

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Eficiência de uma fitase bacteriana na liberação de fósforo fítico em dietas de frangos de corte

Rafaela Pereira

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

**Piracicaba
2010**

Rafaela Pereira
Zootecnista

Eficiência de uma fitase bacteriana na liberação de fósforo fítico em dietas de frangos de corte

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ FERNANDO MACHADO MENTEN**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba
2010

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Pereira, Rafaela

Eficiência de uma fitase bacteriana na liberação de fósforo fítico em dietas de frangos de corte / Rafaela Pereira. - - Piracicaba, 2010.
57 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.
Bibliografia.

1. Dieta animal 2. Fósforo 3. Frangos de corte 4. Método analítico quantitativo I. Título

CDD 636.513
P436e

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Dedico

*Aos meus pais Aroldo e Dirlene que são o alicerce de todas as minhas conquistas,
Aos meus irmãos Rafael e Michel, pelo carinho, apoio e amizade.*

Ofereço

A Deus que ilumina sempre o meu caminho, permitindo que eu atinja todos os meus objetivos.

Homenageio

*Meus amados avós Samuel (in memorian) e José (in memorian),
Dalva e Antônia, por todo amor, orações e incentivo.*

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Universidade de São Paulo e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso.

Ao CNPq, pela bolsa de estudos concedida durante o curso de mestrado.

Ao Prof. Dr. José Fernando Machado Menten, pela excelente orientação e amizade.

Ao Prof. Dr. Valdomiro Shigueru Myiada, por todos ensinamentos.

À empresa AMMCO PHARMA pelo apoio financeiro.

Ao Nei André Arruda Barbosa por toda colaboração durante o período experimental.

Ao professor Bianchi pelos ensinamentos e auxílio com a língua inglesa.

Àos amigos da pós graduação, Ana Beatriz Traldi, Camila Leão, Carla de Andrade, Cynthia Siqueira, Julieta Santarosa, Kelen Zavarize, Leonardo de Freitas, Maicon Sbardella, Michele Bernardino, Mohamed Salem e Vivian de Almeida.

À Gislaine Goretti, Carolina Bresne e Juliana Rezende pela ajuda no experimento e análises.

Aos funcionários do Setor de Avicultura, Alexandre, Filó, Chico, Carlão, Gaúcho, Gilberto e Paulinho pelo auxílio na condução dos experimentos.

Às minhas companheiras de república Aline Miranda, Beatriz Meduri, Camila Leão, Mariana Gallo por todo convívio.

Aos funcionários e colegas do Departamento de Zootecnia de não ruminantes, José Henrique Rocha, Célia Ferraz e Bruna Alves por toda amizade durante o curso.

“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo de vencer”.

Mahatma Gandhi

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE TABELAS	17
1 INTRODUÇÃO.....	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1 Fósforo.....	21
2.1.1 Funções.....	21
2.1.2 Absorção.....	21
2.2 Molécula de fitato.....	22
2.3 Fatores que afetam a utilização de fósforo fítico.....	23
2.4 Enzima fitase	24
2.4.1 Características.....	24
2.4.2 Fontes	25
2.4.3 Benefícios nutricionais	26
2.5 Quantificar a eficácia de fitase in vivo.....	27
2.6 Excreção de P no ambiente.....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Aves, instalações e manejo.....	29
3.2 Dietas experimentais	30
3.3 Desempenho e Características ósseas.....	33
3.4 Análise Estatística	34

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5 CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS.....	43
APÊNDICES	49

RESUMO

Eficiência de uma fitase de origem bacteriana na liberação de fósforo fítico em dietas de frangos de corte

A utilização da enzima fitase nas dietas de não ruminantes permite a quebra da molécula de ácido fítico presente em ingredientes de origem vegetal e disponibilização do fósforo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de uma fitase bacteriana na liberação de fósforo fítico utilizando curvas de calibração para características ósseas e de desempenho em frangos de corte, e comparar os critérios de resposta quanto a adequação para estimativa da liberação de fósforo, assim como a viabilidade econômica da inclusão da fitase em dietas de frangos de corte. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com 6 tratamentos e 6 repetições no período de 1 a 28 dias de idade. O tratamento controle consistiu de dieta à base de milho e farelo de soja deficiente em fósforo disponível (0,20% e 0,15% de P disponível para as fases de 1 a 21 e 22 a 28 dias, respectivamente). Dois tratamentos corresponderam às dietas basais acrescidas de fósforo inorgânico nos níveis de 0,05% e 0,10%, e os outros três a dieta basal com a inclusão de 66, 99 e 131 FTU/kg de ração. A curva padrão foi construída através do efeito de três níveis de P suplementar consumido sobre variáveis de desempenho e características ósseas. Em seguida, os resultados obtidos com inclusão de fitase foram confrontados com a curva padrão para o cálculo de P liberado pela fitase. O desempenho dos frangos de corte foi prejudicado em função da deficiência em P na dieta. Os níveis crescentes de P suplementar influenciaram as variáveis ganho de peso, peso vivo e consumo de ração de forma quadrática, e de forma linear a variável miligramas de cinzas ósseas. A resposta linear é a que melhor descreve a curva padrão, dessa forma, a equação da variável mg de cinzas ósseas foi utilizada para construção da curva. As inclusões de 66, 99 e 131 FTU/kg liberaram, respectivamente, 0,048%, 0,049% e 0,062% de P em dieta à base de milho e farelo de soja. Este estudo demonstra a eficiência da fitase bacteriana em liberar fósforo fítico em dietas com baixos níveis de P, e o benefício econômico da utilização da enzima em dietas de frangos de corte.

