valor de porcentagem de cinzas na tíbia diferindo ($P < 0,05$) do farelo de trigo (32,75%) e da soja integral tostada (31,57%) ou extrusada (32,46%). Adicionando 0,05% de P à dieta basal, o uso do fosfato bicálcico (34,47%) resultou no maior valor de porcentagem de cinzas na tíbia ($P < 0,05$), sendo que o uso do farelo de trigo (31,93%) e da soja integral tostada (30,49%) ou extrusada (31,41%) não diferiram entre si. Com o uso do fosfato bicálcico e 0,10% de P suplementar o teor de cinzas na tíbia foi observado um aumento na porcentagem de cinzas na tíbia, sendo que as demais fontes não diferiram entre si nos diferentes níveis de fósforo à dieta.

Também foi observado efeito de interação entre fontes de fósforo e níveis de fitase ($P < 0,05$). Os resultados estão apresentados na Tabela 9 e ilustrados no Gráfico 3.

Com a adição de 750 FTU/ kg de ração, o uso do fosfato bicálcico revelou diferente valor de porcentagem de cinzas na tíbia ($P<0,05$) que com o uso do farelo de trigo (32,85%) e soja integral tostada (33,11%) ou extrusada (33,03%). Na ausência de fitase, o fosfato bicálcico (35,28%) foi a fonte que resultou num maior valor de porcentagem de cinzas na tíbia se comparado às fontes farelo de trigo (31,82%), soja integral tostada (28,95%) ou extrusada (30,84%). O farelo de trigo e a soja integral extrusada não diferiram entre si estatisticamente na ausência de fitase, sendo que com o uso da soja integral tostada foi observado um menor valor de porcentagem de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade. Quando adicionada fitase à dieta, foi observado que todas as fontes melhoraram a porcentagem de cinzas na tíbia, com exceção do farelo de trigo. O uso da soja integral tostada na ausência de fitase (28,95%), resultou em menor valor de porcentagem de cinzas na tíbia que com o uso da soja integral extrusada (30,84%), porém com a adição de fitase não houve diferença entre as sojas.

Tabela 7 - Porcentagem de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, % ⁽¹⁾⁽²⁾

Fonte de P	Fitase, FTU/kg								Geral	
	0				750					
	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	Médias	Desvio Padrão
0,05	0,10	0,05			0,10					
Fosfato	33,77	36,78	35,28 A	1,71	35,18	39,21	37,20 A	2,33	36,24 A	2,21
Farelo de Trigo	31,78	31,86	31,82 B	1,67	32,08	33,63	32,86 B	1,85	32,34 B	1,79
Soja tostada	27,92	29,98	28,95 C	2,02	33,06	33,16	33,11 B	1,08	31,03 C	2,66
Soja extrusada	31,22	30,46	30,84 B	1,94	31,62	34,46	33,04 B	1,68	31,94 BC	2,09
Níveis										
Médias	31,17	32,27			32,98 b	35,11 a				
Desvio Padrão	2,68	3,13			1,71	2,76				
Fitase										
Médias		31,72 b				34,05 a			32,88	
Desvio Padrão		2,92				2,51			2,95	

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores médios de Porcentagem de cinzas na tíbia de 28,31 ou 31,57 %, respectivamente.

⁽²⁾ Linhas com letras maiúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.
Colunas com letras minúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pela análise de variância

Tabela 8 - Interação entre fonte e nível P suplementar para porcentagem de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, % ⁽¹⁾

Fonte de P	0,05	P suplementar, %		Desvio Padrão
		Desvio Padrão	0,10	
Fosfato	34,47 ^B	0,86	38,00 ^A	1,63
Farelo de Trigo	31,93 ^{CD}	0,99	32,75 ^C	2,34
Soja tostada	30,49 ^D	3,23	31,57 ^{CD}	2,02
Soja extrusada	31,41 ^C	1,81	32,46 ^C	2,33

⁽¹⁾ Linhas e colunas com letras distintas diferem significativamente ($P < 0,05$) pela análise de variância.

Gráfico 2 - Interação entre fonte e nível P suplementar para porcentagem de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, %

Tabela 9 - Interação entre fonte e nível de fitase para porcentagem de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, % ⁽¹⁾

Fonte de P	0	Fitase, FTU/ kg		Desvio Padrão
		Desvio Padrão	750	
Fosfato	35,28 ^B	1,17	37,20 ^A	2,33
Farelo de Trigo	31,82 ^{CD}	1,67	32,86 ^C	1,85
Soja tostada	28,95 ^E	2,02	33,11 ^C	1,08
Soja extrusada	30,84 ^D	1,94	33,04 ^C	1,68

⁽¹⁾ Linhas e colunas com letras maiúsculas distintas diferem significativamente ($P < 0,05$) pela análise de variância.

Gráfico 3 - Interação entre fonte e nível de fitase para porcentagem de cinzas na tíbia das aves aos 22 dias de idade, %

4.2.3 Peso de cinzas no dedo médio

Os pesos de cinzas no dedo médio (mg) aos 22 dias de idade das aves são apresentados na Tabela 10, de acordo com as fontes e níveis de fósforo bem como níveis de fitase. Os valores referentes às aves que receberam as dietas basais (P total= 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/ kg de ração são apresentadas no rodapé da Tabela 10.

A média geral de peso de cinzas no dedo foi de 126,52 mg e as aves que receberam as dietas basais (P total = 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/ kg de ração, apresentaram valores de peso de cinzas no dedo médio de 80,75 ou 101,75 mg, respectivamente.

As aves alimentadas com as dietas à base de fosfato bicálcico apresentaram o maior valor médio de peso das cinzas no dedo (136,75 mg) comparadas as demais aves. Os valores referentes ao farelo de trigo (122,62 mg), soja integral tostada (122,94 mg) e soja integral extrusada (123,75 mg) para peso de cinzas no dedo médio não diferiram entre si ($P < 0,05$).

Independentemente das fontes de fósforo e adição de fitase, o valor de peso das cinzas no dedo médio foi maior ($P < 0,05$) para a suplementação de 0,10% de fósforo que para a suplementação de 0,05% de fósforo (133,75 vs 119,28 mg, respectivamente).

A adição de fitase à dieta, independentemente de fontes e níveis de fósforo, incrementou em 15,12% o peso das cinzas no dedo médio das aves (117,62 vs 135,41 mg). Foi observado um acréscimo de 8,88% no peso das cinzas no dedo médio na ausência de fitase à dieta (112,62 mg para 0,05% de P suplementar e 122,62 mg para 0,10% de P suplementar). Este acréscimo foi maior (15,03%) quando adicionado 750 FTU/ kg de ração (125,94 mg para 0,05% de P suplementar e 144,88 mg para 0,10% de P suplementar).

Na ausência de fitase, independentemente dos níveis de P suplementar, foi observado que as médias de peso das cinzas nos dedos foi significativamente maior com o uso do fosfato

bicálcico (129,38 mg) e farelo de trigo (124,00 mg) e menores com o uso da soja integral tostada (105,75 mg) e da soja integral extrusada (111,38 mg). Quando adicionado 750 FTU/kg de ração, os valores de peso de cinzas no dedo médio com o uso do fosfato bicálcico (144,12 mg) e da soja integral tostada (140,12 mg) ou extrusada (136,12 mg) não apresentaram diferenças entre si ($P < 0,05$), sendo que com o uso do farelo de trigo (121,25 mg) resultou num menor valor para peso das cinzas nos dedos comparado às demais fontes de fósforo.

Foi observado efeito de interação ($P < 0,01$) para as fontes de fósforo estudadas e níveis de fitase, independentemente dos níveis de P suplementar. Os resultados estão apresentados na Tabela 11 e ilustrados no Gráfico 4.

Os maiores valores encontrados para peso de cinzas no dedo médio ($P < 0,05$) foram com o uso do fosfato bicálcico (144,12 mg), da soja integral tostada (140,12 mg) ou extrusada (136,12 mg) com a adição de 750 FTU/kg de ração, sendo o menor valor para o uso do farelo de trigo (121,25 mg). Na ausência de fitase, foi observado que os valores de peso de cinzas no dedo das aves com o uso do fosfato bicálcico (129,38 mg) e do farelo de trigo (124,00 mg) não diferiram entre si, porém diferiram dos valores encontrados com o uso da soja integral tostada (105,75 mg) ou extrusada (111,38 mg). A adição de fitase microbiana, aumentou significativamente o peso das cinzas no dedo médio das aves alimentadas com dietas semi-purificadas à base de fosfato bicálcico, soja integral tostada ou extrusada.

Tabela 10 - Peso de cinzas no dedos médio das aves aos 22 dias de idade, mg ⁽¹⁾⁽²⁾

Fonte de P	Fitase, FTU/kg								Geral	
	0				750					
	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	Médias	Desvio Padrão
0,05	0,10	0,05			0,10					
Fosfato	117,25	141,50	129,38 ^A	17,30	132,50	155,75	144,12 ^A	14,46	136,75 ^A	17,19
Farelo de Trigo	120,75	127,25	124,00 ^A	15,74	111,50	131,00	121,25 ^B	18,62	122,62 ^B	16,72
Soja tostada	106,25	105,75	105,75 ^B	14,27	133,00	147,25	140,12 ^A	4,81	122,94 ^B	22,64
Soja extrusada	106,25	116,50	111,38 ^B	8,45	126,75	145,50	136,12 ^A	16,45	123,75 ^B	17,97
Níveis										
Médias	112,62 ^b	122,62 ^a			125,94 ^b	144,88 ^a				
Desvio Padrão	10,45	20,31			15,51	14,70				
Fitase										
Médias	117,62 ^b				135,41 ^a				126,52	
Desvio Padrão	16,68				17,71				19,27	

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de cinzas no dedo de 80,75 ou 101,75 mg, respectivamente.

⁽²⁾ Linhas com letras maiúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.
Colunas com letras minúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pela análise de variância.

Tabela 11 - Interação entre fonte e nível de fitase para peso de cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade, mg ⁽¹⁾

Fonte de P	0		Fitase, FTU/ kg		Desvio Padrão
			Desvio Padrão	750	
Fosfato	129,38	BC	17,30	144,12	A
Farelo de Trigo	124,00	B	15,74	121,25	BD
Soja tostada	105,75	EF	14,27	140,12	AC
Soja extrusada	111,38	DE	8,45	136,12	AC

⁽¹⁾ Linhas e colunas com letras distintas diferem significativamente ($P < 0,05$) pela análise de variância.

Gráfico 4 - Interação entre fonte e nível de fitase para peso das cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade, mg

4.2.4 Porcentagem de cinzas no dedo médio

Os valores de cinzas no dedo médio (%) aos 22 dias de idade são apresentados na Tabela 12, de acordo com fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase. Os valores referentes às aves que receberam as dietas basais (P total = 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da Tabela 12.

A média geral de porcentagem de cinzas no dedo médio foi de 10,20% e as aves que receberam as dietas basais (P total= 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/ kg de ração, apresentaram valores de porcentagem de cinzas no dedo médio de 7,14 ou 9,10%, respectivamente.

Independentemente dos níveis de fósforo e adição de fitase, o fosfato bicálcico foi a fonte que apresentou maior valor para porcentagem de cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade com 11,32%, diferindo ($P<0,05$) do farelo de trigo (9,78%) e soja integral tostada (9,82%) ou extrusada (9,89%).

Adicionando 0,10% de P na dieta basal, independentemente das fontes de fósforo e adição de fitase, o teor de cinzas no dedo médio das aves foi maior ($P<0,05$) que a adição de 0,05% de P (10,50 vs 9,91%, respectivamente).

Na ausência de fitase, a porcentagem de cinzas no dedo médio das aves foi de 9,77% e com a adição de 750 FTU/ kg de ração a porcentagem foi de 10,63%, um incremento significativo ($P<0,05$) de 8,80%, independentemente das fontes e níveis de fósforo. A presença da enzima na dieta melhorou em 9,35% a porcentagem de cinzas nos dedos das aves quando houve o incremento de 0,05% de P suplementar na dieta (10,16% para 0,05% de P suplementar e 11,11% para 0,10% de P suplementar), sendo que o mesmo não ocorreu na ausência de fitase.

As aves alimentadas com as dietas à base de fosfato bicálcico apresentaram o maior valor de porcentagem de cinzas nos dedos para 0 e 750 FTU/ kg de ração (11,05 e 11,58%, respectivamente) diferindo ($P<0,05$) das fontes farelo de trigo (9,40 e 10,15%, respectivamente), soja integral tostada (9,40 e 10,15%, respectivamente) ou extrusada (9,50 e 10,29%, respectivamente).

Foi observado efeito de interação ($P<0,05$) entre fontes e níveis de fósforo. Os resultados estão apresentados na Tabela 13 e ilustrados no Gráfico 5. O uso do fosfato bicálcico com 0,05% de P suplementar, resultou no maior teor de cinzas no dedo médio com 10,60%, diferindo ($P<0,05$) do farelo de trigo (9,57%), da soja integral tostada (9,81%) ou extrusada (9,65%). Com a adição de 0,10% de P suplementar à dieta basal, foi observado que com o uso do fosfato bicálcico (12,03%) resultou no maior teor de cinzas nos dedos quando comparado com o uso do farelo de trigo (9,99%) e soja integral tostada (9,83%) ou extrusada (10,14%). Contudo, o incremento de 0,05% de P suplementar, somente modificou o peso de cinzas no dedo médio das aves para o uso do fosfato bicálcico, sendo observado que as demais fontes não sofreram alteração quanto ao parâmetro analisado ($P<0,05$).

Foi observado efeito de interação entre níveis de fósforo e níveis de fitase ($P<0,05$). Os resultados estão apresentados na Tabela 14 e ilustrados no Gráfico 6. Foi observado o maior teor de cinzas no dedo médio das aves (11,11%) com a adição de fitase e 0,10% de P suplementar. O nível de 0,05% de P suplementar na ausência de fitase revelou o pior valor de porcentagem de cinzas no dedo médio das aves (9,65%), não diferindo do nível de 0,10 de P suplementar.

Tabela 12 - Porcentagem de cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade, % ⁽¹⁾⁽²⁾

Fonte de P	Fitase, FTU/kg								Geral	
	0				750					
	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	Médias	Desvio Padrão
0,05	0,10	0,05			0,10					
Fosfato	10,10	12,00	11,05 ^A	1,11	11,10	12,07	11,58 ^A	0,72	11,32 ^A	0,94
Farelo de Trigo	9,48	9,32	9,40 ^B	0,66	9,66	10,65	10,15 ^B	0,99	9,78 ^B	0,90
Soja tostada	9,31	8,95	9,13 ^B	1,08	10,32	10,71	10,52 ^B	0,49	9,82 ^B	1,08
Soja extrusada	9,72	9,27	9,50 ^B	0,69	9,57	11,00	10,29 ^B	0,77	9,89 ^B	0,81
Níveis										
Médias	9,65	9,89			10,16 ^b	11,11 ^a				
Desvio Padrão	0,64	1,52			0,76	0,84				
Fitase										
Médias		9,77 ^b				10,63 ^a			10,20	
Desvio Padrão		1,15				0,92			1,12	

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de porcentagem de cinzas no dedo de 7,14 ou 9,10 % respectivamente.

⁽²⁾ Linhas com letras maiúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.
Colunas com letras minúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pela análise de variância.

Tabela 13 - Interação entre fonte e nível de P suplementar para porcentagem de cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade, % ⁽¹⁾

Fonte de P	0,05	P suplementar, %		Desvio Padrão
		Desvio Padrão	0,10	
Fosfato	10,60 ^B	0,69	12,03 ^A	0,50
Farelo de Trigo	9,57 ^C	0,54	9,99 ^{BC}	1,16
Soja tostada	9,81 ^C	0,78	9,83 ^C	1,38
Soja extrusada	9,65 ^C	0,52	10,14 ^C	1,00

⁽¹⁾ Linhas e colunas com letras distintas diferem significativamente ($P < 0,05$) pela análise de variância.

Gráfico 5 - Interação entre fonte e nível de P suplementar para porcentagem de cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade, %

Tabela 14 - Interação entre nível de P suplementar e nível de fitase para porcentagem de cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade, % ⁽¹⁾

P suplementar, %	0	Fitase, FTU/ kg		Desvio Padrão
		Desvio Padrão	750	
0,05	9,65 ^C	0,64	10,16 ^B	0,76
0,10	9,89 ^{BC}	1,52	11,11 ^A	0,84

⁽¹⁾ Linhas e colunas com letras distintas diferem significativamente ($P < 0,05$) pela análise de variância.