Palavras-chave: Cinzas ósseas, Curva de calibração; Fósforo disponível; Frangos de corte

ABSTRACT

Efficiency of a bacterial phytase to release to release phytate phosphorus in broiler chicken diets

Use of the enzyme phytase in the diets of nonruminants allows the hydrolysis of the molecule of phytic acid present in ingredients of plant origin, increasing phosphorus availability. The objective of this study was to determine the efficiency of a bacterial phytase to release phytate phosphorus using calibration curves for performance and bone characteristics in broiler chickens, and compare the response criteria for adequacy for estimating the release of phosphorus, as well the economic viability of inclusion of phytase in broiler chickens diets. A completely randomized design with 6 treatments and 6 replicates was used in an experiment with chickens from 1 to 28 days of age. The control treatment was a diet based on corn and soybean meal deficient in availability phosphorus (0,20% and 0,15% available P in the 1 – 21 and 21 – 28 days periods, respectively). Two treatments consisted of the basal diet supplemented with inorganic phosphorus, and the other three treatments received 66, 99 and 131 FTU/kg of feed. The standard curves represented the effect of three levels of additional P intake on performance and bone variables. Then, the responses of the phytase treatments were compared to the standard curves to calculate the P released by phytase. Performance was negatively affected by the P-deficient diets. The increasing levels of supplemental P had quadratic effect on weight gain, live weight and feed intake, and linear effect on mg of bone ash. The linear response is the one that better represents the standard curve, thus the equation of bone ash was elected to estimate the P released. Inclusion of 66, 99 and 131 FTU/kg released 0.048%, 0.049% and 0.062% P from the corn-soy diet. This study demonstrates the efficiency of the bacterial phytase to release phosphorus at low levels of inclusion, which may be of economical significance in diets broiler chickens.

Keywords: Bone ash; Standard curve; Available phosphorus; Broiler chickens

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Interação fitato mineral, fitato-aminoácido	23
Figura 2 - Curva padrão: Ganho de peso em função do consumo de P suplementar	38
Figura 3 - Curva padrão: mg de cinzas ósseas em função do consumo de P suplementar.	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Médias semanais de temperaturas e umidade relativa registradas durante o período experimental	29
Tabela 2 - Composição percentual e calculada da dieta basal (DB) e das dietas com P inorgânico na fase de crescimento (1-21 dias).....	31
Tabela 3 - Composição percentual e calculada da dieta basal (DB) e das dietas com P inorgânico na fase de crescimento (22-28 dias).....	32
Tabela 4 - Desempenho dos frangos de corte de acordo com os tratamentos no período de 1 a 28 dias de idade.....	35
Tabela 5 - Características ósseas dos frangos de corte de acordo com os tratamentos no período de 1 a 28 dias de idade.....	36
Tabela 6 - P liberado de uma dieta a base de milho e farelo de soja utilizando a equação linear mg de cinzas ósseas em função do consumo de P suplementar	36
Tabela 7 - Respostas linear e quadrática obtidas com níveis crescentes de consumo de P suplementar.....	37
Tabela 8 - Média de cinzas ósseas, consumo de P suplementar, consumo de ração e P liberado de acordo com os níveis de fitase adicionados	39

1 INTRODUÇÃO

A avicultura tem grande importância para a economia brasileira, com produção de aproximadamente 5 milhões de postos de trabalho diretos e indiretos no país. Do total de 10,98 milhões de toneladas de carne de frango produzida, 7,297 milhões de toneladas foram destinadas ao consumo interno, de acordo com Relatório Anual da União Brasileira de Avicultura (UBABEF, 2009). Com esses números verifica-se a importância do mercado interno para rentabilidade do setor, sendo estimado um consumo *per capita* de 37,8 kg de carne de frango/ano.

Com a produtividade da indústria avícola brasileira é necessário cada vez mais pesquisas com intuito de obter a melhor forma de utilização de nutrientes pelos animais, sendo assim possível a redução de excreções no ambiente de nutrientes como o fósforo, bem como reduções de custo das rações. Uma das maneiras de diminuir a perda de nutrientes é a inclusão de enzimas exógenas nas dietas.

Os ingredientes de origem vegetal utilizados na formulação de ração para aves, como o milho e o farelo de soja, possuem grande parte do fósforo indisponível, pois é constituinte da molécula de fitato. O fósforo fítico não é aproveitado, pois as aves não sintetizam a enzima fitase, sendo necessária a adição de maiores quantidades de fósforo inorgânico na dieta para atender às exigências do animal em fósforo. Dessa forma, há um aumento de fósforo nas excretas das aves tanto pela perda de fósforo fítico complexado a molécula de fitato, quanto pelo fósforo não aproveitado na forma inorgânica. Existem diversas fontes de fitase utilizadas nas indústrias de rações. A inclusão de fitase na dieta de frangos de corte aumenta a disponibilidade e aproveitamento do fósforo fítico assim como a digestibilidade dos alimentos.

Estudos indicam maior eficácia de liberação de fósforo fítico pela fitase de origem bacteriana em relação à de origem fúngica, uma vez que as características necessárias para ótima atividade da enzima bacteriana (*Escherichia coli*) são compatíveis com as características presentes no trato gastrointestinal das aves.

Há muitos trabalhos que mostram a capacidade da fitase de aumentar a digestibilidade do fósforo da dieta e consequentemente o desempenho das aves, no

entanto, são poucos os estudos que efetivamente quantificam o fósforo liberado de ingredientes vegetais pela fitase.

A biodisponibilidade de fósforo pode ser quantificada por ensaios de digestibilidade ou a metodologia da curva padrão, entretanto a curva padrão é de fácil execução e mais utilizada.

Objetivos gerais

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de uma fitase de origem bacteriana na liberação de fósforo fítico de uma dieta baseada em milho e farelo de soja para frangos de corte, usando-se curvas de calibração para variáveis de desempenho e características ósseas, e comparar os critérios de resposta quanto a adequação para estimativa da liberação de fósforo, assim como a viabilidade econômica da inclusão da fitase em dietas de frangos de corte.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fósforo

2.1.1 Funções

O fósforo (P) é um macro-mineral essencial para todos animais. Este nutriente é necessário para várias funções do organismo, fundamental para manutenção e reparo de todos os tecidos, indispensável, juntamente com o cálcio e outros minerais, para o adequado crescimento e mineralização de tecidos ósseos assim como desenvolvimento muscular. O consumo de P em níveis adequados é propício para o balanço de minerais essenciais, para o controle do apetite e eficiência alimentar. Aproximadamente 80% do fósforo do organismo animal ocorre como constituinte dos ossos. Os 20% restantes estão em vários compostos orgânicos, que desempenham funções no metabolismo (transferência de energia - ATP, creatinina, enzimas), em ácidos nucleicos (DNA e RNA), e fósfolípidos de membranas celulares. O fosfato inorgânico participa no tampão de pH dos fluidos biológicos (FRANCE et al; 2010). O fósforo também tem importante função no transporte de gorduras e a síntese de aminoácidos e proteínas (RUNHO et al., 2001).

O mineral é indicado como o terceiro nutriente mais caro em uma ração, ficando atrás somente da energia e da proteína. Este também está entre os minerais mais exigidos pelas aves, devido a sua necessidade, não apenas para ótima taxa de crescimento, mas também para a mineralização óssea (LAURENTIZ et al., 2007).

2.1.2 Absorção

O fósforo dietético é absorvido na forma de fosfato pelo intestino delgado. Os mecanismos envolvidos na absorção de P são pouco conhecidos. No entanto, a absorção parece ocorrer ao longo do intestino delgado, sendo o duodeno o principal local de absorção, provavelmente devido ao seu pH capaz de aumentar a solubilidade e, com isso, a absorção do mineral. As evidências revelam que a absorção de P parece envolver um transporte ativo com gasto de energia, sendo esse processo estimulado pela presença de vitamina D e dependente de Na (transporte ativo secundário), à semelhança do que ocorre com o cálcio (Ca). A relação cálcio e fósforo da dieta parece ter bastante influência sobre a absorção desse mineral. Como ocorre com o Ca, os níveis sanguíneos de P também são

controlados pelos hormônios calcitonina e PTH, através de sua relação com a forma ativa de vitamina D. Assim, sob condições fisiológicas, o PTH estimula a absorção de P, enquanto a calcitonina, ao se contrapor à ação do PTH, diminui sua absorção intestinal e sua mobilização óssea e estimula a excreção renal (MAIORKA; MACARI, 2002). Os minerais constituintes dos ossos estão na forma de cristais de hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)(\text{OH})_2$, e a proporção de Ca e P é de 2:1.

2.2 Molécula de fitato

Os fitatos representam uma classe complexa de compostos de ocorrência natural formados durante o processo de maturação de sementes e grãos (MAGA, 1982; TORRE et al., 1991). A concentração de fitato nas plantas modifica-se de acordo com o estágio de maturidade, grau de processamento, cultivares, fatores climáticos, locais e anos durante os quais foram cultivadas (REDDY et al; 1982; MANANGI; COON, 2006).

O fitato é o complexo de sais de ácido fítico (mio-inositol hexafosfato - IP_6), com os minerais potássio, magnésio e cálcio, enquanto que o ácido fítico é a forma livre de IP_6 (SELLE; RAVINDRAN, 2007). Em grãos, subprodutos de grãos e oleaginosas, cerca de 60 a 75% do fósforo está organicamente complexado a forma de fitato (LOLAS et al; 1976). A molécula de ácido fítico contém aproximadamente 28,2% de fósforo e sua propriedade antinutricional está além do não aproveitamento do fósforo. Este ácido é um potente agente quelante de nutrientes como, por exemplo, proteínas, aminoácidos, amido e cátions (Figura 1) de modo que a solubilidade e a digestibilidade são drasticamente reduzidas pela formação de complexos insolúveis (TEJEDOR et al., 2001). Vohra et al. (1965), usando curvas de titulação para monitorar ácido livre em presença de cátion simples, relatou que o fitato forma complexos com cátions na ordem decrescente de força: $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Ca}^{2+}$.

Segundo Zyla (2000), alguns destes compostos intermediários de mioinositol fosfato desempenham importante papel no metabolismo de cálcio, pois participam da sua absorção do ambiente externo para dentro das células.

Lima et al. (2007), em uma revisão, mostram que a redução da digestibilidade protéica pode ser explicada pela formação de complexos entre o ácido fítico e as proteínas da dieta, ou ainda se complexar com enzimas proteolíticas (tripsina e pepsina), inibindo

suas atividades. Na digestão de lipídeos totais da digesta, o complexo cálcio-fitado pode reagir com ácidos graxos formando sabões insolúveis no lúmen intestinal. Na digestão de carboidratos, liga-se diretamente ao amido ou inibe a ação da amilase, contudo essa ação ainda é pouco discutida entre estudiosos da área.

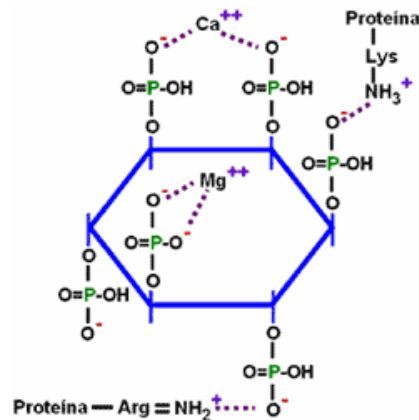


Figura 1 - Interação fitato mineral, fitato-aminoácido (FERNÁNDEZ, 2007)

2.3 Fatores que afetam a utilização de fósforo fítico

A disponibilidade de fósforo em ingredientes vegetais variam de zero (Nelson, 1976) até mais de 50% (EDWARDS, 1983). Singh (2008) em uma revisão, mostra que a eficiência de utilização do fósforo fítico em dietas de aves é afetada por diversos fatores, dentre eles:

- Genótipo: Existem consideráveis diferenças na capacidade de utilizar fósforo fítico por diferentes linhagens de aves (SEBASTIAN et al; 1998).
- Idade: A utilização de fósforo fítico aumenta com a idade, uma vez que ocorre aumento da atividade da fitase no trato gastrointestinal (EDWARDS et al; 1989).
- Níveis de cálcio e fósforo na dieta: Os níveis de cálcio e fósforo na ração para frangos influenciam a utilização do fósforo fítico (EDWARDS JR.; VELTMANN, 1983). Aves consumindo rações com baixos níveis de fósforo e cálcio inorgânicos apresentam maior capacidade para hidrolisar o fitato do que aquelas que recebem níveis altos (DENBOW et al., 1995). A relação cálcio:fósforo influencia a atividade da fitase, que é reduzida com a elevação do nível de cálcio da ração (QIAN et al., 1997).

- Vitamina D₃: A utilização de fósforo fítico pode ser reduzida por dietas deficientes em vitamina D₃. Vários estudos indicam que a vitamina D₃ e o metabólito 1,25(OH)₂D₃ aumentam a utilização do fósforo fítico até 68% em aves (MOHAMMED et al; 1991; EDWARDS, 1993).