Gráfico 6 - Interação entre nível de P suplementar e nível de fitase para porcentagem de cinzas no dedo médio das aves aos 22 dias de idade, %

4.3 INGESTÃO E EXCREÇÃO DE FÓSFORO

4.3.1 Fósforo total ingerido

Os valores do total de fósforo ingerido (mg/dia) no período de 1 a 22 dias de idade das aves são apresentadas na Tabela 15 de acordo com fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase. Os valores para as aves que receberam as dietas basais (P total= 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/ kg de ração são apresentadas no rodapé da Tabela 15.

A média geral para fósforo total ingerido foi de 1,96 mg/dia e as aves que receberam as dietas basais (P total= 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/ kg de ração, apresentaram valores de fósforo total ingerido de 1,52 ou 1,53 mg, respectivamente.

Independentemente da adição de fitase e níveis de fósforo suplementar, não houve diferença entre os valores de ingestão de fósforo total para fontes de fósforo. Não foi observada diferença ($P<0,05$) entre a adição ou não de fitase, independentemente das fontes de fósforo e níveis de P suplementar.

Houve diferença ($P<0,01$) para níveis de fósforo independente das fontes de fósforo e adição de fitase. A adição de 0,10% de P aumentou em 17,12% ($P<0,05$) o fósforo total ingerido pelas aves (1,81 vs 2,12 mg/dia).

Foi observado que as aves que ingeriram as dietas à base de fosfato bicálcico, farelo de trigo e soja integral extrusada, apresentaram maiores valores de fósforo total ingerido ($P<0,05$) na ausência de fitase à dieta (2,09, 1,94 e 1,96 mg/dia). As aves alimentadas com as dietas à base de soja integral tostada, apresentaram o menor valor de ingestão de fósforo total (1,75 mg/dia). Quando adicionado 750 FTU/ kg de ração, as diferentes fontes não diferiram

entre si ($P < 0,05$) para a ingestão de fósforo. Com a suplementação de 0,10% de P às dietas basais, as aves ingeriram maior quantidade de fósforo que aquelas alimentadas com as dietas basais com 0,05% de P suplementar, na ausência (2,07 e 1,80 mg/dia, respectivamente) ou presença de fitase (2,17 e 1,81 mg/dia, respectivamente).

Não houve efeito de interação entre fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase ($P < 0,05$).

Tabela 15 - Fósforo total ingerido pelas aves aos 22 dias de idade, mg/dia ⁽¹⁾⁽²⁾

Fonte de P	Fitase, FTU/kg								Geral	
	0				750					
	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	Médias	Desvio Padrão
0,05	0,10	0,05			0,10					
Fosfato	1,94	2,25	2,09 ^A	0,22	1,83	2,30	2,06	0,32	2,08	0,26
Farelo de Trigo	1,83	2,06	1,94 ^{AB}	0,35	1,89	1,91	1,90	0,50	1,92	0,42
Soja tostada	1,73	1,75	1,74 ^B	0,22	1,84	2,04	1,94	0,26	1,84	0,25
Soja extrusada	1,70	2,22	1,96 ^{AB}	0,41	1,69	2,44	2,06	0,45	2,01	0,42
Níveis										
Médias	1,80 ^b	2,07 ^a			1,81 ^b	2,17 ^a				
Desvio Padrão	0,23	0,34			0,32	0,37				
Fitase										
Médias		1,93				1,99			1,96	
Desvio Padrão		0,32				0,38			0,35	

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de fósforo total ingerido de 1,52 ou 1,53 mg, respectivamente.

⁽²⁾ Linhas com letras maiúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.
Colunas com letras minúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pela análise de variância.

4.3.2 Fósforo Total Excretado

Os valores de fósforo total excretado (mg/dia) aos 22 dias de idade são apresentados na Tabela 16, de acordo com fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase. Os valores referentes às aves que receberam as dietas basais (P total = 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da Tabela 16.

A média geral de fósforo total excretado foi de 0,67 mg/dia. e as aves que receberam as dietas basais (P total = 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/ kg de ração, apresentaram valores de fósforo total excretado de 0,50 ou 0,46%, respectivamente.

Não foi observado efeito de fontes de fósforo na dieta de aves aos 22 dias de idade, independentemente de níveis de P suplementar e adição de fitase, porém houve diferença ($P < 0,01$) para níveis de fósforo independentemente das fontes de fósforo e adição de fitase. A excreção de fósforo pelas aves alimentadas com as dietas suplementadas com 0,10% de P foi 21,70% maior ($P < 0,05$) que as suplementadas com 0,05% de P na dieta basal.

Foi observada diferença ($P < 0,01$) para a adição de fitase independentemente das fontes de fósforo e níveis de P suplementar. Com a adição de fitase à dieta, foi observada uma redução de 11,27% na excreção de fósforo total ao ambiente (0,71 vs 0,63 mg/dia), sendo que o incremento de 0,05% para 0,10% no fósforo suplementar aumentou em 18,90% a excreção de fósforo ao ambiente (0,57 vs 0,68 mg/dia). Na ausência de fitase, o incremento nos níveis de P suplementar em 0,05%, aumentou a excreção de fósforo em 23,80% (0,63 vs 0,78 mg/dia).

Não foi observado efeito de interação entre fontes de fósforo, níveis de fósforo suplementar e níveis de fitase microbiana adicionada às dietas.

Tabela 16 - Fósforo total excretado pelas aves aos 22 dias de idade, mg/dia ⁽¹⁾⁽²⁾

Fonte de P	Fitase, FTU/kg								Geral	
	0				750					
	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	Médias	Desvio Padrão
0,05	0,10	0,05			0,10					
Fosfato	0,66	0,75	0,71 ^{AB}	0,06	0,60	0,72	0,66	0,09	0,68	0,08
Farelo de Trigo	0,68	0,84	0,76 ^A	0,11	0,52	0,68	0,60	0,15	0,68	0,15
Soja tostada	0,61	0,70	0,66 ^B	0,12	0,57	0,65	0,61	0,11	0,63	0,11
Soja extrusada	0,59	0,82	0,71 ^{AB}	0,14	0,60	0,68	0,64	0,07	0,67	0,11
Níveis										
Médias	0,63 ^b	0,78 ^a			0,57 ^b	0,68 ^a				
Desvio Padrão	0,06	0,11			0,08	0,10				
Fitase										
Médias		0,71 ^a				0,63 ^b			0,67	
Desvio Padrão		0,11				0,11			0,62	

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de fósforo total excretado de 0,50 ou 0,46 %, respectivamente.

⁽²⁾ Linhas com letras maiúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.
Colunas com letras minúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pela análise de variância.

4.3.3 Porcentagem de fósforo total excretado

Os valores de fósforo total excretado (%) aos 22 dias de idade são apresentados na Tabela 17, de acordo com fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase. Os valores referentes às aves que receberam as dietas basais (P total= 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da Tabela 17.

A média geral para porcentagem de fósforo total excretado foi de 0,65% e as aves que receberam as dietas basais (P total= 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/ kg de ração, apresentaram valores de porcentagem de fósforo total excretado de 0,66 ou 0,57%, respectivamente.

Foi observada diferença ($P<0,01$) entre as fontes de fósforo independentemente dos níveis de P suplementar e adição de fitase à dieta. As aves alimentadas com as dietas à base de fosfato bicálcico apresentaram maior teor de fósforo excretado ao ambiente (0,72%) que aquelas alimentadas com dietas à base de farelo de trigo (0,68%). Os menores teores de fósforo excretados ao ambiente pelas aves ($P<0,05$) foram apresentados pelas sojas processadas (ambas apresentando 0,59%).

Independente de fontes de fósforo e adição de fitase, foi observada diferença ($P<0,01$) para níveis de P suplementar. As aves alimentadas com as dietas basais suplementadas com 0,10% de P, excretaram 4,8% mais fósforo que aquelas alimentadas com 0,05% de P suplementar.

Foi observada diferença ($P<0,01$) para a adição de fitase independentemente das fontes e níveis de fósforo. Na ausência de fitase, o teor de fósforo excretado pelas aves foi de 0,69% e com a adição de 750 FTU/ kg de ração a porcentagem foi de 0,60%, um decréscimo significativo de 13% no fósforo excretado ao ambiente pelas aves ($P<0,05$).

Na ausência de fitase, foi observado que ao incrementar em 0,05% o nível de fósforo suplementar houve um aumento no teor de fósforo excretado em 5,97% (0,67 vs 0,71%,) e com a adição de fitase à dieta este aumento no teor de fósforo excretado foi diminuído em 43% (0,59 vs 0,61%,).

Independentemente dos níveis de P suplementar, foi observado que as aves alimentadas com as dietas à base de fosfato bicálcico na ausência de fitase, excretaram o maior teor de fósforo ao ambiente (0,76%). As aves alimentadas com soja integral tostada (0,64%) e a soja integral extrusada (0,63%) excretaram os menores teores de fósforo ao ambiente ($P < 0,05$). A diferença detectada chegou a 17% no fósforo total excretado pelas aves alimentadas com o fosfato bicálcico e a soja integral extrusada.

Com a adição de fitase, foi observado que as aves alimentadas com as dietas à base de fosfato bicálcico e farelo de trigo apresentaram 0,69% e 0,64% de fósforo nas excretas. As aves alimentadas com as dietas à base de soja integral tostada e soja integral extrusada apresentaram os teores de 0,53% e 0,54% de fósforo excretado ao ambiente, respectivamente. A diferença entre a excreção de fósforo entre as aves alimentadas com as dietas à base de fosfato bicálcico e soja integral extrusada foi de 21,7%.

Não foi observado efeito de interação entre as diferentes fontes de fósforo, níveis de P suplementar e adição de fitase ($P < 0,05$).

Tabela 17 - Fósforo total eliminado nas excretas das aves aos 22 dias de idade, % ⁽¹⁾⁽²⁾

Fonte de P	Fitase, FTU/kg									
	0				750				Geral	
	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	Médias	Desvio Padrão
0,05	0,10	0,05			0,10					
Fosfato	0,74	0,78	0,76 ^A	0,03	0,65	0,72	0,69 ^A	0,04	0,72 ^A	0,06
Farelo de Trigo	0,69	0,77	0,73 ^B	0,06	0,62	0,66	0,64 ^A	0,06	0,68 ^B	0,07
Soja tostada	0,64	0,65	0,64 ^C	0,04	0,51	0,55	0,53 ^B	0,04	0,59 ^C	0,07
Soja extrusada	0,62	0,65	0,63 ^C	0,03	0,55	0,52	0,54 ^B	0,04	0,59 ^C	0,06
Níveis										
Médias	0,67 ^b	0,71 ^a			0,59	0,61				
Desvio Padrão	0,06	0,07			0,06	0,10				
Fitase										
Médias		0,69 ^a				0,60 ^b			0,64	
Desvio Padrão		0,07				0,08			0,09	

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores médios de Fósforo excretado de 0,66 ou 0,57 %, respectivamente.

⁽²⁾ Linhas com letras maiúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.
Colunas com letras minúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pela análise de variância

4.3.4 Peso total de excreta

Os valores de peso total de excreta (g) produzidos pelas aves aos 22 dias de idade são apresentados na Tabela 18, de acordo com fontes e níveis de fósforo e níveis de fitase. Os valores referentes as aves que receberam as dietas basais (P total= 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração são apresentados no rodapé da Tabela 18.

A média geral para peso total de excreta foi de 104 g. e as aves que receberam as dietas basais (P total = 0,40%) contendo 0 ou 750 FTU/ kg de ração, apresentaram valores de volume de excreta de 76 ou 81g, respectivamente.

A análise de variância (Tabela 21) revelou diferença ($P<0,01$) para as diferentes fontes estudadas independente dos níveis de P suplementar e adição de fitase adicionados às dietas das aves. O uso da soja integral extrusada determinou maior peso total de excreta (115 g), porém este não diferiu dos valores obtidos com o uso da soja integral tostada (108 g). Foi demonstrado que os menores valores de peso total de excreta foi com o uso do fosfato bicálcico (94 g) e do farelo de trigo (99 g).

Foi observado efeito de níveis de fósforo suplementar ($P<0,01$) independentemente de fontes de fósforo e adição de fitase à dieta. Adicionando 0,05% de P na dieta basal o peso total de excreta foi de 97 g e para 0,10% de P foi de 111 g, diferentes entre si ($P<0,05$).

Não houve diferença no uso de fitase à dieta independentemente de fontes e níveis de fósforo ($P<0,05$), porém na ausência de fitase com a suplementação de 0,10% de P, foi observado um maior peso de excreta eliminado pelas aves em comparação com aquelas que receberam a suplementação de 0,05% de P (110 vs 95 g, respectivamente). Quando adicionado 750 FTU/ kg de ração, a diferença no peso total de excreta entre os níveis de 0,05 e 0,10% de P suplementar foi de 14,14% (99 vs 113 g, respectivamente).

O uso da soja integral extrusada, da soja integral tostada e do farelo de trigo na ausência de fitase demonstraram os maiores valores de peso total de excreta das aves (111, 102 e 104 g, respectivamente). O uso do fosfato bicálcico revelou o menor valor de peso total de excreta das aves (92 g), porém não diferindo do peso demonstrado pelo uso do farelo de trigo e da soja integral tostada. Contudo ao adicionar 750 FTU/ kg de ração, o uso do fosfato bicálcico e do farelo de trigo demonstraram o menor peso total de excreta (96 e 94 g, respectivamente) que a soja integral tostada e a soja integral extrusada (114 e 120 g, respectivamente).

Não foi observado efeito de interação entre as diferentes fontes de fósforo, níveis de P suplementar e níveis de fitase microbiana ($P < 0,05$).

Tabela 18 - Peso total de excreta das aves aos 22 dias de idade, g ⁽¹⁾⁽²⁾

Fonte de P	Fitase, FTU/kg								Geral	
	0				750					
	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	P suplementar, %		Médias	Desvio Padrão	Médias	Desvio Padrão
0,05	0,10	0,05			0,10					
Fosfato	89	96	92 ^B	8	93	100	96 ^B	12	94 ^C	10
Farelo de Trigo	99	110	104 ^{AB}	12	84	103	94 ^B	22	99 ^{BC}	18
Soja tostada	96	108	102 ^{AB}	16	110	118	114 ^A	15	108 ^{AB}	16
Soja extrusada	95	127	111 ^A	19	109	130	120 ^A	15	115 ^A	17
Níveis										
Médias	95 ^b	110 ^a			99 ^b	113 ^a				
Desvio Padrão	9	16			16	19				
Fitase										
Médias		102				106			104	
Desvio Padrão		15				19			17	

⁽¹⁾ Animais recebendo as dietas basais (P=0,40 %), contendo 0 ou 750 FTU/kg de ração, apresentaram valores de volume total de excreta de 76 ou 81 g, respectivamente.

⁽²⁾ Linhas com letras maiúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste de Duncan.

Colunas com letras minúsculas distintas diferem significativamente (P<0,05) pela análise de variância.

Tabela 19 - Análise de variância do consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar, cinzas na tíbia (mg), cinzas na tíbia (%), cinzas no dedo (mg) e das aves aos 21 dias de idade (quadrados médios).

Fonte de variação	Graus de liberdade	Consumo de ração, g/dia	Ganho de peso, g/dia	Conversão alimentar, mg/g	Cinzas na tíbia, mg	Cinzas na tíbia, %	Cinzas no dedo, mg
Tratamentos	15	15,06 *	7,93	14422	195438 **	29,52 **	983 **
Fonte de P (FP)	3	25,57 *	3,80	34696 *	165144 **	84,62 **	748 **
Nível de P (NP)	1	54,83 *	67,63 **	66049 **	971210 **	41,75 **	3349 **
Fitase (FT)	1	29,48	6,50	2889	753858 **	86,34 **	5059 **
FP * NP	3	4,89	2,20	8618	36500	6,51 *	200
FP * FT	3	10,86	5,43	1942	176517 **	6,97 *	1006 **
NP * FT	1	10,20	1,71	1980	4096	4,23	319
FP * NP * FT	3	2,52	2,93	3211	22640	5,24	52
Blocos	3	30,21	7,46	8122	43239	1,20	746
Resíduo	45	9,25	4,38	8923	24831	2,22	143
Total	63						

** efeito significativo (P<0,01)

* efeito significativo (P<0,05)

Tabela 20 - Análise de variância de cinzas no dedo (%), P total ingerido (mg/dia), P total excretado (%), P total excretado (mg) e volume total de excreta (g) das aves aos 21 dias de idade (quadrados médios).

Fonte de variação	Graus de liberdade	Cinzas no dedo, %	P total ingerido, mg/dia	P total excretado, mg	P total excretado, %	Peso total de excreta, g
	15	3,75 **	0,214 **	0,03 **	0,027 **	675 **
Tratamentos						
Fonte de P (FP)	3	8,84 **	0,169	0,0084	0,0776 **	1394 **
Nível de P (NP)	1	5,56 **	1,60 **	0,257 **	0,0170 **	3498 **
Fitase (FT)	1	11,93 **	0,054 **	0,102 **	0,1380 **	187
FP * NP	3	1,45 *	0,247 **	0,006	0,003	288
FP * FT	3	0,53	0,053	0,011	0,0007	406
NP * FT	1	2,03 *	0,0351	0,005	0,0006	8
FP * NP * FT	3	1,42	0,039 *	0,07	0,002	58
Blocos	3	0,47	0,021	0,003	0,002	240
Resíduo	45	0,48	4,52	0,87	0,07	7642
Total	63					

** efeito significativo (P<0,01)

* efeito significativo (P<0,05)

4.4 BIODISPONIBILIDADE RELATIVA DO FÓSFORO DOS INGREDIENTES

A Tabela 21 apresenta as equações de regressão, coeficientes de determinação e valores calculados para biodisponibilidade relativa de fósforo (BRP) para cada uma das fontes de fósforo avaliadas. Os valores são apresentados separadamente para cada um dos níveis de fitase adicionada (0 ou 750 FTU/ kg de ração), sendo calculados a partir dos dados de ganho de peso, peso de cinzas na tíbia e peso das cinzas dos dedos médios das aves.

A BRP é calculada utilizando a regressão dos valores de um dos parâmetros avaliados, como, por exemplo, peso de cinzas na tíbia (mg/dia), em função dos níveis de fósforo suplementar ingerido pelas aves proveniente das dietas experimentais contendo uma das fontes de fósforo em estudo. Obviamente, com a adição de fitase nas dietas à base de fosfato bicálcico o efeito da enzima é sobre o farelo de soja que não é um ingrediente objeto do presente estudo e está presente em quantidades fixas em todas as dietas experimentais. Dessa maneira é observado um aumento na BRP nas dietas suplementadas com fosfato bicálcico em média de 14% quando adicionada fitase às dietas, proveniente da hidrólise do fitato presente no farelo de soja.

Os coeficientes de determinação (r^2) apresentados na Tabela 21 demonstram o quanto as equações representam o modelo estudado, porém os coeficientes calculados para ganho de peso e cinzas no dedo médio são considerados baixos para a utilização das equações como indicadores da biodisponibilidade relativa do fósforo. Assim, baseado nos valores médios de r^2 , o peso de cinzas na tíbia das aves é o melhor indicador para o cálculo da BRP.

A Tabela 22 apresenta os valores de atividade de fitase (U/kg) nas dietas experimentais e ingredientes do presente estudo. Foi observado que o premix que continha a enzima fitase apresentou 1,6 vezes mais atividade que o esperado para a elaboração das dietas

(14330 vs 9000 U/kg, respectivamente). Dessa maneira, as dietas que não receberam a adição de fitase (0 FTU/ kg de ração) apresentaram atividade da enzima quando analisadas em laboratório, porém as dietas à base de farelo de trigo (4 e 5) revelaram maior atividade que as demais. Com a adição de fitase (750 FTU/ kg de ração), o mesmo foi observado nas dietas à base de farelo de trigo (13 e 14), demonstrando que o farelo de trigo apresenta atividade de fitase endógena. Quando os ingredientes foram analisados separadamente, o farelo de trigo apresentou 36 vezes mais atividade que a soja integral tostada e 22 vezes mais atividade que a soja integral extrusada (1044, 29 e 48 U/kg, respectivamente)

Tabela 21 - Disponibilidade relativa do fósforo com base em ganho de peso (g/dia), cinzas na tíbia (mg) e cinzas no dedo médio (mg) – equações de regressão em função do fósforo suplementar ingerido (mg/dia), coeficientes de determinação e disponibilidade relativa para as diferentes fontes com adição de 0 ou 750 FTU/kg de ração

Fontes P	Fitase, FTU/kg					
	0			750		
	Y = a + bx	Coeficiente de Determinação	Disponibilidade relativa	Y = a + bx	Coeficiente de Determinação	Disponibilidade relativa
Ganho de peso, g/day						
Fosfato	20,64+0,106	50,69	100,0	20,78+0,120	52,35	113,8
Farelo de Trigo	20,48+0,147	52,11	139,6	20,42+0,120	46,16	114,0
Soja Tostada	20,79+0,085	26,17	80,9	20,29+0,159	51,00	150,5
Soja extrusada	20,38+0,148	64,11	140,4	20,67+0,157	59,66	148,4
Cinzas na tíbia, mg						
Fosfato	1362+18,948	96,17	100,0	1399+21,604	87,25	114,0
Farelo de Trigo	1395+14,096	83,19	74,4	1349+15,046	87,73	79,4
Soja Tostada	1322+10,781	51,72	56,9	1450+17,718	71,82	93,5
Soja extrusada	1402+10,708	72,35	56,5	1423+18,957	80,75	100,0
Cinzas no dedo, mg						
Fosfato	82,95+1,438	80,21	100,0	87,07+1,658	82,43	115,3
Farelo de Trigo	82,32+1,177	62,76	81,8	81,85+1,284	71,04	89,2
Soja Tostada	85,49+0,626	28,59	43,5	88,31+1,549	74,30	107,7
Soja extrusada	83,88+0,850	63,69	59,1	86,43+1,438	75,70	100,0

Tabela 22 - Atividade de fitase esperada e analisada nas dietas experimentais, nos ingredientes estudados e no premix fitase, U/kg

Dietas	Esperado U/kg	Analizado U/kg	Dietas	Esperado U/kg	Analizado U/kg
1	0	34	10	750	917
2	0	41	11	750	818
3	0	32	12	750	970
4	0	95	13	750	1075
5	0	170	14	750	1253
6	0	15	15	750	904
7	0	19	16	750	992
8	0	15	17	750	986
9	0	12	18	750	1129

Ingredientes	Esperado U/kg	Analizado U/kg
Farelo de trigo	0	1044
Soja tostada	0	29
Soja extrusada	0	48
Premix fitase	9000	14330

4.4.1 Farelo de trigo

O Gráfico 7 ilustra os valores de biodisponibilidade relativa do fósforo com o uso de farelo de trigo com base no ganho de peso (g/dia), peso de cinzas na tíbia (mg), peso de cinzas no dedo médio (mg) e a média entre os três parâmetros avaliados, com e sem a adição de fitase às dietas das aves aos 22 dias de idade.

Sem a adição de fitase microbiana à dieta das aves, a BRP para o farelo de trigo foi calculada em 139,6% para ganho de peso, sendo a equação de regressão que melhor explica o modelo de $y = 20,48 + 0,147x$ ($r^2 = 52,11$). Para peso de cinzas na tíbia a BRP calculada foi de 74,4% e a equação de regressão de $y = 1395 + 14,096x$ ($r^2 = 83,19$). Para peso de cinzas no dedo médio das aves a BRP calculada foi de 81,8% e a equação de regressão de $y = 82,32 + 1,177x$ ($r^2 = 62,76$).

Com a adição de 750 FTU/ kg de ração, o valor de BRP para o farelo de trigo foi de 114% para ganho de peso, sendo a equação de regressão que melhor explica o modelo de $y = 20,42 + 0,120x$ ($r^2 = 46,16$). Para peso de cinzas na tíbia a BRP calculada foi de 79,4% e a equação de regressão de $y = 1349 + 15,046x$ ($r^2 = 87,73$). Para peso de cinzas no dedo médio das aves a BRP calculada foi de 89,2% e a equação de regressão de $y = 81,85 + 1,284x$ ($r^2 = 71,04$).

Baseado nos valores de ganho de peso e sabendo que o farelo de trigo apresenta 0,85% de fósforo total, pode-se concluir que na ausência de fitase o fósforo biodisponível proveniente do farelo de trigo foi de 1,18% (139,6% de BRP) e com a adição de fitase o fósforo biodisponível foi de 0,96% (114% de BRP). E observando os valores de peso de cinzas na tíbia, pode-se concluir que sem a adição de fitase, o fósforo biodisponível proveniente do farelo de trigo foi de 0,63% (74,4% de BRP). Com a adição da enzima fitase o fósforo biodisponível foi de 0,67% (79,4% de BRP).

A julgar pelos resultados obtidos com o peso de cinzas no dedo médio, pode-se concluir que na ausência de fitase, o fósforo biodisponível proveniente do farelo de trigo foi de 0,69% (81,8% de BRP) e com a adição da enzima fitase o fósforo biodisponível foi de 0,75% (89,2% de BRP).

Não foi observado efeito da adição de fitase na biodisponibilidade relativa do fósforo para o farelo de trigo com base em nenhum dos três parâmetros avaliados. Baseado nos valores de BRP calculados para o farelo de trigo e nos resultados apresentados na Tabela 22 e ilustrados no Gráfico 7, pode-se concluir que a presença de enzima fitase endógena foi capaz de liberar o fósforo fítico da molécula de fitato, faltando substrato para a ação da fitase microbiana adicionada às dietas. A atividade de fitase para o farelo de trigo foi de 1044 U/kg, apresentando 3500 vezes mais atividade que a soja integral tostada (29 U/kg) e 2075 vezes mais atividade que a soja integral extrusada (48 U/kg).

Gráfico 7 - Biodisponibilidade relativa de fósforo para o farelo de trigo com base em ganho de peso (g/dia), cinzas na tíbia (mg) e cinzas no dedo médio (mg) com adição de 0 ou 750 FTU/ kg de ração

4.4.2 Soja integral tostada

O Gráfico 8 ilustra os valores de biodisponibilidade relativa do fósforo com o uso de soja integral tostada com base no ganho de peso (g/dia), peso de cinzas na tíbia (mg), peso de cinzas no dedo médio (mg) e a média entre os três parâmetros avaliados, com e sem a adição de fitase às dietas das aves aos 22 dias de idade.

Sem a adição de fitase microbiana à dieta das aves, a BRP para a soja integral tostada foi calculada em 80,9% para ganho de peso com a equação de regressão que melhor explica o modelo de $y = 20,79 + 0,085x$ ($r^2 = 26,17$). Para peso de cinzas na tíbia a BRP calculada foi de 56,9% e a equação de regressão de $y = 1322 + 10,781x$ ($r^2 = 51,72$). Para peso de cinzas no dedo médio das aves a BRP calculada foi de 43,5% e a equação de regressão de $y = 85,49 + 0,626x$ ($r^2 = 28,59$).

Com a adição de 750 FTU/ kg de ração, o valor de BRP para a soja integral tostada foi de 150,5% para ganho de peso com a equação de regressão que melhor explica o modelo de $y = 20,29 + 0,159x$ ($r^2 = 51,00$). Para peso de cinzas na tíbia a BRP calculada foi de 93,5% e a equação de regressão de $y = 1450 + 17,718x$ ($r^2 = 71,82$). Para peso de cinzas no dedo médio das aves a BRP calculada foi de 107,7% e a equação de regressão de $y = 83,31 + 1,549x$ ($r^2 = 74,30$).

Assim foi observado um acréscimo na BRP de 86,03% na BRP quando utilizado como parâmetro de avaliação o ganho de peso diário das aves, de 64,32% quando o utilizado o peso das cinzas na tíbia como parâmetro de avaliação e de 147,60% para peso de cinzas no dedo médio das aves.

Baseado nos valores de ganho de peso diário e sabendo que a soja integral (independente de processamento) apresenta 0,58% de fósforo total, pode-se concluir que na ausência de fitase, o fósforo biodisponível proveniente do farelo de trigo é de 0,47% (80,9%

de BRP). Com a adição da enzima fitase o fósforo biodisponível decresceu para 0,87% (150,5% de BRP). Dessa maneira, pode-se concluir que a adição de fitase microbiana à dieta promoveu um decréscimo de 0,40% no fósforo biodisponível ou o equivalente a 4,0 g de fósforo biodisponível/ kg de soja integral tostada adicionada.

De acordo com os valores de peso de cinzas na tíbia, conclui-se que na ausência de fitase, o fósforo biodisponível proveniente da soja integral tostada é de 0,33% (56,9% de BRP). Com a adição da enzima fitase o fósforo biodisponível é elevado para 0,54% (93,5% de BRP). Dessa maneira, pode-se concluir que a adição de fitase microbiana à dieta promoveu um acréscimo de 0,21% no fósforo biodisponível ou o equivalente a 2,1 g de fósforo biodisponível/ kg de soja integral tostada adicionada.

Observando os valores de peso de cinzas no dedo médio, pode-se concluir que na ausência de fitase, o fósforo biodisponível proveniente da soja integral tostada é de 0,25% (43,5% de BRP). Com a adição da enzima fitase o fósforo biodisponível é elevado para 0,62% (107,7% de BRP). Dessa maneira, pode-se concluir que a adição de fitase microbiana à dieta promoveu um acréscimo de 0,37% no fósforo biodisponível ou o equivalente a 3,7 g de fósforo biodisponível/ kg de soja integral tostada adicionada.

Gráfico 8 - Biodisponibilidade relativa de fósforo para a soja integral tostada com base em ganho de peso (g/dia), cinzas na tíbia (mg) e cinzas no dedo médio (mg) com adição de 0 ou 750 FTU/ kg de ração

4.4.3 Soja integral extrusada

O Gráfico 9 ilustra os valores de biodisponibilidade relativa do fósforo com o uso de soja integral extrusada com base no ganho de peso (g/dia), peso de cinzas na tíbia (mg), peso de cinzas no dedo médio (mg) e a média entre os três parâmetros avaliados, com e sem a adição de fitase às dietas das aves aos 22 dias de idade.

Sem a adição de fitase microbiana à dieta das aves, a BRP para a soja integral extrusada foi calculada em 140,4% para ganho de peso com a equação de regressão que melhor explica o modelo de $y = 20,38 + 0,148x$ ($r^2 = 64,11$). Para peso de cinzas na tíbia a BRP calculada foi de 56,5% e a equação de regressão de $y = 1402 + 10,708x$ ($r^2 = 72,35$). Para peso de cinzas no dedo médio das aves a BRP calculada foi de 59,1% e a equação de regressão de $y = 83,88 + 0,850x$ ($r^2 = 63,69$).

Com a adição de 750 FTU/ kg de ração, o valor de BRP para a soja integral extrusada foi de 148,4% para ganho de peso com a equação de regressão que melhor explica o modelo de $y = 20,67 + 0,157x$ ($r^2 = 59,66$). Para peso de cinzas na tíbia a BRP calculada foi de 100% e a equação de regressão de $y = 1423 + 18,957x$ ($r^2 = 80,75$). Para peso de cinzas no dedo médio das aves a BRP calculada foi de 100% e a equação de regressão de $y = 86,43 + 1,438x$ ($r^2 = 75,70$).

Assim foi observado um acréscimo na BRP de 5,70% na BRP quando utilizado como parâmetro de avaliação o ganho de peso diário das aves, de 77% quando o utilizado o peso das cinzas na tíbia como parâmetro de avaliação e de 69,20% para peso de cinzas no dedo médio das aves.

A julgar pelos valores observados de ganho de peso diário e sabendo que a soja integral apresenta 0,58% de fósforo total, conclui-se que sem a adição de fitase, o fósforo biodisponível proveniente do farelo de trigo é de 0,81% (140,4% de BRP). Com a adição da

enzima fitase o fósforo biodisponível decresceu para 0,86% (148,4% de BRP). Dessa maneira, pode-se concluir que a adição de fitase microbiana à dieta promoveu um acréscimo de 0,05% no fósforo biodisponível ou o equivalente a 4,0 g de fósforo biodisponível/ kg de soja integral extrusada adicionada.

Com base no peso de cinzas na tíbia, conclui-se que sem a adição de fitase, o fósforo biodisponível proveniente da soja integral extrusada foi de 0,32% (56,5% de BRP). Com a adição da enzima fitase o fósforo biodisponível é elevado para 0,58% (100% de BRP). Dessa maneira, pode-se concluir que a adição de fitase microbiana à dieta promoveu um acréscimo de 0,26% no fósforo biodisponível ou o equivalente a 2,6 g de fósforo biodisponível/ kg de soja integral extrusada adicionada.

Observando os valores de peso de cinzas no dedo médio conclui-se que sem a adição de fitase, o fósforo biodisponível proveniente da soja integral extrusada é de 0,34% (59,1% de BRP). Com a adição da enzima fitase o fósforo biodisponível é elevado para 0,58% (100% de BRP). Dessa maneira, pode-se concluir que a adição de fitase microbiana à dieta promoveu um acréscimo de 0,24% no fósforo biodisponível ou o equivalente a 2,4 g de fósforo biodisponível/ kg de soja integral extrusada adicionada.

Gráfico 9 - Biodisponibilidade relativa de fósforo para a soja integral extrusada com base em ganho de peso (g/dia), cinzas na tíbia (mg) e cinzas no dedo médio (mg) com adição de 0 ou 750 FTU/ kg de ração

4.4.4 Biodisponibilidade relativa média entre os parâmetros avaliados

O Gráfico10 ilustra os valores de biodisponibilidade relativa do fósforo média para fosfato bicálcico, farelo de trigo soja integral tostada e soja integral extrusada com base no ganho de peso (g/dia), peso de cinzas na tíbia (mg), peso de cinzas no dedo médio (mg) com e sem a adição de fitase às dietas das aves aos 22 dias de idade.