- Conteúdo de fibra na dieta: Wise et al. (1983) mostram que a fibra dietética pode modificar a disponibilidade de cálcio, não somente pela fermentação da fibra e redução da capacidade ligante de cálcio, mas também por afetar a hidrólise de fitato.

- Tipo de ingrediente: A fonte de fitato pode influenciar a disponibilidade do fósforo fítico.

2.4 Enzima fitase

2.4.1 Características

Alguns alimentos apresentam alta atividade endógena da fitase, tais como o centeio, o triticale, o trigo e a cevada. Alimentos como o milho, a aveia, o sorgo e as oleaginosas apresentam baixa ou nenhuma atividade desta enzima (SEBASTIAN et al., 1998).

As enzimas fitases são originadas de vários organismos, como fungos, bactérias, leveduras e plantas, e são diferenciadas pela sequência em que elas iniciam a desfosforilação da molécula de ácido fítico (ULLAH; SETHUMADHAVAN, 2003).

A fitase (mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase) é uma enzima pertencente ao grupo das fosfatases histidina ácida que hidrolisam o fitato a inositol e fosfato inorgânico. As fitases são classificadas em duas categorias de enzimas, de acordo com o local onde é iniciada a hidrólise da molécula de fitato: mio-inositol hexafosfato 3-fosfohidrolase (3-fitase) e mio-inositol hexafosfato 6-fosfohidrolase (6-fitase ou 6-fosfohidrolase) (VOHRA; SATYANARYANA, 2003). A 6-fitase desfosforila completamente o ácido fítico, no entanto, a 3-fitase não hidroliza o fosfato monoéster (WODZINKI; ULLAH, 1996).

Para avaliar a atividade de fitase não existe uma unidade padronizada, esse fato tem causado confusões na indústria de rações e na eficiência de comparações de diferentes fontes de fitases. A unidade de medida depende das condições do ensaio, como

concentração de substrato utilizado (fitato de sódio), temperatura e pH. A fitase de *Aspergillus niger* introduzida em 1991, foi definida como unidade de fitase (FTU), em que um FTU é a quantidade de enzima que libera 1 μmol de ortofosfato inorgânico/ minuto de 0,0051 mol L⁻¹ de fitato de sódio, pH de 5,5 e temperatura de 37°C (ENGELEN et al; 1994).

A atividade da enzima é influenciada por diversos fatores, entre eles o substrato ou matérias primas vegetais utilizadas nas formulações de rações e níveis de cálcio e fósforo inorgânico da dieta (BALLAM et al., 1984).

2.4.2 Fontes

Existem diversas fitases microbianas disponíveis no mercado. As três fitases mais utilizadas em dietas de aves são derivadas da *A. niger*, que é 3-fitase, e *Peniophora lycii* e *Escherichia coli* que são 6-fitases (SELLE; RAVINDRAN, 2007).

Augspurger e Ugalde (2009), em uma recente revisão, indicam que as fitases devem ser capazes de atuar eficientemente no trato gastrointestinal (TGI) superior – no proventrículo e moela em aves, e no estômago em suínos, isto é, em meio ácido, mantendo a molécula em estado solúvel. Quando a digesta se move para o intestino delgado (pH 6-7), a molécula de ácido fítico se liga a minerais como o cálcio e o zinco e forma precipitados insolúveis. Assim, há uma inibição da ligação da enzima fitase à molécula de ácido fítico, impedindo a desfosforilação. Portanto, para uma atividade ótima da fitase, ela deve atuar em meio ácido do TGI e também ser resistente a proteólise.

A fitase derivada da cepa *E. coli*, isolada do cólon de suíno e produzida em uma levedura *Pichia pastoris* possui atividade ótima de pH de 2,5 a 4,0 comparada à fitase de *P. lycii* de pH 4,5 e a fitase do *A. niger* de pH bimodal 2,5 e 5,5. O pH observado no proventrículo e moela das aves varia de 2 a 4, portanto, a relativa atividade da fitase derivada da *E. coli* é muito maior que as fitases comercialmente disponíveis derivadas de *A. niger* ou *P. lycii*. As fitases derivadas da *E. coli* são mais resistentes à degradação proteolítica da pepsina comparada a outras fitases. Essa maior estabilidade à ação proteolítica pode explicar os resultados encontrados por Adeola et al. (2004) que

observaram que fitases de *E. coli* apresentam maior valor de equivalência de fósforo, isto é, conseguem liberar maior quantidade de fósforo em relação à fitase fúngica.

2.4.3 Benefícios nutricionais

Há vários estudos que indicam que a suplementação da fitase microbiana aumenta o ganho de peso, consumo de ração e eficiência alimentar em frangos de corte (DENBOW et al; 1995; MITCHEL; EDWARDS, 1996; SINGH et al; 2003). Um aumento no desempenho de frangos de corte, devido a suplementação de fitase, foi relatado por Karim (2006); Pillai et al. (2006); Selle et al. (2007). A melhoria no desempenho observado em frangos de corte pode ser devido ao aumento do consumo de ração e eficiência alimentar, potencialmente causada pelo fósforo liberado do complexo fitato-mineral (SEBASTIAN et al; 1996).

Lim et al. (2000) avaliou a suplementação da fitase microbiana (500 unidades de fitase/kg) em uma dieta à base de milho e farelo de soja para frangos de corte, com os níveis de 0,25, 0,35 e 0,45% fósforo disponível. Houve efeito benéfico da fitase no desempenho somente quando esta foi utilizada em baixos níveis de fósforo disponível.

No trabalho de Surek et al. (2008), foi mostrado que dietas de frangos de corte suplementadas com fitase, com redução de 10,5% de Ca e 22% de P, resultam em desempenho similar a dietas basais sem redução de minerais.

Em estudos de Silva et al. (2008), foram avaliados diferentes níveis de fósforo disponível em dietas de poedeiras comerciais com inclusões de fitase. A adição de fitase (300 UF) aumentou os níveis plasmáticos de fósforo, os teores de cinzas na tíbia e a resistência óssea das aves.

Laurentiz et al. (2007), avaliando adição de fitase (500 FTU/kg de ração) em dietas de frangos de corte com baixos níveis de P disponível, concluiu que, na fase de crescimento, a redução de Pd de 0,41% para 0,17% prejudicou a conversão alimentar e o índice de eficiência de produtividade, entretanto, na fase final, a redução do nível de Pd de 0,38% para 0,14% determinou o desempenho e as características ósseas semelhantes ao tratamento controle.

Da mesma forma Paik (2003), em estudos com frangos de corte alimentados com dietas com reduzidos níveis de P disponível (0,35% na fase inicial e 0,25% na fase de crescimento) verificou que o ganho de peso é reduzido devido a deficiência mineral, no entanto, quando a mesma dieta é suplementada com enzima fitase (500 FTU/kg de ração) o desempenho não é prejudicado.

Na fase de crescimento, a adição de 750 unidades de fitase microbiana por kg de ração pode substituir 0,08% de fósforo inorgânico, em uma dieta a base de milho ou trigo para frangos de corte (PENG et al; 2003).

2.5 Quantificar a eficácia de fitase in vivo

A utilização de fitase em dietas de não ruminantes requer o conhecimento de quanto fósforo pode ser liberado, ou substituído, por uma quantidade de fitase conhecida. A eficácia de liberação de P da fitase pode ser quantitativamente mensurada através de experimentos utilizando digestibilidade ou a metodologia da curva padrão. Cada metodologia, quando corretamente executada, pode ser usada para quantificar o fósforo liberado por uma quantidade conhecida de fitase de um determinado ingrediente.

A disponibilidade de P utilizando a metodologia da curva padrão é avaliada através do efeito de níveis de P inorgânico adicionados em uma dieta basal deficiente em P, em variáveis de desempenho e características ósseas. O resultado são curvas de regressão (curva padrão), sendo que a equação escolhida deve ser aquela que melhor descreve a resposta dos parâmetros avaliados. Portanto, através da curva padrão é possível estimar o valor de fósforo disponível liberado por diferentes concentrações de fitase.

Em frangos de corte, os melhores critérios para determinação da biodisponibilidade de fósforo são ganho de peso e cinzas ósseas, consideradas variáveis mais sensíveis à análises de disponibilidade de fósforo (POTTER, 1988). Em geral a taxa de crescimento e o conteúdo de cinzas ósseas são mais utilizadas devido à simplicidade da técnica (SULLIVAN; DOUGLAS 1990).

Augspurger e Ugalde (2009) enfatizam que a tíbia é o osso de escolha em aves para determinação de cinzas ósseas, porque ela pode ser quantitativamente removida e facilmente limpa de tecido aderido.

2.6 Excreção de P no ambiente

Devido à reduzida disponibilidade do P nos alimentos de origem vegetal, os nutricionistas têm suplementado as dietas com P inorgânico para satisfazer as exigências do animal, no entanto grande parte deste P é eliminado na excreta.

Excessiva concentração de P é uma das causas mais comuns de eutrofização de rios, lagos e reservatórios (CORRELL, 1999). A superfície do solo com acúmulo de P acelera a eutrofização, que pode prejudicar algas e peixes; dessa forma, a redução na excreção de P por aves e suínos produz benefícios tanto para o meio ambiente quanto para produção sustentável (SHARPLEY, 1999 apud SELLE; RAVINDRAN, 2007).

De acordo com Pizzolante (2000), somente nos EUA são excretados cerca de 320 mil toneladas de P por ano. As excretas de frangos de corte possuem 1,8% de P, 11% de K e 1% de N na matéria seca (NICHOLSON; CHAMBERS; SMITH, 1996).

O acentuado aumento na demanda de fertilizantes fosfatados, combinado com a limitada oferta de ácido sulfúrico, que é necessário para produção de fosfato, tem aumentado significativamente o preço dos mesmos. Por isso, reduzir ou eliminar as necessidades de suplementação de fosfato inorgânico através da máxima utilização de fitase pode trazer benefícios econômicos e ambientais na produção de aves e suínos. Além disso, a extensa utilização de fosfatos em dietas, fontes não renováveis, podem proporcionar crise de fontes de suplementação de fósforo no futuro.

Diversos estudos (SIMONS et al; 1990; ZYLA et al; 2000) apontam significativa redução na excreção de fósforo pelas aves, entre 45 a 60%, quando se utiliza dietas suplementadas com fitases. Juanpere; Pérez-Vendrell e Brufau (2004) verificaram aumento no coeficiente de retenção de fósforo em ossos e redução do mineral na excreta em até 45 % em animais suplementados com fitase em dietas com baixa concentração de fósforo inorgânico. Da mesma forma, Augspurger et al. (2009) relatou redução na excreção de P em 69% utilizando uma dieta desprovida de fósforo inorgânico suplementada com fitase.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Aves, instalações e manejo

O trabalho foi conduzido no Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, em Piracicaba – SP. As aves foram alojadas em um aviário experimental, que possui 32 metros de comprimento por 8 metros de largura e 3 metros de pé-direito. Sua orientação é Noroeste-Sudeste, é coberto com telhas de barro, seu piso é revestido de concreto, contém duas muretas laterais de alvenaria com 60 centímetros de altura, completamente telado e equipado com cortinas laterais. Em seu interior existe um forro de plástico e uma sobrecortina interna. O aviário é dividido em duas fileiras de 18 boxes cada, totalizando 36 boxes, sendo que as fileiras são separadas por um corredor de 2 m de largura. Cada box possui área de 4,5 m² e uma porta de acesso ao corredor.

O período experimental foi de 1 a 28 dias, utilizando pintinhos machos de um dia de idade da linhagem Cobb 500. Os boxes foram equipados com bebedouros infantil e adulto pendular e comedouros infantil e adulto tubular com capacidades respectivamente para 4 e 35 kg de ração. Foi utilizada uma camada de 10 cm de casca de arroz como material de cama, e folhas de eucatex na forma de círculo, para manutenção do ambiente adequado ao desenvolvimento dos pintinhos. Durante o período experimental, foram registradas diariamente as temperaturas mínima, máxima e UR, sendo esta registrada no período da manhã, tarde e noite. As medidas foram estabelecidas por médias semanais (Tabela 1).