Baseado nos valores médios de BRP entre os parâmetros analisados (ganho de peso diário, peso de cinzas na tíbia e peso de cinzas no dedo médio) foi observado que as médias referentes a BRP para farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada sem a adição de fitase foram de 98,6%, 60,4% e 85,3%, respectivamente.

Com a adição de 750 FTU/kg de ração, foram observadas as médias de BRP para farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada de 94,2%, 117,2% e 116,1%, respectivamente. Dessa maneira, não foi observado efeito da adição de fitase com o uso do farelo de trigo e um acréscimo na BRP de 94% para a soja integral tostada e de 36,1% para a soja integral extrusada. Independentemente das fontes de fósforo estudadas foi observado que a adição de fitase melhorou em 22% a biodisponibilidade relativa do fósforo.

Gráfico 10 - Biodisponibilidade relativa de fósforo média para o fosfato bicálcico, farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada com base no ganho de peso (g/dia), cinzas na tíbia (mg) e cinzas no dedo médio (mg) com adição de 0 ou 750 FTU/ kg de ração

5. DISCUSSÃO

São escassos na literatura estudos sobre a disponibilidade relativa do fósforo em farelo de trigo, soja integral tostada e soja integral extrusada.

5.1 DESEMPENHO ANIMAL

5.1.1 Consumo de ração

De acordo com a Tabela 2, o consumo médio diário de ração pelas aves não diferiu com o uso do fosfato bicálcico, farelo de trigo, soja integral tostada ou extrusada, independentemente dos níveis de fósforo e fitase. Já com a adição de fitase foi observada diferença no consumo das aves entre os níveis de P suplementar, independentemente de fontes de fósforo. Os valores encontrados para consumo médio diário não foram influenciados pela adição de fitase nas dietas, independentemente de fontes e níveis de fósforo.

Nahas e Lefrançois (2001) estudando o desempenho de frangos de corte e utilizando diferentes níveis de farelo de trigo em diferentes fases de crescimento, encontraram valores no consumo de ração das aves no período de 1 a 21 dias de idade de 42,91 g com a inclusão de 20% de farelo de trigo na dieta e de 39,94 g com a inclusão de 35% de farelo de trigo nas dietas experimentais. A inclusão de farelo de trigo no presente estudo (4,4%), foi abaixo do apresentado pelos autores, porém o consumo das aves sem a adição de fitase,

independentemente dos níveis de fósforo, foi de 41,16 g/dia, semelhante ao encontrado pelos mesmos.

No presente estudo, não foi observado o efeito da adição de fitase no consumo médio das aves com o uso do farelo de trigo nas dietas (40,26 g/dia). Zyla et al. (2001) também não observaram efeito da adição de fitase nos valores de consumo médio das aves de 1 a 21 dias de idade quando adicionada fitase em dietas à base de farelo de trigo e farelo de soja com baixo nível de fósforo total (4,1 g P total/kg ração), sendo os valores de consumo de ração pelas aves de 43,61 e 41,61g, respectivamente para a ausência e adição de 750FTU/ kg de ração, semelhantes aos encontrados neste trabalho.

Sebastian et al. (1997) estudando dietas com diferentes níveis de fósforo e cálcio (0,63 e 0,95%; 0,48 e 1,05% e 0,44 e 0,58%, respectivamente), para frangos de corte de 0 a 14 dias de idade, não observaram efeito da adição de 0 ou 600 FTU/kg de ração (Natuphós®) no consumo médio diário de ração (32,21 vs 31,78g; 28,28 vs 30,64g; 30,57 vs 31,5g, respectivamente à adição de fitase).

Estudando dietas semi-purificadas com baixos níveis de proteína bruta na dieta (100 g PB/kg ração), utilizando o fosfato bicálcico como fonte de fósforo inorgânico, Peter e Baker (2001) adicionaram 0 ou 1200 FTU/kg de ração (Natuphós®) e não encontraram aumento no consumo de ração das aves de 8 a 17 dias de idade, quando utilizaram farelo de soja (30,11 g ou 28,66g, respectivamente) ou glúten de milho (12,89g ou 12,89g, respectivamente) nas dietas. Neste trabalho, o consumo de ração das aves que consumiram as dietas à base de soja integral tostada ou extrusada com e sem a adição de fitase, foi mais alto comparado aos resultados encontrados pelo autores citados (40,69 e 38,11 g/dia para soja integral tostada e 42,81 e 40,24 g/dia para soja integral extrusada, respectivamente).

Ao contrário dos resultados encontrados neste trabalho, Broz et al. (1994) estudando os efeitos da inclusão de diferentes níveis de fitase microbiana à dieta das aves com baixo

nível de fósforo (0,45% de fósforo total), observaram um aumento significativo no consumo de ração do 8º ao 22º dias de idade (43,01; 44,94 e 47,78 g, respectivamente).

Utilizando diferentes níveis de P suplementar em dietas com e sem adição de fitase, Viveros et al. (2002), encontraram valores de consumo de ração de 40,14 g e 36,86 g, respectivamente, em frangos de corte de 1 a 21 dias de idade com dietas à base de milho e farelo de soja utilizando 0,61 e 0,49% de fósforo total, resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho com 0,45 e 0,50% de fósforo total na dieta sem adição de fitase, independentemente de fontes de fósforo (39,79 e 40,85 g/dia, respectivamente). De acordo com Kies, Van Hemert e Sauer (2001) e Waldroup et al. (2000), baixos níveis de fósforo na dieta de aves são fatores limitantes do consumo de rações pelas aves.

5.1.2 Ganho de peso

Os resultados apresentados na Tabela 3 indicam que não houve efeito das diferentes fontes de fósforo estudadas, independentemente dos níveis de fósforo e fitase para ganho de peso. Utilizando 0,05 ou 0,10% de P suplementar, foi observado um aumento no ganho de peso das aves, independentemente de níveis de fitase e fontes de fósforo. Também não foi encontrada diferença entre os valores de ganho de peso com ou sem a adição de 750 FTU/ kg de ração.

Assim como no presente estudo, utilizando diferentes níveis de inclusão de farelo de trigo e cevada nas dietas de frangos de corte, Nahas e Lefrançois (2001) não identificaram diferença no ganho de peso das aves de 1 a 21 dias de idade, mesmo com a adição de um complexo multienzimático (Avizyme®) para diminuir a viscosidade das dietas.

Edwards Jr. et al. (1999), quando estudaram o efeito de diferentes processamentos (peletização e extrusão) das dietas comerciais à base de milho e soja integral sem casca, em dietas com baixos níveis de fósforo (0,50% P total), não obtiveram melhora nos valores de ganho de peso das aves. Ao corrigir os níveis de fósforo para as exigências nutricionais das aves (rações comerciais), os autores encontraram diferenças no ganho de peso no período de 1 a 16 dias de idade entre as rações com baixos níveis e níveis adequados de fósforo (19,5 vs 26,06 g/dia). Como comprovado no presente estudo e demonstrado por Edwards Jr. et al. (1999), obviamente, níveis de fósforo abaixo das exigências nutricionais requeridas pelas aves não melhoram o desempenho dos frangos de corte.

Ao contrário dos resultados apresentados neste trabalho, Meister (2001), encontrou um acréscimo de 5,64% no ganho de peso das aves ao incrementar de 0,05% para 0,10% o fósforo suplementar da, em frangos de corte alimentados com dietas semi-purificadas à base

de milho, sorgo ou triticale durante o período de 21 dias. Com a adição de 600 FTU/kg de ração (Natuphós®), houve uma melhora no ganho de peso de 9,33% quando aumentou de 0,40 para 0,50% o P total da dieta.

Estudando o efeito de níveis de fósforo na dieta de frangos de corte, com e sem a adição de 600 FTU/ kg de ração (Natuphós®), Sebastian et al. (1997) encontraram diferenças no ganho de peso de frangos de corte de 1 a 19 dias de idade na ordem de 12,73% quando utilizaram baixos níveis de fósforo total na dieta (0,48%), comparado a níveis dentro das exigências nutricionais de frangos de corte (0,63% P total).

No presente trabalho, não foi observado melhora no ganho de peso das aves com a adição de fitase às dietas (24,36 vs 25,00 g/dia, sem e com adição de fitase). Resultados semelhantes foram encontrados por Zyla et al. (2001) quando utilizaram 600 pintos de corte de um dia de idade, alimentados com uma ração à base de farelo de trigo e milho com baixo nível de fósforo (4,1 g de P total/ kg de ração) durante o período de 21 dias, suplementado ou não com fitase microbiana (750 FTU/ kg de ração).

O mesmo resultado não foi observado por Sebastian et al. (1997), onde a adição de 600 FTU/ kg de ração melhorou em 7% o ganho de peso de frangos de corte no período de 19 dias de experimento (28,90 g/dia para 600 FTU/ kg de ração e 27 g/dia para 0 FTU/ kg de ração), independentemente de níveis de fitase e fósforo, resultados acima dos encontrados no presente trabalho.

Viveros et al. (2002), utilizaram diferentes níveis de fósforo nas dietas de frangos de corte (0,71; 0,61; 0,49% de P total) durante o período de 1 a 21 dias de idade das aves e demonstraram que houve uma diminuição de 15,1% e 13,6% no valor de ganho de peso quando utilizado os níveis de 0,49% e 0,61% de P total, comparado aos níveis de fósforo dentro das exigências nutricionais das aves. A adição de 500 FTU/ kg de ração (Natuphós®), melhorou em 6,7% o ganho de peso das aves. No presente estudo, a adição de fitase à dieta

melhorou em 10% o ganho de peso das aves quando houve o aumento de 0,05 para 0,10% no P suplementar, resultado acima do encontrado pelos autores.

De acordo com Ahmad et al. (2000), Broz et al. (1994) e Rama-Rao, Reddy e Reddy (1999), a fitase é capaz de promover um efeito no crescimento de frangos de corte pela liberação de minerais e aminoácidos da molécula de fitato, bem como na melhora da digestibilidade do amido, promovendo uma maior disponibilidade de nutrientes às aves.

Contudo, observando os níveis estudados pelos demais autores, pode-se sugerir que níveis marginais de fósforo nas dietas de frangos de corte não apresentam o mesmo efeito no ganho de peso e a adição de fitase não é capaz de compensar as perdas causadas no desempenho das aves causada pelos baixos níveis de fósforo nas dietas (SIMONS et al., 1990).

5.1.3 Conversão alimentar

De acordo com os resultados expressos na Tabela 4, independentemente dos níveis de fitase e fósforo adicionado, o uso do farelo de trigo, soja integral tostada ou extrusada, demonstraram semelhança na conversão alimentar das aves. O melhor resultado de conversão alimentar foi com o nível de 0,05% de P suplementar, independentemente dos níveis de fitase e das fontes estudadas, sendo que não foi observada diferença na conversão alimentar com ou sem a adição de fitase microbiana à dieta.

Quanto aos níveis de fósforo suplementar, Perney et al. (1993) encontraram melhores resultados de conversão alimentar das aves em resposta ao incremento nos níveis de fósforo (0,21 a 0,45% de P disponível) em dietas semi-purificadas à base de farelo de trigo.

Utilizando diferentes níveis de fósforo total nas dietas de frangos de corte à base de farelo de trigo e milho (0,71 e 0,41% de P total), Zyla et al. (2001), demonstraram que o melhor resultado de conversão alimentar foi com o uso de 0,41% de P total (1,97 vs 1,86 g/g de ração). Neste trabalho, os melhores valores de conversão alimentar foram para o nível de 0,10% de P suplementar sem a adição de fitase, contudo com a adição de fitase, não foi observada diferença na conversão alimentar das aves nos níveis de fósforo adicionados, nem independentemente dos níveis de fósforo (1659 vs 1672 g/kg, sem e com adição de fitase respectivamente). Ao contrário dos resultados encontrados neste estudo, Sebastian et al. (1996a) quando adicionaram 600 FTU/ kg de ração (Natuphós®) a uma dieta à base de milho e farelo de soja, com baixos níveis de fósforo total (0,50%) em frango de corte de 1 a 21 dias de idade, os autores demonstraram diferença na conversão alimentar das aves (1500 vs 1490 g/kg).

Johnston e Southern (2000) não observaram diferença no consumo alimentar de frangos de corte entre 1 e 16 dias de idade quando utilizaram diferentes níveis de fitase (0, 200, 400, 500, 600, 700, 800, 1000 ou 1200 FTU/ kg de ração) nas dietas à base de milho e farelo de soja. Os mesmos resultados foram encontrados por Augspurger et al. (2003), Perney et al. (1993) e Sohail e Roland (1999).

Contudo, Tejedor et al. (2001), utilizando dietas à base de milho e farelo de soja com baixos níveis de fósforo disponível (0,45 e 0,30%) e adição de 500 FTU/ kg de ração (Natuphós®) ou 750 FTU/ kg de ração (Ronozyme®), em frangos de corte de 1 a 25 dias de idade, observaram a melhora da conversão alimentar de 3% para ambas as enzimas. Resultados semelhantes na conversão alimentar das aves com a adição de fitase também foram encontrados por Biehl e Baker (1997), Kersey, Saleh e Stilborn (1998), Namkung e Leeson (1999), Ravindran et al. (1999) e Yi et al. (1996)

Segundo Erener et al. (2003), resultados significativos para desempenho de aves com o uso de fitase nas dietas são dependentes do período de utilização da enzima, ou seja, são esperados resultados significativos de desempenho quanto maior for o período de utilização da enzima.

5.2 PARÂMETROS ÓSSEOS

5.2.1 Peso das cinzas na tíbia

Baseado nos resultados apresentados na Tabela 5, o uso do farelo de trigo e da soja integral tostada ou extrusada, não deferiram entre si nos resultados de pesos de cinzas na tíbia, independentemente dos níveis de fósforo e fitase, sendo inferiores ao valor encontrado com o uso do fosfato bicálcico. Independentemente dos níveis de fitase e fontes de fósforo, foi observado um aumento significativo no peso das cinzas das tíbias ao adicionar 0,05 ou 0,10% de P inorgânico e a adição de fitase incrementou em 12,06% o peso de cinzas na tíbia das aves.

Augspurger et al. (2003) estudaram a adição de 500 FTU/ kg de ração proveniente das enzimas comerciais Natuphós® (*A. niger*), Ronozyme® (*A. niger*) e Ecophós® (*E. coli*) em dietas com baixo fósforo total (0,35 ou 0,37%) e suplementação de diferentes níveis de fósforo inorgânico (0,05 ou 0,10%) em frangos de corte de 8 a 21 dias de idade, alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja. O incremento de 0,05% no fósforo inorgânico melhorou em 27,80% o peso de cinzas por tíbia (198 mg para 0,05% de P suplementar e 253 mg para 0,10% de P suplementar) e a adição de fitase microbiana melhorou em até 39,55% o peso de cinza por tíbia para as fitases microbianas provenientes do *A. niger* (187 e 188 mg/tíbia, respectivamente) e 156% o peso de cinza por tíbia para a fitase proveniente do *E. coli* (343 mg/tíbia), comparado ao controle (134 mg/tíbia). No presente estudo, a adição de 750 FTU/ kg de ração (Ronozyme®), melhorou em 12,06% o peso de cinzas na tíbia (1799 vs 2016 mg). Apesar do peso de cinzas por tíbia encontrado neste trabalho ser acima dos

resultados encontrados por Augspurger et al. (2003), o aumento no peso de cinzas na tíbia foi menor que o encontrado pelos autores citados.

Rama-Rao, Reddy e Reddy (1999), estudaram a ação dos níveis de fitase microbiana (250 ou 500 FTU/ kg de ração de Allizyme®) em parâmetros ósseos e desempenho de frangos de corte de 3 a 30 dias de idade, em dietas à base de milho e farelo de soja com baixo nível de fósforo (0,30% P total) e observaram uma melhora no peso de cinzas na tíbia de 2,84% para 500 FTU/ kg de ração (430 g/kg^{-1}) e de 1,90% para 250 FTU/ kg de ração (434 g/kg^{-1}), comparado à dieta basal sem a adição de fitase (422 g/kg^{-1}), abaixo dos resultados encontrados neste trabalho.

Utilizando diferentes níveis de fitase (0, 750, 1500, 3000, 6000 FTU/ kg de ração) em dietas de frangos de corte à base de milho e farelo de soja, Hall et al. (2003), observaram que o peso por tíbia das aves aumentou conforme o nível de fitase adicionada. Observaram um aumento de até 27,40% no peso por tíbia (566,5; 629,9; 650; 683; 721,7 mg, respectivamente aos níveis de fitase adicionada).