Tabela 1 - Médias semanais de temperaturas e umidade relativa registradas durante o período experimental

Semanas	Temperatura Máxima (°C)	Temperatura Mínima (°C)	Umidade Relativa (%)
1°	33,43	26,71	70,20
2°	31,14	24,0	73,43
3°	29,57	24,71	79,18
4°	28,00	24,29	76,79

3.2 Dietas experimentais

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente aleatorizado com 6 tratamentos e 6 repetições, sendo 40 aves por unidade experimental, totalizando 1440 aves. As dietas experimentais foram à base de milho e farelo de soja, conforme níveis nutricionais recomendados por Rostagno et al. (2005), com exceção do fósforo disponível, contendo diferentes níveis de fósforo inorgânico (Pi) na forma de fosfato bicálcico, e dietas com inclusões de fitase. O tratamento controle consistiu de dieta deficiente em fósforo disponível (0,20% e 0,15% de P) disponível para as fases de 1 a 21 e 22 a 28 dias respectivamente. Foram utilizados mais cinco tratamentos, sendo dois correspondendo à dieta controle acrescida de fósforo inorgânico nos níveis de 0,05% e 0,10% de P suplementar (Tabelas 2 e 3), e os outros três à dieta controle com inclusão de 66, 99 e 131 FTU/kg de ração. Os tratamentos experimentais foram:

- Dieta Basal (DB): 0% de P suplementar
- 0,05% de P suplementar
- 0,10% de P suplementar
- DB + 66 FTU/kg de ração
- DB + 99 FTU/kg de ração
- DB + 131 FTU/kg de ração

A fitase utilizada foi de 2000 FTU/g, e os níveis de inclusões foram 30, 45 e 60 g de fitase por tonelada de ração, que correspondem a 60, 90 e 120 FTU/kg de ração. No entanto através da análise laboratorial da enzima, foram obtidos os níveis de 66, 99 e 131 FTU/kg de ração. A fitase utilizada foi 6- fitase, de origem bacteriana (*E. coli*) expressa na levedura *P. pastoris*.

As variáveis de desempenho e características ósseas foram usados para a construção da curva-padrão em função dos níveis de consumo de P suplementar e, a seguir, os resultados das variáveis dos tratamentos com adição de fitase foram confrontados com a curva-padrão para serem calculados os valores de fósforo liberado. O consumo de P suplementar corresponde ao consumo de ração (g) × % de P suplementar na dieta /100.

Tabela 2 - Composição percentual e calculada da dieta basal (DB) e das dietas com P inorgânico na fase inicial (1-21 dias)

Ingredientes	DB (0,20% Pd)	DB + 0,05% Pi	DB + 0,10% Pi
Milho	52,30	52,08	51,86
Farelo de soja	40,10	40,14	40,18
Óleo de soja	4,01	4,09	4,16
Calcário calcítico	1,82	1,66	1,50
Fosfato bicálcico	0,38	0,65	0,91
Sal Comum	0,51	0,51	0,51
DL-Metionina	0,29	0,29	0,29
L-Lisina HCl	0,19	0,18	0,18
L-Treonina	0,06	0,06	0,06
Suplemento vitamínico ¹	0,10	0,10	0,10
Suplemento mineral ²	0,10	0,10	0,10
Agente Anticoccidiano ³	0,05	0,05	0,05
Cloreto de Colina (60%)	0,08	0,08	0,08
Total	100,00	100,00	100,00
Composição Calculada			
EM (kal/kg)	3050	3050	3050
Proteína Bruta (%)	23,01	23,01	23,01
Lisina dig. (%)	1,27	1,28	1,28
Met.+cist. dig. (%)	0,90	0,91	0,91
Metionina dig.(%)	0,60	0,60	0,60
Treonina dig. (%)	0,82	0,83	0,83
Ca (%)	0,90	0,90	0,90
Pd (%)	0,20	0,25	0,30
K (%)	0,88	0,88	0,81
Na (%)	0,22	0,22	0,22

¹Vit. A - 7.000.000,000 U.I.; Vit. D3 - 2.200.000,000 U.I.; Vit. E - 11.000,000 mg; Vit. K - 31.600,000 mg; Vit. B1 - 2.000,000 mg; Vit. B2 - 5.000,000 mg; Vit B6 - 3.000,000 mg; Vit B12 - 12.000,000 mcg; Niacina (B3) - 35.000,000 mg; Ácido pantotênico (B5) - 13.000,000 mg; Ácido fólico - 800,000 mg; Antioxidante - 100.000,000 mg; Veículo q.s.p. - 1.000,000 mg.

² Cobre - 8.000,000 mg; Ferro - 50.000,000 mg; Manganês - 70.000,000 mg; Zinco - 50.000,00 mg; Iodo - 1.200,000 mg; Selênio - 200,000 mg; Veículo q.s.p. - 1.000,000 g

³ Monensina sódica 10%

Tabela 3 - Composição percentual e calculada da dieta basal (DB) e das dietas com P inorgânico na fase de crescimento (22-28 dias)

Ingredientes	DB (0,15% Pd)	DB + 0,05% Pi	DB + 0,10% Pi
Milho	59,53	59,31	59,08
Farelo de soja	33,04	33,08	33,12
Óleo de soja	4,24	4,31	4,39
Calcário calcítico	1,81	1,65	1,49
Fosfato bicálcico	0,17	0,44	0,70
Sal Comum	0,48	0,48	0,48
DL-Metionina	0,23	0,23	0,23
L-Lisina HCl	0,170	0,17	0,17
L-Treonina	0,04	0,04	0,04
Suplemento vitamínico ¹	0,09	0,09	0,09
Suplemento mineral ²	0,10	0,10	0,10
Agente Anticoccidiano ³	0,05	0,05	0,05
Cloreto de Colina (60%)	0,06	0,06	0,06
Total	100,00	100,00	100,00
Composição Calculada			
EM (kal/kg)	3150	3150	3150
Proteína Bruta (%)	20,32	20,32	20,32
Lisina dig. (%)	1,10	1,10	1,10
Met.+cist. dig. (%)	0,79	0,79	0,79
Metionina dig.(%)	0,51	0,51	0,51
Treonina dig. (%)	0,71	0,71	0,71
Ca (%)	0,83	0,83	0,83
Pd (%)	0,15	0,20	0,25
K (%)	0,77	0,77	0,77
Na (%)	0,21	0,21	0,21

¹Vit. A - 7.000.000,000 U.I.; Vit. D3 - 2.200.000,000 U.I.; Vit. E - 11.000,000 mg; Vit. K - 31.600,000 mg; Vit. B1 - 2.000,000 mg; Vit. B2 - 5.000,000 mg; Vit B6 - 3.000,000 mg; Vit B12 - 12.000,000 mcg; Niacina (B3) - 35.000,000 mg; Ácido pantotênico (B5) - 13.000,000 mg; Ácido fólico - 800,000 mg; Antioxidante - 100.000,000 mg; Veículo q.s.p. - 1.000,000 mg.