Shirley e Edwards Jr. (2003) estudando diferentes níveis de fitase (0; 93,75; 187,5; 375; 750; 1500; 3000; 6000; 12000 FTU/ kg de ração) observaram um aumento significativo no peso de cinzas por tíbia de até 104,5% (até o nível de 6000 FTU/ kg de ração), em frangos de corte com 16 dias de idade.

Houve efeito de interação entre as fontes de fósforo e níveis de fitase, independentemente dos níveis de fósforo adicionado (Tabela 6 e Gráfico 1). Na ausência de fitase, foram observados que os pesos das cinzas na tíbia foram semelhantes entre o uso do fosfato bicálcico e farelo de trigo e entre a soja integral tostada e a soja integral extrusada. A adição de 750 FTU/ kg de ração resultou em semelhante peso de cinzas na tíbia das aves com o uso do fosfato bicálcico, soja integral tostada ou extrusada. Foi observado que a adição de fitase não alterou o peso de cinzas na tíbia das aves com o uso do farelo de trigo.

Segundo Sandberg et al. (1989), a molécula fitato (hexafosfato de mio inositol) é formada por diversos tipos de grupamentos fosfato e somente os grupamentos penta (IP5) e hexafosfato (IP6) que são os de baixa biodisponibilidade aos animais por apresentarem ligações fortes entre as moléculas. Do total de fitato, a soja integral apresenta praticamente 100% mais hexafosfato (IP6) que o farelo de trigo (HARLAND; MORRIS, 1995), pois o trigo apresenta alta atividade de fitase endógena quando comparado aos demais grãos (BRINCH-PEDERSEN et al., 2000). Com base nestes estudos, pode-se concluir que a fitase endógena do trigo foi eficaz em liberar fósforo inorgânico da molécula de fitato, tornando mais disponível os nutrientes com o uso do farelo de trigo que com o uso da soja integral tostada ou extrusada, para peso de cinzas na tíbia, na ausência de fitase à dieta dos frangos, como demonstram os resultados deste trabalho.

Com a adição de 750 FTU/ kg de ração, a disponibilidade de minerais para mineralização óssea (peso de cinzas na tíbia) melhorou para a soja integral tostada e extrusada, demonstrando que a composição bromatológica de ambas são idênticas e equiparadas às qualidades do fosfato bicálcico. Baseado nos estudos dos autores citados e nos resultados obtidos pode-se concluir que a soja integral tostada ou extrusada, apesar de apresentarem composições bromatológicas idênticas (CAFÉ, 2000), demonstram diferença na disponibilidade de minerais para a formação óssea. De acordo com Alonso, Orúe e Marzo (1998), Edwards Jr. et al. (1999) e Egounley; Aword (2003), os processamentos do tipo peletização, fermentação ou extrusão podem transformar o fitato (hexafosfato de mio inositol) em penta, tetra ou trifosfato de mio inositol, tornando o fósforo e outras moléculas ligadas ao fitato (aminoácidos, minerais, etc) mais disponíveis aos animais.

5.2.2 Porcentagem de cinzas na tíbia

De acordo com os resultados expressos na Tabela 7, o uso do fosfato bicálcico apresentou maior valor de porcentagem de cinzas na tíbia, seguido do farelo de trigo e soja integral extrusada, independentemente dos níveis de fósforo e fitase. A suplementação de 0,10% de P nas dietas melhorou em 5% o teor de cinzas na tíbia das aves, independentemente de fontes de fósforo e níveis de fitase. A adição de 750 FTU/ kg de ração, incrementou em 7,34% o teor de cinzas na tíbia das aves no período de 21 dias.

Estes resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Perney et al. (1993). Estudando diferentes níveis de fósforo disponível (0,32; 0,38 OU 0,44%) e a adição de diferentes níveis de fitase (0, 250, 500 ou 700 FTU/ kg de ração), em dietas à base de milho e farelo de soja para frangos de corte de 1 a 10 dias de idade, os autores encontraram valores de porcentagem de cinzas na tíbia de 31,6% (0,32% de P disponível e 0 FTU/ kg de ração) até 43,2% (0,44% de p disponível e 700 FTU/ kg de ração). Os autores sugerem que a melhora na mineralização óssea das aves é causada pela liberação de Ca e P inorgânicos da molécula de fitato pela ação da fitase no trato digestivo, melhorando a disponibilidade destes nutrientes e sendo dependente dos níveis de fósforo aplicados à dieta.

Denbow et al. (1995) estudando diferentes níveis de fósforo disponível (0,20; 0,27 e 0,34%) e diferentes níveis de fitase (0, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 FTU/ kg de ração), também demonstraram que a porcentagem de cinzas na tíbia é melhorada conforme há aumento nos níveis de fósforo disponível e fitase microbiana em dietas semi-purificadas para frangos de corte à base de farelo de soja. Utilizando o nível de 600 FTU/ kg de ração, foram encontrados os valores de porcentagem de cinzas na tíbia de 33,1; 37,4 e 38,1% para os níveis de fósforo disponível de 0,20; 0,27 e 0,34%, respectivamente. Estes valores determinaram um

incremento no teor de cinzas na tíbia de 12,60; 14,72 e 7,93%, respectivamente aos níveis de fósforo disponível. Estes resultados estão acima dos encontrados neste estudo, onde a adição de fitase com baixo nível de fósforo total (0,45 ou 0,50%) melhorou 6,46% a porcentagem de cinzas na tíbia (32,98 vs 35,11%, respectivamente).

Utilizando frangos machos da linhagem Ross de 1 a 21 dias de idade, Hall et al. (2003) demonstraram efeito da adição de diferentes níveis de fitase (0, 750, 1500, 3000 e 6000 FTU/kg de ração), em uma dieta à base de milho e farelo de soja na mineralização óssea das aves. Com a adição de 750 FTU/kg de ração, houve um incremento de 17,17% na porcentagem de cinzas na tíbia, resultados acima dos encontrados no presente estudo (incremento de 7,35%).

No presente estudo, foi observado efeito de interação ($P < 0,05$) entre fontes e níveis de fósforo (Tabela 8 e Gráfico 2). De acordo com os resultados obtidos pode-se observar efeito de interação de grandeza entre as fontes estudadas e os níveis de fósforo suplementar. Ou seja, ao aumentar de 0,05% para 0,10% o fósforo total foi observado que com o uso do fosfato bicálcico, farelo de trigo e soja integral tostada, houve uma melhora na porcentagem de cinzas na tíbia das aves. Com o uso da soja integral extrusada como fonte de fósforo, a adição de 0,05% de P suplementar não alterou a mineralização óssea das aves. Segundo Denbow et al. (1998) o incremento nos níveis de fósforo nas dietas é capaz de melhorar o peso e a porcentagem de cinzas na tíbia de aves

Também foi observado efeito de interação ($P < 0,05$) entre fontes de fósforo e níveis de fitase (Tabela 9 e Gráfico 3). A adição de 750 FTU/kg de ração, melhorou a mineralização óssea das aves com o uso do fosfato bicálcico e da soja integral tostada ou extrusada. O uso do farelo de trigo com a adição de fitase, não alterou a porcentagem de cinzas na tíbia das aves. Segundo Brinch-Pedersen et al. (2000) e Viveros et al. (2000), o farelo de trigo contém fitase endógena e baseado nestas afirmações pode-se observar pelos resultados que a adição

de fitase microbiana não tem ação na liberação de grupos fosfato do fitato para o farelo de trigo.

O uso da soja integral tostada, resultou em menor valor de porcentagem de cinzas na tíbia das aves, comparada ao uso da soja integral extrusada. Segundo Watzke (1998), o processo de extrusão afeta severamente as ligações covalentes das macromoléculas, podendo assim liberar grupamentos fosfato das moléculas de fitato, melhorando a biodisponibilidade de fósforo e outros minerais aos animais.

5.2.3 Peso de cinzas no dedo médio

De acordo com os resultados expressos na Tabela 10, independentemente dos níveis de fósforo suplementar e fitase, não houve diferença no de peso de cinzas no dedo médio das aves com o uso do farelo de trigo e da soja integral tostada ou extrusada . O uso do fosfato bicálcico resultou no maior valor de peso das cinzas no dedo médio sendo diferente dos demais ingredientes estudados. O aumento de 0,05% para 0,10% de P suplementar melhorou em 12,13% o peso de cinzas no dedo médio das aves, independentemente de fontes de fósforo e níveis de fitase e a adição de fitase microbiana melhorou em 15,12% o peso de cinzas no dedo médio das aves, independentemente de fontes e níveis de fósforo.

Trabalhando com diferentes níveis de fósforo disponível (0,08; 0,16 e 0,24%) e diferentes níveis de fitase (400, 800 e 1200 FTU/ kg de ração), Denbow et al. (1998) demonstraram a melhora de até 35% no peso de cinzas dos dedos médios de frangos de corte com 21 dias de idade. No presente estudo, a melhora no peso de cinzas no dedo das aves alimentadas com as dietas adicionadas de fitase foi de 15% (117,62 vs 135,41 mg), sendo abaixo do encontrado pelos autores citados acima, porém está de acordo com os resultados encontrados por Zhang et al. (2000a), onde a adição de 250 a 2500 FTU/ kg de ração foi capaz de aumentar em 14,7% a 27,6% o peso de cinzas no dedo médio dos frangos de corte alimentados com dietas de baixos níveis de fósforo total (0,46%) à base de milho, farelo de soja e farelo de canola durante o período de 28 dias. Contudo, os resultados de peso de cinzas no dedo das aves estão abaixo daqueles encontrados por Zyla et al. (2001), com a adição de fitase (750 FTU/ kg de ração) em dietas à base de farelo de trigo com baixo fósforo total para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, comparada a dieta controle (164 vs 150 mg, respectivamente).

De acordo com Ahmad et al. (2000), a adição de 1075 PU/ g de substrato de fitase não melhorou o peso de cinzas nos dedos das aves aos 28 dias de idade em dietas à base de milho, farelo de soja, farelo de arroz e glúten de milho. A dieta controle com fósforo total dentro das exigências nutricionais das aves, obteve 210 mg de peso de cinzas no dedo médio, a dieta com fósforo total dentro das exigências nutricionais e adição de fitase obteve 230 mg e a dieta com baixo fósforo e adição de fitase obteve 220 mg de peso de cinzas no dedo médio das aves.

Foi observado efeito de interação ($P<0,01$) entre fontes de fósforo e níveis de fitase para peso de cinzas no dedo médio das aves (Tabela 11 e Gráfico 4). Na ausência de fitase, foi observado que os pesos de cinzas no dedo médio foram semelhantes entre o uso do fosfato bicálcico e do farelo de trigo e entre o uso da soja integral tostada ou extrusada. A soja integral extrusada resultou em um valor de peso de cinzas na tíbia igual ao do farelo de trigo. A adição de 750 FTU/ kg de ração fez com que o peso de cinzas no dedo médio das aves fossem semelhantes entre o uso do fosfato bicálcico, da soja integral tostada ou extrusada, ficando o menor valor com o uso do farelo de trigo. Foi observado que a adição de fitase não demonstrou efeito no farelo de trigo. O mesmo comportamento foi observado no peso de cinzas na tíbia das aves, demonstrando o efeito da enzima exógena do farelo de trigo (VIVEROS et al., 2000) e o efeito do processamento na biodisponibilidade de minerais com o uso da soja integral (WATZKE, 1998).

5.2.4 Porcentagem de cinzas no dedo médio

De acordo com os resultados expressos na Tabela 12, com o uso do farelo de trigo, soja integral tostada ou extrusada não diferiram entre si na porcentagem de cinzas no dedo das aves, com a suplementação ou não de fitase microbiana à dieta. O uso do fosfato bicálcico demonstrou o maior valor de porcentagem de cinzas no dedo médio sendo diferente das demais fontes estudadas. A adição de 750 FTU/ kg de ração melhorou em 9,35% a porcentagem de cinzas no dedo médio quando aumentou de 0,05 para 0,10% o fósforo suplementar da dieta, sendo que o mesmo efeito não foi observado na ausência de fitase microbiana. Foi observado que a adição de fitase microbiana melhorou em 8,80% a porcentagem de cinzas no dedo das aves.

Estes resultados estão semelhantes aqueles encontrados por Yi et al. (1996) onde foi observado um incremento de 8 a 18% na porcentagem de cinzas no dedo médio de frangos de corte com 21 dias de idade, alimentados com dietas semi-purificadas à base de farelo de soja, com diferentes níveis de fósforo disponível (0,27; 0,36; 0,45 e 0,54%) e níveis crescentes de fitase adicionada (0, 350, 700 e 1050 FTU/ kg de ração).

Contudo no presente estudo, a melhora na porcentagem de cinzas no dedo das aves está abaixo dos resultados encontrados por Denbow et al. (1998). Os autores demonstraram que a porcentagem de cinzas no dedo médio de frangos de corte melhorou de 20 a 45% com o uso de níveis crescentes de fósforo disponível (0,08; 0,16 e 0,24%) e de 12 a 21,30% com níveis crescentes de fitase microbiana (400, 800 ou 1200 FTU/ kg de ração) das aves com 2 a 3 semanas de idade, em dietas à base de milho e farelo de soja.

Zhang et al. (2000a) estudando a adição de diferentes níveis de fitase (0, 250, 500, 2500 FTU/ kg de ração) em dietas com baixo fósforo total (0,46%) à base de milho, farelo de

soja e canola para frangos de corte, encontraram os valores de porcentagem de cinzas no dedo médio das aves de 11,1% para a dieta basal e a variação de 11,2 a 12,4% para os crescentes níveis de fitase adicionada.

Os resultados de porcentagem de cinzas no dedo médio observados no presente trabalho são condizentes com os resultados observados por Ahmad et al. (2000), Perney et al. (1993), Ravindran (2001) e Zyla et al. (2000).

Neste trabalho foi observado efeito de interação ($P < 0,05$) entre fontes e níveis de fósforo, bem como níveis de fósforo e de fitase (Tabelas 13 e 14 e Gráficos 5 e 6, respectivamente). Para efeito de interação entre fontes e níveis de fósforo, foi observado que a suplementação da dieta basal com 0,10% de P total sem adição de fitase, não alterou a porcentagem de cinzas no dedo médio das aves com o uso do farelo de trigo, da soja integral tostada ou extrusada quando comparado ao nível de suplementação de 0,05% de P total. Não há trabalhos na literatura que possam justificar tais comportamentos às respectivas fontes.

A interação entre níveis de fósforo e níveis de fitase ocorreu em ordem de grandeza, onde o maior nível de fósforo e fitase promoveram um aumento na mineralização óssea dos frangos. Ou seja, a adição de fitase melhorou a porcentagem de cinzas no dedo médio dos frangos em dietas com altos níveis de fósforo total. Contudo, Waldroup et al. (2000) sugerem que quanto mais alto for o nível de fósforo disponível adicionado à dieta basal com o teor de fósforo abaixo das exigências nutricionais, menor será o efeito da fitase para a maximização da mineralização óssea. Porém, este efeito é quadrático durante o período de crescimento das aves, podendo ser modificado o efeito de nível de fósforo e fitase dependendo da fase em estudo (YAN; KERSEY; WALDROUP, 2001).

5.3 INGESTÃO E EXCREÇÃO DE FÓSFORO

5.3.1 Fósforo total ingerido

De acordo com os resultados expressos na Tabela 15, não houve efeito de fontes de fósforo e níveis de fitase no fósforo total ingerido pelas aves no período de 21 dias. Foi observado efeito de níveis de fósforo adicionado à dieta basal quanto ao fósforo total ingerido pelas aves e independentemente das fontes de fósforo e níveis de fitase adicionada, foi observado um aumento na ingestão de fósforo pelas aves com o aumento nos níveis suplementares de 0,05 e 0,10% à dieta basal.

Os resultados do presente trabalho, quanto aos níveis de fósforo adicionado a dietas de baixo fósforo total, estão em acordo com os sugeridos por Yi et al. (1996), onde aumentos nos níveis de fósforo disponível, aumentam linearmente o fósforo total ingerido. Também Perney et al. (1993), comprovaram que o aumento nos níveis de fósforo total (0,32; 0,38 e 0,44%) são capazes de aumentar o fósforo total ingerido em até 53,44%, porém níveis adicionados de fitase a estas dietas alteram a retenção de fósforo pela ave, mas não o consumo total de fósforo.

Ahmad et al. (2000) demonstraram que a adição de 1075 PU/g de substrato de fitase não altera a ingestão de fósforo total de frangos quando a dieta está dentro das exigências nutricionais de fósforo para as aves, mas altera a ingestão de fósforo em dietas com baixos níveis de fósforo total. A ingestão de fósforo total encontrado pelo autor foi de 1,3 mg/ dia para dietas com adição de fitase e baixo nível de fósforo total, resultado abaixo do encontrado neste estudo (1,99 mg/dia).