² Cobre - 8.000,000 mg; Ferro - 50.000,000 mg; Manganês - 70.000,000 mg; Zinco - 50.000,00 mg; Iodo - 1.200,000 mg; Selênio - 200,000 mg; Veículo q.s.p. - 1.000,000 g

³ Monensina Sódica 10%

3.3 Desempenho e Características ósseas

Aos 21 e 28 dias de idade, foram obtidos os dados de peso vivo (PV), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA).

Aos 28 dias foram selecionadas 5 aves de cada boxe com o peso aproximado à média de peso das aves da unidade experimental, para o abate e coleta de pernas para posteriores análises de cinzas ósseas, índice de Seedor e resistência óssea. As pernas retiradas foram devidamente identificadas e separadas em direitas e esquerdas. Inicialmente, as pernas foram cozidas em água fervente durante 20 minutos para facilitar a separação da tíbia e limpeza dos ossos. As tíbias direitas em número de cinco de cada unidade experimental foram utilizadas para análise de cinzas ósseas, e as correspondentes tíbias esquerdas para análise de índice de Seedor e resistência óssea.

Para determinação de cinzas ósseas as tíbias foram desengorduradas em um extrator Soxlet por aproximadamente 8 horas, utilizando éter etílico. Em seguida, foi determinada a matéria seca dos ossos em estufa a 105°C, e posteriormente cinzas ósseas, em mufla a 600°C, conforme a metodologia descrita por Silva (2004).

O índice de Seedor, que é o valor obtido ao se dividir o peso do osso por seu comprimento, conforme proposto por Seedor (1993), serve como indicativo da densidade óssea. Quanto maior o valor, mais denso é o osso. Este índice não possui unidade. Para análise de índice de Seedor os ossos não foram desengordurados. Os ossos foram medidos, em seu maior comprimento (mm), com um paquímetro digital e foram pesados (mg) com uma balança semi-analítica digital.

As análises de resistência óssea foram realizadas no Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, campus de Botucatu. Os ossos utilizados para esse estudo foram os mesmos utilizados para análise de índice de Seedor. Para a realização das mesmas, foi utilizado o aparelho Texturômetro, TA.XT plus Texture analyser. O aparelho foi regulado para permitir velocidade de teste de 2 mm/segundo e vão livre da diáfise de 3 cm. Este valor foi o espaçamento máximo conseguido para o menor osso encontrado, sendo desta forma fixado para os demais ossos do estudo. Um programa computacional registrou a força necessária para que ocorresse a quebra total do

osso. Após a realização da análise de cada tíbia foi emitido e registrado o valor da força máxima em quilograma força (kgf) necessária para o rompimento de cada osso.

Análise econômica da fitase

A análise econômica da utilização de fitase nas dietas de frangos de corte foi realizada considerando o custo de mercado do fosfato bicálcico e da fitase bacteriana referente ao mês de novembro de 2010.

3.4 Análise Estatística

Os resultados das variáveis de desempenho (PF, CR, GP e CA) e características ósseas (índice de Seedor, resistência óssea, cinzas ósseas em % e mg) foram submetidos à análise da variância pelo PROC GLM do SAS para cálculo das médias e coeficiente de variação (CV). Em seguida, os resultados de todas as variáveis analisadas correspondentes aos três tratamentos com % P suplementar (cálculo em relação ao consumo de P suplementar) foram submetidos à análise da variância pelo PROC GLM do SAS e, quando a análise de variância foi significativa ($P < 0,05$), realizou-se a análise de regressão polinomial através dos polinômios ortogonais pelo PROC REG DO SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 2006).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho os animais foram alimentados com dietas deficientes em fósforo disponível. Assim, o desempenho dos frangos de corte foi inferior a lote de animais com consumo de P em quantidades que atendam às exigências do animal (Tabela 4). Os animais que consumiram somente a dieta controle (Pd inferior a 50% das exigências do mineral) apresentaram mortalidade elevada. Desta forma, para evitar perda excessiva de animais, o período experimental planejado de 1 a 42 dias foi reduzido para 1 a 28 dias de idade. Pelos mesmos motivos, deficiência mineral e mortalidade, houve desuniformidade dentro das unidades experimentais, esse fato pode justificar os altos coeficientes de variação obtidos nas variáveis de desempenho.

Os níveis crescentes de consumo de P suplementar influenciaram as variáveis de desempenho GP, PV, e CR, que aumentaram de forma quadrática. Não houve efeito dos diferentes níveis de consumo de P suplementar nas características ósseas índice de Seedor, resistência óssea e percentagem de cinzas ósseas na tíbia de frangos de corte (Tabela 5). Os valores de miligramas de cinzas ósseas tiveram um efeito linear, apresentando-se maiores com o aumento do consumo de P suplementar (Tabela 6).