5.3.2 Fósforo total excretado

De acordo com os resultados expressos na Tabela 16, não foi observado efeito de fontes de fósforo, independentemente dos níveis de fósforo e fitase para a excreção de fósforo total (mg/dia). A suplementação de 0,05% para 0,10% de fósforo total nas dietas provocou um aumento no total de fósforo excretado na ordem de 21,66%. Contudo a adição de fitase microbiana reduziu em 11,27% a excreção de fósforo total pelas aves no período de 21 dias de experimento, independentemente dos níveis de fósforo suplementar e fontes de fósforo estudadas.

Denbow et al. (1998), adicionaram diferentes níveis de fósforo disponível (0,08; 0,16 e 0,24%) a uma dieta à base de milho e farelo de soja para frangos e demonstraram um aumento significativo nos níveis de fósforo excretado de 17,58% até 52,34%. Porém ao adicionarem diferentes níveis de fitase (0,400, 800 ou 1.200 FTU/ kg de ração), observaram uma redução no fósforo total excretado de até 18% (2,56; 2,34; 2,24 ou 2,10 g/kg MS).

Zyla et al. (2000) trabalhando com dietas à base de farelo de trigo e farelo de soja com baixo nível de fósforo disponível (0,17%) e a adição de 750 FTU/ kg de ração, demonstraram que a fitase foi capaz de reduzir em 19,56% a excreção de fósforo total por ave, resultado superior ao encontrado no presente trabalho, onde a redução de fósforo com a adição de fitase chegou a 11,27% (0,71 vs 0,63 mg/dia). Entretanto, os resultados deste estudo estão semelhantes aos encontrados por Zhang et al. (2000a), onde observaram uma redução de até 11,5% no fósforo total excretado pelas aves ao trabalharem com diferentes níveis de fitase (0, 250, 500 ou 2.500 FTU/ kg de ração), adicionados em dietas à base de milho e farelo de soja, com baixos níveis de fósforo total (0,46%).

A redução no fósforo eliminado nas excretas de frangos pode ser ainda mais significativa com a adição de fitase somada a adição de outras enzimas. Zyla et al. (2001) quando adicionaram 750 FTU/ kg de ração e 3156 AcPU/kg de fosfatase ácida em dietas para frangos de corte à base de milho e farelo de trigo, com baixo fósforo disponível (0,17%), demonstraram uma redução de até 44,77% no fósforo total excretado pelas aves.

5.3.3 Porcentagem de fósforo total excretado

De acordo com a Tabela 17, os resultados demonstram diferença estatística entre as fontes de fósforo estudadas. O uso do fosfato bicálcico e farelo de trigo diferiram de todas as fontes avaliadas, independentemente dos níveis de fósforo suplementar e fitase. A soja integral tostada ou extrusada não diferiram entre si na excreção de fósforo total ao ambiente com ou sem a adição de fitase. Os diferentes níveis de fósforo suplementar, independentemente das fontes estudadas, diferiram entre si para excreção de fósforo quando não houve a adição de fitase. Independentemente das fontes de fósforo e níveis de fitase, a excreção de fósforo total ao ambiente foi maior quando houve o aumento de 0,05% para 0,10% no P suplementar. A adição de fitase reduziu em 13% a excreção de fósforo total ao ambiente.

De acordo com Waldroup (1999), a redução na excreção de fósforo ao ambiente pode ocorrer pela redução nos níveis de fósforo total das dietas, pelo aumento nos níveis de fósforo disponível para os animais ou pela suplementação da enzima fitase à dieta. Kersey, Saleh e Stilborn (1998) demonstraram que a adição de fitase (500 FTU/ kg de ração) reduziu em até 24,22% a porcentagem de fósforo total excretado por frangos de corte com 14 dias de idade, com o aumento nos níveis de fósforo disponível nas dietas à base de milho e com alta disponibilidade de fósforo. E as aves alimentadas com dietas de baixos níveis de fósforo suplementadas com fitase, excretaram menos fósforo que aquelas alimentadas com dietas sem fitase (YAN; KERSEY; WALDROUP, 2001)

Boling et al. (2000) observaram redução de até 50% no total de fósforo excretado por poedeiras quando reduziu de 1,12% o nível de fósforo total da dieta à base de milho e farelo de soja para 0,69% de fósforo total e suplementação de fitase (300 FTU/ kg de ração).

No presente trabalho, a redução na porcentagem de fósforo total excretado ao ambiente nas dietas com adição de fitase foi de 13% (0,69 vs 0,60%), independentemente de fontes e níveis de fósforo, resultados abaixo dos encontrados por Johnston e Southern (2000) que encontraram uma redução de até 22,75% na porcentagem de fósforo total excretado ao ambiente por frangos de 16 dias de idade alimentados com dietas desuniformes na quantidade de fitase adicionada à base de milho e farelo de soja. Utilizando rações comerciais à base de milho e farelo de soja dentro das exigências nutricionais de frangos até o momento do abate, Munaro et al. (1996) encontrou uma redução na porcentagem de fósforo total excretado ao ambiente de até 56%, sendo que resultados similares aos do autor quanto a redução de fósforo excretado ao ambiente (%), também foram encontrados por Cromwel e Coffey (1991), Sebastian et al. (1996a) e Simons et al. (1990). Portanto, é possível reduzir a excreção de fósforo total ao ambiente em até 50% com a suplementação de fitase à dietas de aves, minimizando o impacto da poluição de fósforo no ambiente (VOHRA; SATYANARAYANA, 2003).

5.3.4 Peso total de excreta

Os resultados demonstraram que independentemente de fontes e níveis de fósforo, o peso total de excreta eliminado pelas aves foi maior com o uso da soja integral tostada e soja integral extrusada e menor quando utilizado o farelo de trigo e o fosfato bicálcico como fontes. O aumento de 0,05 para 0,10% de P suplementar resultou num aumento do peso total excretado, independentemente de fontes de fósforo e níveis de fósforo, porém a adição de fitase microbiana não demonstrou redução no peso total de excreta das aves aos 22 dias de idade.

O peso total médio de excreta produzido por frangos de corte no período de 21 dias, alimentados com dietas comerciais à base de milho e farelo de soja é de aproximadamente 91g (SISTANI et al., 2003), resultado semelhante ao encontrado no presente trabalho com o uso do fosfato bicálcico (92 g) sem adição de fitase, porém abaixo do encontrado pelo uso do farelo de trigo (110 g), soja integral tostada (108 g) e soja integral extrusada (127 g), sem adição de fitase.

A literatura sobre peso total de excreta de aves com o uso de fitase é escassa, porém Wyatt e Harker (1995) observaram uma redução de 12 a 15% no peso total de excreta de frangos de corte, discordante dos resultados encontrados no presente trabalho onde o uso de fitase não interferiu no peso total de excreta eliminado pelas aves (102 vs 106 g).

5.4 BIODISPONIBILIDADE RELATIVA DO FÓSFORO DOS INGREDIENTES

Para os ingredientes estudados, farelo de trigo, soja integral tostada e extrusada, os valores de biodisponibilidade relativa do fósforo (BRP) calculados com base no ganho de peso, variaram entre 80,9 e 140,4% na ausência de fitase à dieta. Com a adição de fitase às dietas experimentais, a BRP passou a variar entre 114 e 150,5%.

Os valores de biodisponibilidade relativa do fósforo (BRP) calculados com base no peso de cinzas na tíbia, variaram entre 51,72 e 83,19% na ausência de fitase à dieta. Com a adição de fitase às dietas experimentais, a BRP passou a variar entre 79,4 e 100%.

E os valores de biodisponibilidade relativa do fósforo (BRP) calculados com base no peso de cinzas no dedo médio, variaram entre 43,5 e 81,8% na ausência de fitase à dieta. Com a adição de fitase às dietas experimentais, a BRP passou a variar entre 89,2 e 107,7%.

5.4.1 Biodisponibilidade relativa do fósforo sem adição de fitase

Baseado nos valores de BRP para as fontes estudadas, nota-se que os maiores valores de biodisponibilidade relativa foram apresentadas com o uso do farelo de trigo sem adição de fitase para os parâmetros de ganho de peso (139,5%), peso de cinzas na tíbia (74,4%) e peso de cinzas no dedo médio (81,8%), contudo pode-se notar que o melhor parâmetro para a determinação da BRP baseado nos valores dos coeficientes de determinação (r^2) foi o peso de cinzas na tíbia (mg), seguido pelo peso de cinzas nos dedos médio e por último o ganho de peso. Segundo Zhang et al. (2000b), parâmetros de desempenho animal (conversão alimentar

ou ganho de peso) utilizados para o cálculo da BRP, são influenciados por fatores inerentes ao ambiente e indivíduo, como temperatura ambiental, idade das aves, pH intestinal e viscosidade da dieta, resultando em baixos valores de r^2 e baixa acurácia nas equações para o cálculo da BRP. Apesar da porcentagem de cinzas ósseas ser rotineiramente utilizada para medir a mineralização óssea, o peso de cinzas na tíbia é o indicador mais sensível quanto a acurácia e valores de r^2 das equações para o cálculo da BRP (HALL et al., 2003). Portanto, baseado nestas observações pode-se concluir que em termos de mineralização óssea, o farelo de trigo sem adição de fitase, apresentou o maior valor de BRP seguido da soja integral tostada e soja integral extrusada.

Segundo Viveros et al. (2000), altos níveis de fitase endógena podem ser encontrados nas sementes de trigo capazes de hidrolizar a molécula de fitato de penta para monofosfato de mio inositol, tornando o fósforo mais disponível ao animal que em outras fontes vegetais. A atividade de fitase num grão de trigo pode chegar a 980 U/kg segundo Carlson e Poulsen (2003). Neste trabalho, a atividade de fitase encontrada no farelo de trigo foi de 1044 U/kg sendo maior que aquela encontrada pelos autores acima citados.

Em pH 5,0 com suspensão de diferentes ácidos, Turk, Carlsson e Sandberg (1996), determinaram que a disponibilidade de fósforo para o trigo em grão sem adição de fitase variou entre 71 e 73%, sendo que resultados similares para a disponibilidade de fósforo em farelo de trigo (64 e 75%) também foram encontrados por Garcia-Estepa, Guerra-Hernández e Garcia-Villanova (1999). Estes resultados estão semelhantes aos encontrados no presente estudo, onde a BRP calculada para o uso do farelo de trigo sem adição de fitase foi de 74,4%.

No presente trabalho, a BRP (peso de cinzas na tíbia) com o uso da soja integral tostada e da soja integral extrusada foi de 56,9 e 56,5%, respectivamente. Estes resultados estão acima dos encontrados por Sands et al. (2003) onde a BRP baseada em peso de cinzas na tíbia com o uso do farelo de soja, utilizando dietas semi-purificadas com baixos níveis de

fósforo total (4,2 g/kg) sem a adição de fitase para frangos de 21 dias de idade foi de 36%. Não há trabalhos similares quanto a disponibilidade de fósforo para frangos de corte com o uso de sojas integrais como fontes de fósforo, porém os resultados sugerem que baseado nos valores de peso das cinzas na tíbia, os processos realizados nos grãos de soja (tostagem e extrusão) não alteraram a disponibilidade de fósforo para as aves quando não há adição de fitase às dietas.

A retenção de fósforo pelas aves tem correlação direta com a disponibilidade biológica de fósforo, segundo Ahmad et al. (2000). De acordo com os autores, a retenção de P fósforo de uma dieta à base de milho e farelo de soja para frangos de corte é de 43,3 g/ 100 g e Angel et al. (2003) determinaram que a retenção total de fósforo para aves de 21 dias de idade alimentados com dietas semi-purificadas a base de farelo de soja é de 30,8%. Leske e Coon (2002), determinaram que a retenção de fósforo total relativo a cinzas na tíbia foi de e 43,2%, respectivamente, em frangos alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja. Estes resultados estão abaixo dos encontrados no presente estudo, onde a média da BRP com o uso dos ingredientes orgânicos é de 62,6%.

Neste trabalho, a BRP média entre as fontes, para cinzas no dedo foi de 61,47%, abaixo do resultado encontrado por Yi et al. (1996). A retenção de fósforo baseada em porcentagem de cinzas no dedo médio das aves aos 21 dias de idade, alimentadas com dietas semi-purificadas à base de farelo de soja, foi de 66,1%.

5.4.2 Biodisponibilidade relativa do fósforo com adição de fitase

Baseado nos valores de BRP para as fontes estudadas, nota-se que os maiores valores de biodisponibilidade relativa com a adição de 750 FTU/ kg de ração à dieta foram apresentadas pelo uso da soja integral tostada para ganho de peso (150,5%) e peso de cinzas no dedo médio (107,7%) e pela soja integral extrusada para peso de cinzas na tíbia (100%).

Como sugerido no item anterior, foi utilizado o parâmetro peso de cinzas na tíbia das aves para representar o processo de mineralização óssea das aves. Dessa maneira, a adição de 750 FTU/ kg de ração demonstrou que com o uso da soja integral extrusada (100%) resultou no maior valor de BRP, seguido da soja integral tostada (93,5%) e do farelo de trigo (79,4%) quando comparado ao uso do fosfato bicálcico. Foi observado que não houve acréscimo na BRP do farelo de trigo (9,06%) com a adição de fitase e foi observado um acréscimo considerável na BRP com o uso da soja integral extrusada de 77% e da soja integral tostada de 64,32%.

A julgar pelos dados calculados de BRP, pode-se observar claramente o efeito da fitase endógena do farelo de trigo agindo nas moléculas de fitato e tornando o fósforo mais disponível às aves como sugerido por Garcia- Estepa, Guerra-Hernández e Garcia-Villanova (1999) e Harland e Morris (1995) não havendo ação da fitase na disponibilidade do fósforo às aves.

De acordo com os valores de RBP, a soja integral tostada e a soja integral extrusada comportaram-se de maneira semelhante na biodisponibilidade de fósforo às aves, porém a julgar pelos valores calculados para peso de cinzas na tíbia, a soja integral extrusada foi capaz de apresentar melhores valores para a mineralização óssea das aves. Segundo Watze (1998) o processo de extrusão realiza uma despolimerização dos nutrientes, com especial participação

dos minerais e aminoácidos, tornando-os mais solúveis e absorvíveis aos animais. Assim, grãos que sofrem o processo de extrusão podem trazer melhores resultados de desempenho e biodisponibilidade de minerais quando comparados aos demais tipos de processamento (ALONSO; ORÚE; MARZO, 1998; EDWARDS JR. et al., 1999), mesmo quando apresentam a mesma composição bromatológica (CAFÉ et al., 2000).

De acordo com o Gráfico 10 e levando em consideração a média dos parâmetros avaliados para a BRP, pode-se observar que a ação da fitase microbiana é mais efetiva na soja integral tostada. Ou seja, o incremento de 94% observado na BRP com o uso da soja integral tostada, sem e com a adição de fitase, foi maior que nas demais fontes estudadas. Com base nos resultados obtidos pela média de todos os parâmetros avaliados para o cálculo da BRP, pode-se sugerir que a inclusão de 750 FTU/ kg de ração seria mais eficiente em dietas à base de soja integral tostada, seguido da soja integral extrusada e com pouca ação em dietas à base de farelo de trigo.

Denbow et al. (1995) trabalhando com dietas semi-purificadas com baixos níveis de fósforo à base de farelo de soja para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, demonstraram que a adição de 750 FTU/ kg de ração liberou 3,7 g de fósforo disponível do farelo de soja para porcentagem de cinzas no dedo médio das aves, valor semelhante ao encontrado no presente trabalho com o uso da soja integral tostada (3,71 g P disponível) e maior que com o uso da soja integral extrusada (2,4 g P disponível).

Resultados similares foram encontrado por Yi et al. (1996) quando utilizaram dietas semi-purificadas à base de farelo de soja para frangos de 1 a 21 dias de idade e adição de 750 FTU/ kg de ração, com baixos níveis de fósforo disponível (0,45; 0,54; 0,63 ou 0,72%). O farelo de soja foi capaz de liberar 3,2 g de fósforo disponível quando utilizado a porcentagem de cinzas no dedo médio das aves como parâmetro de avaliação.

Já Leske e Coon (1999) determinaram que a disponibilidade do fósforo em frangos de corte de 1 a 5 dias de idade foi melhorada em 36% com o uso do farelo de trigo e 115% com o uso do farelo de soja, quando adicionado fitase (600 FTU/ kg de ração) à dietas semi-purificadas com baixos níveis de fósforo total, resultados superiores que os encontrados no presente trabalho.

6 CONCLUSÕES

Nas condições do presente trabalho e de acordo com os resultados obtidos, conclui-se que:

1. A fitase mostrou ser eficiente na redução do fósforo excretado pelas aves ao ambiente, porém não melhorou o desempenho, nem diminuiu o peso total de excreta eliminado pelas aves durante o período de 21 dias.
2. Os valores da biodisponibilidade relativa do fósforo, calculados com base em peso de cinzas na tíbia em função dos níveis de fósforo suplementar ingerido, variaram entre as fontes de fósforo testadas, com e sem a adição de fitase microbiana.
3. O peso de cinzas na tíbia mostrou ser o indicador mais sensível para o cálculo da biodisponibilidade relativa do fósforo, baseado nos valores de r^2 obtidos.
4. Os valores de biodisponibilidade relativa do fósforo sem ou com adição de fitase, com base no peso de cinzas na tíbia das aves, foram de 74,4 e 79,4% para o farelo de trigo, 56,9 e 93,5% para a soja integral extrusada e de 56,5 e 100% para a soja integral extrusada, respectivamente. O maior valor de biodisponibilidade relativa do fósforo sem e com a adição de fitase foi atribuído ao farelo de trigo (74,4%) e a soja integral extrusada (100%), respectivamente.
5. A adição de fitase não se mostrou eficaz na liberação do fósforo fítico da molécula de fitato do farelo de trigo, o que pode ser explicado pela presença de fitase endógena natural no ingrediente.
6. O processo de extrusão mostrou ser mais eficiente que o processo de tostagem na liberação do fósforo fítico, melhorando a biodisponibilidade relativa do fósforo média na ausência de fitase

REFERÊNCIAS

AHMAD, T.; RASOOL, S.; SARWAR, M.; HAQ, A.; ZIA-UL, H. Effect of microbial phytase produced from fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 83, p. 103-114, 2000.

ALONSO, R.; ORÚE, E.; MARZO, F. Effects of extrusion and conventional processing methods on protein and antinutritional factor contents in pea seeds. **Food Chemistry**, v. 63, n. 4, p. 505-512, 1998.

AMMERMAN, C. B.; DOUGLAS, C. R.; DAVIS, G. K.; HARMS, R. H. Comparision of phosphorus availability assay techniques for chicks. **Poultry Science**, v. 40, p. 548-553, 1961.

AMMERMAN, C. B.; BAKER, D. H.; LEWIS, A. J. **Bioavailability of nutrients for animal**: amino acids, mineral and vitamins. San Diego: Academic Press, 1995. 441 p.

ANGEL, R.; APPLGATE, T.J.; ELLESTAD, L.E.; DHANDU, S. Phytic acid chemistry: how important is it for phosphorus digestibility in poultry? In: MULTI-STATE POULTRY MEETING, 2003, West Lafayette. p. 1-23.

ANZAI, N. H. **Avaliação biológica da disponibilidade do fósforo para frangos de corte em fosfatos de cálcio puros e comerciais e em fosfatos de sódio**. 1998. 83 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

A.O.A.C.- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTIS. **Official methods of analysis**. 11 ed. Washington, D.C., 1980. 1051 p.

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

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

BIEHL, R. R.; BAKER, D. H. Microbial phytase improves amino acid utilization in young chicks fed diets based on soybean meal, but not in diets based on peanut meal. **Poultry Science**, v. 76, p. 355-360, 1997.

BILLINGTON, D. C. **The inositol phosphates**: chemical synthesis and biological significance. Weinheim, Verlag Chemie: 1993.

BITAR, K.; REINHOLD, J. G. Phytase and alkaline phosphatase activities in intestinal mucosae of rat, chicken, calf and human. **Biochemistry and Biophysics**, acta 268, p. 442-452, 1972.

BOLING, S. D.; WEBEL, D. M.; MAVROMICHALIS, I.; PARSONS, C. M.; BAKER, D. H. The effects of citric acid on phytate-phosphorus utilization in young chicks and pigs. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 682-689, 2000.

BORGES, F. M. O. Utilização de enzimas em dietas avícolas. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, n. 20, p. 5-30, 1997.

BRINCH-PEDERSEN, H.; OLESEN, A.; RASMUSSEN, S. K.; HOLM, P. B. Generation of transgenic wheat (*Triticum aestivum*) for constitutive accumulation of an *Aspergillus* phytase. **Molecular Breeding**, v. 6, p. 195-206, 2000.

BROZ, J.; OLDALE, P.; PERRIN-VOLTZ, A. H.; RYCHEN, G.; SCHULZE, J.; NUNES, C. S. Effect of supplemental phytase on performance and phosphorus utilization in broiler chickens fed a low phosphorus diet without addition of inorganic phosphates. **British Poultry Science**, v. 35, p. 273-280, 1994.

BURKHOLDER, J. A.; GLASGOW JR., H. B. *Pfiesteria piscidia* and other pfiesteria-dinoflagellates behaviors, impacts, and environmental controls. **Limnology and Oceanography**, v. 42, n. 5, p. 1052-1075, 1997.

CAFÉ, M. B.; SAKOMURA, N. K.; JUNQUEIRA, O. M.; CARVALHO, M. R. B. Determinação do valor nutricional das sojas integrais processadas para aves. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, n. 1, p. 1516-1535, 2000.

CARLSON, D.; POULSEN, H. D. Phytate degradation in soaked and fermented liquid feed-effect of diet, time of soaking, heat treatment, phytase activity, pH and temperature. **Animal Feed Science and Technology**, v. 103, p. 141-154, 2003.

CARMOVALE, E.; LUGARO, E.; LOMBARDI-BOCCIA, G. Phytic Acid in faba bean and pea: effect on protein availability. **Cereal Chemistry**, v. 65, n. 2, p. 114-117, 1988.

CASEY, A.; WALSH, G. Purification and characterization of extracellular phytase from *Aspergillus niger* ATCC 9142. **Bioresource Technology**, v. 86, p. 183-188, 2003.

COFFEY, R. D.; MOONEY, K. W.; CROMWELL, G. L.; AARON, D. K. Biological availability of phosphorus in defluorinated phosphates with different phosphorus solubilities in neutral ammonium citrate for chicks and pigs. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2653-2660, 1994.

COSGROVE, D. J. The chemistry and biochemistry of inositol polyphosphates. **Reviews in Pure & Applied Chemistry**, v. 16, p. 209-224, 1966.

CROMWELL, G. L.; COFFEY, R. D. Phosphorus – a key essential nutrient, yet a possible major pollutant – its central role in animal nutrition. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 1991, Editora Comercial, 1991, p. 133-145.

COUSINS, B. Enzimas na nutrição de aves. I Simpósio Internacional ACAV – embrapa sobre Nutrição de Aves, Concórdia – SC, 1999 p. 118-130.

DESHPANDE, S. S.; CHERYAN, M. Effects of phytate, divalent cations and their implications on alpha-amylase activity. **Journal of Food Science**, v. 49, p. 516-519, 1984

DENBOW, D.M.; RAVINDRAN, V.; KONERDAY, E.T.; YI, Z.; HULET, R.M. Improving phosphorus availability in soybean meal for broilers by supplemental phytase. **Poultry Science**, v. 74, p. 1831-1842, 1995.

DENBOW, D. M.; GRABAU, E. A.; LACY, G. H.; KONERDAY, E. T.; RUSSEL, D. R.; UMBECK, P. F. Soybeans transformed with a fungal phytase gene improve phosphorus availability for broilers. **Poultry Science**, v. 77, p. 878-881, 1998.

DVORAKOVA, J.; VOLFOVA, O.; KOPECKY, J. Characterization of phytase produced by *Aspergillus niger*. **Folia Microbiologica**, v. 42, n. 4, p. 349-352, 1997.

EDWARDS JR, H.M.; CARLOS, A.B.; KASIM, A.B.; TOLEDO, R.T. Effects os steam pelleting and extrusion of feed on phytate phosphorus utilization in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 78, p. 96-101, 1999.

EGOUNLETY, M.; AWORH, O.C. Effect of soaking, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Harms). **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 249-254, 2003.

ENGELLEN, A. T.; VAN DER HEEFT, F. C.; RANDSDORP, P. H. G.; SMIT, E. L. C. Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal AOAC International**, v. 77, p. 760-764, 1994.

ERENER, G.; OCAK, N.; OZTURK, E.; OZDAS, A. Effect of different choice feeding methods based on whole wheat on performance of male broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 106, p. 131-138, 2003.

FERNANDES, J. I. M.; LIMA, F. R.; MENDONÇA JR., C. X.; MABE, I.; ALBUQUERQUE, R.; LEAL, P. M. Relative bioavailability of phosphorus in feed and agricultural phosphates for poultry. **Poultry Science**, v. 78, p. 1729-1736, 1999.

FLAIG, E. G.; REDDY, K. R. Fate of phosphorus in the Lake Okeechobee watershed, Florida, USA: overview and recommendations. **Ecological Engineering**, v. 5, n. 2, p. 127-142, 1995.

FRITZ, J. G.; ROBERTS, T.; BOEHNE, J. W.; HOVE, E. L. Factors affecting the chicks requirements of phosphorus. **Poultry Science**, v. 48, p. 307-320, 1968.

GARCIA-ESTEPA, R. M.; GUERRA-HERNÁNDEZ, E.; GARCIA-VILLANOVA, B. Phytic acid content in milled cereal products and breads. **Food Research International**, v. 32, p. 217-221, 1999.

GARGOVA, S.; SARIYSKA, M. Effect of culture conditions on the biosynthesis of *aspergillus niger* phytase and acid phosphatase. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 32, p. 231-235, 2003.

GARZILLO, J. M. F. **Parâmetros biológicos usados na avaliação da biodisponibilidade do fósforo para frangos de corte em fosfatos comerciais e em fosfatos de rocha**. 1996. 120 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

GBUREK, W. J.; SHARPLEY, A. N. Hydrologic controls on phosphorus loss from upland agricultural watersheds. **Journal of Environmental Quality**, v. 27, p. 267-277, 1998.

GILLIS, M. B.; EDWARDS JR., H. M.; YOUNG, R. J. Studies on the availability of calcium orthophosphates to chicken and turkeys. **Journal of Nutrition**, v. 78, p. 155-161, 1962

GOMES, P. C.; GOMES, M. F. M.; LIMA, G. J. M. M. Exigência de fósforo e sua disponibilidade nos fosfatos monoamônio e monocálcico para frangos de corte até 21 dias de idade. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 22, n. 5, p. 755-763, 1993.

GOVINDASAMY, R.; COCHRAN, M. J. Implications of alternative environmental policies on phosphorus loading from poultry litter. **Agricultural Economics**, v. 13, p. 137-148, 1995.

GRIFFITH, M.; SCHEXNAILDER, R. The relation of dietary particle size to phosphorus availability in purified diets. **Poultry Science**, v. 49, p. 1271-1274, 1970.

GUYTON, A. C. **Tratado de fisiologia médica**. 4. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 1035 p.

HALL, L. E.; SHIRLEY, R. B.; BAKALLI, R. I.; AGGREY, S. E.; PESTI, G. M.; EDWARDS JR., H. M. Power of two methods for the estimation of bone ash of broilers. **Poultry Science**, v. 82, p. 414-418, 2003.

HARLAND, B. F.; MORRIS, E. R. Phytate: a good or a bad food component? **Nutrition Research**, v. 15, n. 5, p. 733-754, 1995.

HARLAND, B. F.; NARULA, G. Food phytate and its hydrolysis products. **Nutrition Research**, v. 19, p. 947-961, 1999.

HEATHWAITE, L.; SHARPLEY, A. Evaluating measures to control the impact of agricultural phosphorus on water quality. **Water Science and Technology**, v. 39, n. 12, p. 149-155, 1999.

IHNAT, M.; FERNANDES, L. Trace elemental characterization of composted poultry manure. **Bioresource Technology**, v. 57, p. 143-156, 1996.

JOHNSTON, S. L.; SOUTHERN, L. L. The effect of varying mix uniformity (simulated) of phytase on growth performance, mineral retention, and bone mineralization in chicks. **Poultry Science**, v. 79, p. 1485-1490, 2000.

JONGBLOED, A. W.; OHMANN, A.; VAN DIEPEN, J. T. M.; VAN DER KLIS, J. D.; KNAP, L. H.; VERSTEEGH, H. A. J. Comparison of pigs and broilers in their response to microbial phytase. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 1, p.185, 1997.

KERSEY, J. H.; SALEH, E. A.; STILBORN, H. I. Effect of dietary phosphorus level, high available phosphorus corn, and microbial phytase on performance and fecal phosphorus content. **Poultry Science**, 77:71 (suppl.1) (abstract), 1998.

KIES, A. K.; VAN HEMERT, K. H. F.; SAUER, W. C. Effect of Phytase on protein and amino acid digestibility and energy utilization. **World's Poultry Science Journal**, v. 57, p. 109-126, 2001.

KOCH, M. E.; MAHAN, D. C.; CORLEY, J. R. An evaluation of various biological characteristics in assessing low phosphorus intake in weaning swine. **Journal of Animal Science**, v. 59, n. 6, p. 1546-1556, 1984.

KNUCKLES, B. L. Effect of phytate and other myoinositol phosphate esters on lipase activity. **Journal of Food Science**, v. 50, p. 250-252, 1988.

KONERGAY, E. T.; DENBOW, D. M.; YI, Z.; RAVINDRAN, V. Response of broilers to graded levels of microbial Phytase added to maize-soybean-meal-based diets containing three levels of non-phytate phosphorus. **British Journal of Nutrition**, v. 75, p. 839-852, 1996.

KONERGAY, E. T. **Nutrient management of food animals to enhance and protect the environment**. 1.ed. Danvers: CRC Press LLC, 1996. p. 279.

LEESON, S.; NAMKUNG, H.; COTTRILL, M.; FORSBERG, C. W. Efficacy of new bacterial phytase in poultry diets. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 80, p. 527-528, 2000.

LEHNINGER, A. L. **Princípios da Bioquímica**. São Paulo: Sarvie, 1994. p. 37.

LESKE, K. L.; COON, C. N. A bioassay to determine the effect of phytase on phytate phosphorus hydrolis and total phosphorus retention of feed ingredients as detrmined with broilers and laying hens. **Poultry Science**, v. 78, p. 1151-1157, 1999.

LESKE, K.; COON, C. The development of feedstuff retainable phosphorus values for broilers. **Poultry Science**, v. 81, p. 1681-1693, 2002.

LIBAL, G. W.; PEO, E. R.; ANDREWS, R. P. Levels of calcium and phosphorus for growing- finishing swine. **Journal of Animal Science**, v. 28, n. 1, p. 331-335, 1969.

LIMA, F. R. **Parâmetros ósseos de desempenho em frangos de corte usados como critério de avaliação da disponibilidade biológica em fosfatos bicálcicos**. 1994. 153 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

LIMA, F. R.; MENDONÇA JR., C. X.; ALVAREZ, J. C.; RATTI, G.; LENHARO, S. L. R.; KAHN, H.; GARZILLO, J. M. F. Chemical and physical evaluations of commercial dicalcium phosphates as sources of P in animal nutrition. **Poultry Science**, v. 74, p. 1659-1670, 1995.

LIMA, F. R.; FERNANDES, J. I. M.; OLIVEIRA, E.; FRONZAGLIA, G. C.; KAHN, H. Laboratory evaluations of feed-grade and agricultural-grade phosphates. **Poultry Science**, v. 78, p. 1717-1728, 1999.

LOPES, H.O.S.; PEREIRA, E.A. Fontes alternativas de fosfato na suplementação alimentar de animais. In: ENCONTRO NACIONAL DE ROCHA FOSFÁTICA, 2. ed. 1986, Brasília. IBRAFÓS, 1986. p. 435-450.

MABE, I. **Biodisponibilidade de fósforo para poedeiras em fosfato de cálcio puro, fosfatos bicálcicos comerciais e fosfatos de rocha**. 1997. 153 f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

MAENZ, D. D.; CLASSEN, H. L. Phytase activity in the small intestinal brush border membrane of the chicken. **Poultry Science**, v. 77, p. 557-563, 1998.

MATUSZAK, D. L.; SANDERS, M.; TAYLOR, J. L.; WASSERMAN, M. P. Toxic phytosteria and human health. **Maryland Medical Journal**, v. 46, p. 515-520, 1997.

MAYNARD, L. A.; LOOSLY, J. K.; HINTZ, H. F. **Nutrição animal**. 3 ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1984. 736 p.

MAYRLEITNER, M.; SCHAFER, R.; FLEISCHER, S. IP₃ receptor purified from liver plasma membrane is a (1,4,5)IP₃ activated and (1,3,4,5)IP₄ inhibited calcium permeable ion channel. **Cell Calc.**, v. 17, p. 141-153, 1995.

MCGILLIVRAY, J. J. Calcium and phosphorus. **Animal nutrition & health**. San Francisco, 1980. Separata.

MCKNIGHT, W. F. A review of the use of natuphos in broiler, layer and turkey diets. In: MINNESOTA NUTRITION CONFERENCE, 1997. p. 66-76.

MEGIDO, J. L. T.; XAVIER, C. **Marketing & agribusiness**. São Paulo: Atlas, 1998. p. 334.

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

MUNARO, F. A.; LÓPEZ, J.; TEIXEIRA, A. S.; RUTZZ, F. Aumento da disponibilidade do fósforo fítico pela adição de fitase a rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 25, n. 5, p. 921-931, 1996.

MURRAY, R. K.; GRANER, D.K.; MAYNES, P. A.; RODWELL, V.W. **Bioquímica**. São Paulo: Atheneu, 1990. 705 p.

NAHAS, J.; LEFRANÇOIS, M.R. Effects of feeding locally grown whole barley with or without enzyme addition and whole wheat on broiler performance and carcass traits. **Poultry Science**, v. 80, p. 195-202, 2001.

NAHM, K. H. Efficient feed nutrient utilization to reduce pollutants in poultry and swine manure. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 32, p. 1-16, 2002.

NAHMKUNG, H.; LEESON, S. Effect of phytase enzyme on dietary nitrogen-corrected apparent metabolizable energy and ileal digestibility of nitrogen and amino acids in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 78, p. 1317-1319, 1999.

NELSON, T. S.; KIRBY, L. K.; JOHNSON, Z. B. The relative biological value of feed phosphates for chick. **Poultry Science**, v. 69, p. 113-118, 1990.

NELSON, T. S.; SHIEH, T. R.; WODZINSKI, R. J.; WARE, J. H. The availability of phytate phosphorus in soybean meal before and after treatment with mold Phytase. **Poultry Science**, v. 47, p. 1842-1848, 1968.

NICHOLSON, F. A.; CHAMBERS, B. J.; SMITH, K. A. Nutrient composition of poultry manure in England and Wales. **Bioresource Technology**, v. 58, p. 279-284, 1996.

NRC-NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirement of poultry**. 9 ed. Washington: National Academy of Sciences, 1994. 156 p.

PABLOS, J. B. **Consideraciones sobre el uso de la soya integral en la alimentacion de las aves**. Soya (ASA), México, n. 61, p. 1-4, 1986.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; MITCHELL, D. A. New developments in solid state fermentation. I – bioprocess and products. **Process Biochemistry**, v. 35, p. 1153-1169, 2000.

PANDEY, A.; SZAKACS, G.; SOCCOL, C. R.; RODRIGUEZ-LEON, J. A.; SOCCOL, V. T. Production, purification and properties of microbial phytases. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 203-214, 2001.

PATWARDHAN, V. N. The occurrence of phytin splitting enzyme in the intestine of albino rats. **Biochemistry Journal**, v. 31, p. 560-564, 1937.

PEELER, H. T. Biological availability of nutrient in feeds: Availability of major mineral ions. **Poultry Science**, v. 35, p. 695-712, 1972.

PERNEY, K. M.; CANTOR, A. H.; STRAW, M. L.; HERKELMAN, K. L. The effect of dietary phytase on growth performance and phosphorus utilization of broiler chicks. **Poultry Science**, v. 72, p.2106-2114, 1993.

PETER, C. M.; BAKER, D. H. Microbial phytase does not improve protein-amino acid utilization in soybean meal fed to young chickens. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 1792-1797, 2001.

PIZZOLANTE, C. C. **Estabilidade da fitase e sua utilização na alimentação de frangos de corte**. 2000. 117 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

POTTER, L. M. Bioavailability of phosphorus from various phosphates based on body weight and toe ash measurements. **Poultry Science**, v. 67, p. 96-102, 1988.

PUNNA, S.; ROLAND, D. A. Variation in phytate phosphorus utilization within the same broiler strain. **Journal Applied in Poultry Research**, v. 8, p. 10-15, 1999.

PUNNA, S.; ROLAND, D. A. Influence of dietary phytase supplementation on incidence and severity in broilers divergently selected for tibial dyschondroplasia. **Poultry Science**, v. 80, p. 735-740, 2001.

QIAN, H.; VEIT, H. P.; KONERGAY, E. T.; RAVINDRAN, V.; DENBOW, D. M. Effects of supplemental phytase and phosphorus on histological and other tibial bone characteristics and performances of broilers fed semi-purified diets. **Poultry Science**, v. 75, p. 618-626, 1996.

RAISZ, L. G. Physiology and Pathophysiology of bone remodeling. **Clinical Chemistry**, v. 45, n. 8B, p. 1353-1358, 1999.

RAMA-RAO, S. V.; REDDY, V. R.; REDDY, V. R. Enhancement of phytate phosphorus availability in the diets of commercial broilers and layers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 79, p. 211- 222, 1999.

RAPOPORT, S.; LEVA, E.; GUEST, G. M. Phytase in plasma and erythrocytes of vertebrates. **Journal of Biology and Chemistry**, v. 139, p. 621-632, 1941.

RAST, W.; THORNTON, J. A. Trends in eutrophication research and control. **Hydrological Processes**, v. 10, p. 295-314, 1996

RAVINDRAN, V.; CABAUG, S.; RAVINDRAN, G.; BRYDEN, W. L. Influence of microbial Phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. **Poultry Science**, v. 78, p. 699-706, 1999.

RAVINDRAN, V.; SELLE, P. H.; RAVINDRAN, G.; MOREL, P. C. H.; KIES, A. K.; BRYDEN, W. L. Influence of supplemental microbial phytase on the performance apparent metabolizable energy and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. **Poultry Science**, v. 80, p. 338-344, 2001.

RODRIGUES, P. B; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; GOMES, P. C.; NUNES, R. V.; TOLEDO, R. S. Valores energéticos da soja e subprodutos da soja determinados com frangos de corte e galos adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 4, p. 1771-1782, 2002.

ROSTAGNO, H. S.; BARBARINO JR., P.; BARBOSA, W. Exigências nutricionais das aves determinadas no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE AVES E SUÍNOS, 1996, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1996. p. 361-388.

ROSTAGNO, H. S.; SAKOMURA, N. K.; GOMES, P. C. Exigência nutricional de fósforo e sua disponibilidade em fosfato de rocha e fosfato parcialmente defluorinado para pintos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 17, n. 3, p. 249-257, 1988.

RUNHO, R. C.; GOMES, P. C.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; LOPES, P. S.; POZZA, P. C. Exigência de fósforo disponível para frangos de corte machos e fêmeas de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 1, p. 187-196, 2001.

RYDING, S. O.; RAST, W. The control of eutrophication of lakes and reservoirs. **Parthenon Publishing Group**, p. 314, 1989.

SAKOMURA, N. K.; SILVA, R.; LAURENTZ, A. C.; MALHEIROS, E. B.; NAKATJI, L. S. O. Avaliação da soja integral tostada ou extrusada sobre o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 3, p. 584-594, 1998.

SANDBERG, A. S.; CARLSSON, N. G.; SVANBERG, U. Effects of inositol tri-, tetra-, penta- hexaphosphates on in vitro estimation of iron availability. **Journal of Food Science**, v. 54, p. 159-186, 1989.

SANDS, J. S.; RAGLAND, D.; WILCOX, J. R.; ADEOLA, O. Relative bioavailability of phosphorus in low-phytate soybean meal for broiler chicks. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 83, n. 1, p. 95-100, 2003.

SAS Institute. **SAS/STAT** (user's guide: statistics. Realease 6.04 Edition.) Cary, N.C., 1990.

SCHONER, F. J.; HOPPE, P. P.; SCHWARZ, G.; WIESCHE, H. Comparison of microbial phytase and inorganic phosphate in male chickens – the influence on performance data, mineral retention and dietary calcium. **Journal of Animal Physiology and Nutrition**, v. 69, p. 235-244, 1993.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R.; LAGUE, P. C. The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper, and zinc in broiler chickens fed corn-soybean diets. **Poultry Science**, v. 75, p. 729-736, 1996a.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R.; LAGUE, P. C. Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 75, p. 1516-1523, 1996b.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R.; LAGUE, P. C. Apparent digestibility of protein and amino acids in broiler chickens fed a corn-soybean diet supplemented with microbial Phytase. **Poultry Science**, v. 76, p. 1760-1769, 1997.

SELLE, P. H. The potential of microbial phytase the sustainable production of pigs and poultry. In: KOREAN SOCIETY OF ANIMAL NUTRITION AND FEEDSTUFFS. 7th Short Course and Feed Technology. Korea, Ansong, 1997, p. 124.

SHARPLEY, A. N.; CHAPRA, S. C.; WEDEPOHL, R.; SIMS, J. T.; DANIEL, T. C.; REDDY, K. R. Managing agricultural phosphorus for protection of surface waters: issues and options. **Journal of Environmental Quality**, v. 23, p. 437-451, 1994.

SHEVE, R. N.; BRINK JR., J. A. Phosphorus Industries. In: _____. **Chemical process industries**. 4. ed. Tokio: McGraw Hill, 1977. cap. 16, p. 244-265.

SHIRLEY, R. B.; EDWARDS JR., H. M. Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. **Poultry Science**, v. 82, p. 671-680, 2003.

SIMONS, P. C. M.; VERTEEKGH, H. A. J.; JONGBLOED, A. W.; KEMME, P. A.; SLUMP, P.; BOS, K. D.; WOLTERS, M. G. E.; BEUDEKER, R.F.; VERSCHOOR, G.J. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 64, p. 525-540, 1990.

SINGH, M.; KRIKORIAN, A. D. Inhibition of trypsin activity in vitro by phytate. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 30, p. 799-800, 1982.

SISTANI, K. R.; BRINK, G. E.; MCGOWEN, S. L.; ROWE, D. E.; OLDHAM, J. L. Characterization of broiler cake and broiler litter, the by-products of two management practices. **Bioresource Technology**, v. 90, p. 27-32, 2003.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. 2. ed. Ames: Iowa State University, 1967.

SOHAIL, S. S.; ROLAND, D. A. Influence of supplemental phytase on performance of broilers four to six of age. **Poultry Science**, v. 78, p. 550-555, 1999.

SPITZER, R.S.; PHILLIPS, P.H. Phytase and alkaline phosphatase activities in intestinal mucosas of rat, chicken, calf and man. **Biochemistry and Biophysics**, acta 268, p. 442-452, 1972.

SULLIVAN, T. W.; DOUGLAS, J. H. Phosphorus bioassay: developments in five decades. In: NUTRITION FOR THE NINETIES, 1990, Mundellein, Pitman-Moore. **Proceedings...** p. 18-37.

SULLIVAN, T. W.; DOUGLAS, J. H.; GONZALES, N. J.; BOND JR., P. L. Correlation of biological value of feed phosphates with their solubility in water, dilute hydrogen chloride, dilute citric acid, and neutral ammonium citrate. **Poultry Science**, v. 71, p. 2065-2074, 1992.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 488.

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

THOMPSON, L. U.; YOON, J. H. Starch digestibility as affected by polyphenols and phytic acid. **Journal of Food Science**, v. 49, p. 1228-1229, 1984.

TOOR, G. S.; BAHL, G. S. Effect of solitary and integrated use of poultry manure and fertilizer phosphorus on the dynamics of P availability in different soils. **Bioresource Technology**, v. 62, p. 25-28, 1997.

TOOR, G. S.; BAHL, G. S. Kinetics of phosphate desorption from different soil as influenced by application of poultry manure and fertilizer phosphorus and its uptake by soybean. **Bioresource Technology**, v. 69, p. 117-121, 1999.

TURK, M.; CARLSSON, N. G.; SANDBERG, A. S. Reduction in the levels of phytate during wholemeal bread making; effect of yeast and wheat phytases. **Journal of Cereal Science**, v. 23, p. 257-264, 1996.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3. ed. Wallingford: Cabi, 1999. p. 105-148.

VIVEROS, A.; CENTENO, C.; BRENES, A.; CANALES, R.; LOZANO, A. Phytase and acid phosphatase activities in plant feedstuffs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 4009-4013, 2000.

VIVEROS, A.; BRENES, A.; ARIJA, I.; CENTENO, C. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, v. 81, p. 1172-1183, 2002.

VOHRA, A.; SATYANARAYANA, T. Phytases: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 23, n. 1, p. 29-60, 2003.

XU, P.; PRICE, J.; AGGETT, P. J. Recent advances in methodology for analysis of phytate and inositol phosphates in food. **Program Food Nutrition Science**, v. 16, p. 245-262, 1992.

WALDROUP, P. W. Nutricional aproaches to reducing phosphorus excretion by poultry. **Poultry Science**, v. 78, p. 683-691, 1999.

WALDROUP, P. W. Phosphorus in broiler nutrition. In: SYMPOSIUM ON FEED PHOSPHATES IN MONOGASTRIC NUTRITION, Texas, 1989, Anais.

WALDROUP, P. W. Whole soybeans for poultry feeds. **Journal of Poultry Science**, v. 38, n. 1, p. 28-35, 1982.

WALDROUP, P. W.; AMMERMAN, C. B.; HARMAS, R. H. A comparison of phosphorus asssay techniques with chicks. **Poultry Science**, v. 44, p. 1086-1089, 1965.

WALDROUP, P. W.; KERSEY, J. H.; SALEH, E. A.; FRITTS, C. A.; YAN, F.; STILBORN, H. L.; CRUM JR., R. C.; RABOY, V. Nonphytate phosphorus requirement and phosphorus excretion of broiler chicks fed diets composed of normal or high available phosphate corn with and without microbial phytase. **Poultry Science**, v. 79, p. 1451-1459, 2000.

WATZKE, H. J. Impact of processing on bioavailability examples of mineral foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 9, p. 320-327, 1998.

WILLIAMS, P. E. V. Animal production and european pollution problems. **Animal Feed Science and Technology**, v. 53, p. 135-144, 1995.

WYATT, C. L.; HARKER, A. Application of feed enzymes to commercial wheat and barley based poultry feeds. 1995. In: CALIFORNIA NUTRITION CONFERENCE, 1995, Davis, EUA. **Proceedings...** University of California, p. 203-211.

WYSS, M.; PASAMONTES, L.; REMY, R.; KOHLER, J.; KUSZNIR, E.; GADIENT, M.; MULLER, F.; VAN LOON, A. P. G. M. Comparision of thermostability properties of three acid phosphatases from molds: *Aspergillus fumigatus* phytase, *A. niger* phytase and *A. niger* pH 2,5 acid phosphatase. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 4446-4451, 1998.

WYSS, M.; BRUGGER, R.; KROENBERGER, A.; REMY, R.; FIMBEL, R.; OSTERHELT, G.; LEHMANN, M.; VAN LOON, A. P. G. M. Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 2, p. 367-373, 1999.

YAN, F.; KERSEY, J. H.; WALDROUP, P. W. Phosphorus requirements of broiler chicks three to six weeks of age as influenced by phytase supplementation. **Poultry Science**, v. 80, p. 455-459, 2001.

YI, Z.; KONERGAY, E. T.; RAVINDRAN, V.; DENBOW, D. M. Improving phytase phosphorus availability in corn and soybean meal for broiler using microbial phytase and calculating of phosphorus equivalency values for phytase. **Poultry Science**, v. 75, p. 240-249, 1996.

ZHANG, Z.; KONERGAY, E. T.; RADCLIFFE, J. S.; DENBOW, D. M.; VEIT, H. P.; LARSEN, C. T. Comparison of genetically engineered microbial and plant phytase for young broilers. **Poultry Science**, v. 79, p. 709-717, 2000a.

ZHANG, Z.; MARQUARDT, R. R.; GUENTER, W.; CHENG, J.; HAN, Z. Prediction of the effect of enzymes on chick performance when added to cereal-based diets: use of a modified log-linear model. **Poultry Science**, v. 79, p. 1757-1766, 2000b.

ZYLA, K.; KORELESKI, J.; SWIATKIEWICZ, S.; LEDOUX, D. R.; PIIRONEN, J. Influence of supplemental enzymes on the performance and phosphorus excretion of broilers fed wheat-based diets to 6 weeks of age. **Animal Feed Science and Technology**, v. 89, p. 113-118, 2001.

ZYLA, K.; WIKIERA, A.; KORELESKI, J.; SWIATKIEWICZ, S.; PIIRONEN, J.; LEDOUX, D. R. Comparison of efficacies of a novel *Aspergillus niger* mycelium with separate and combined effectiveness of phytase, acid phosphatase, and pectinase in dephosphorylation of wheat-based feeds fed to growing broilers. **Poultry Science**, v. 79, p. 1434-1443, 2000.

ZYTA, K.; GOGOL, D. In vitro efficacies of phosphorolytic enzymes synthesized in mycelial cells of *Aspergillus niger* AbZ4 grown by a liquid surface fermentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 4, p. 899-905, 2002.