Tabela 4 - Desempenho dos frangos de corte de acordo com os tratamentos no período de 1 a 28 dias de idade

% de P suplementar	Consumo de P suplementar (g)	Desempenho			
		PF(g) ¹	GP(g) ¹	CR(g) ¹	CA
0	0	867	812	1159	1,44
0,05	0,772	1210	1167	1544	1,32
0,10	1,945	1498	1456	1945	1,34
0 + 66 FTU/kg	-	1089	1044	1421	1,35
0 + 99 FTU/kg	-	1177	1131	1523	1,35
0 + 131 FTU/kg	-	1224	1178	1569	1,33
CV		4,65	4,90	4,79	4,12

¹Resposta quadrática obtida com os três níveis crescentes de consumo de P suplementar (p<0,05)

Tabela 5 - Características ósseas dos frangos de corte de acordo com os tratamentos no período de 1 a 28 dias de idade

% de P suplementar	Índice de Seedor	Resistência Óssea (kgf)	Cinzas ósseas % ¹
0	80,6	14,65	42,2
0,05	87,1	16,74	41,4
0,10	88,1	17,51	48,2
0 + 66 FTU/kg	81,5	15,61	43,3
0 + 99 FTU/kg	83,7	16,26	44,2
0 + 131 FTU/kg	86,3	17,04	43,1
CV	6,24	16,08	5,97

¹ Cinzas ósseas em base a matéria seca desengordurada

Tabela 6 - P liberado de uma dieta a base de milho e farelo de soja utilizando a equação linear mg de cinzas ósseas em função do consumo de P suplementar

% de P suplementar	Consumo de P suplementar	Cinzas ósseas (mg) ^{1,2}	% de P liberado
0	0	830	-
0,05	0,772	1050	-
0,10	1,945	1450	-
0 + 66 FTU/kg	-	1040	0,048
0 + 99 FTU/kg	-	1060	0,049
0 + 131 FTU/kg	-	1130	0,062
CV	-	14,59	-

¹ Cinzas ósseas em base a matéria seca desengordurada

² Resposta linear obtida com os três níveis crescentes de consumo de P suplementar ($p < 0,05$), $y = 316,24x + 824$

As variáveis de desempenho PF, GP e CR não foram os melhores parâmetros para se estimar o fósforo liberado da molécula de fitato, uma vez que apresentaram efeito quadrático. A resposta linear é a que melhor descreve a curva padrão, já que a cada aumento no eixo das abscissas corresponde um aumento no eixo das ordenadas, conseqüentemente as estimativas de fósforo liberado pela fitase são mais confiáveis. Portanto, a variável miligramas de cinzas ósseas na tíbia foi o melhor parâmetro obtido para se avaliar disponibilidade do P, devido a seu comportamento linear, além disso apresentou um coeficiente de determinação (R^2) razoável, indicativo de um bom ajuste dos dados na curva (Tabela 7). Embora o coeficiente de determinação (R^2) da equação

quadrática para a variável GP tenha sido maior que da equação linear com mg de cinzas ósseas (Tabela 7), este não foi o fator determinante para a escolha da equação para construção da curva padrão. O valor de R^2 é dependente do intervalo de variabilidade na variável analisada (MONTGOMERY; PECK; VINING, 2006).

Tabela 7 - Respostas linear e quadrática obtidas com níveis crescentes de consumo de P suplementar

Desempenho			
	Probabilidade	Equação	R^2
Ganho de peso	0,0012	$-109,46x^2 + 544,29x + 812,05$	0,97
Consumo de ração	0,0087	$-79,60x^2 + 559,34x + 1159,27$	0,98
Peso vivo	0,0016	$-102,29x^2 + 524x + 866,88$	0,97
Conversão alimentar	NS	-	-
Características ósseas			
Índice de Seedor	NS	-	-
Resistência óssea	NS	-	-
% de cinzas ósseas	NS	-	-
mg de cinzas ósseas	<0,0001	$316,24x + 824$	0,85

NS = Não significativo a 5% de probabilidade

Utilizando-se a equação quadrática da variável ganho de peso (GP) em função do consumo de P suplementar para construção da curva padrão, as estimativas de fósforo liberado pela fitase nas inclusões de 66, 99 e 131 FTU/kg de ração são respectivamente 0,033, 0,044 e 0,050% P (Figura 2).

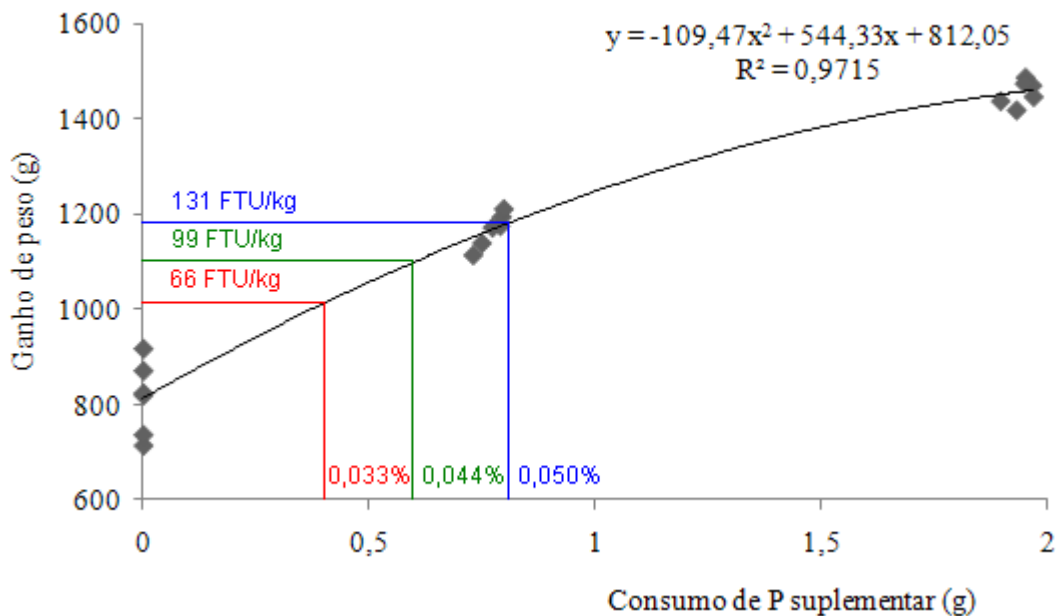


Figura 2 - Curva padrão: Ganho de peso em função do consumo de P suplementar

Entretanto, mg de cinzas ósseas foi a variável adotada para estabelecer a curva padrão, dessa forma, os valores de fósforo fítico liberado dos ingredientes milho e farelo de soja com as inclusões de 66, 99 e 131 FTU/kg de ração foram, respectivamente, 0,048, 0,049 e 0,062% de P (Figura 3). Como já proposto por Nelson e Walker (1964), cinzas ósseas é considerado um dos critérios mais sensíveis para avaliar disponibilidade de P, e também de maior precisão que ganho de peso. Esse resultado corrobora com Grimbergen; Cornelissen e Stappers (1985) e Augspurger et al. (2003) que também verificaram que cinzas ósseas é o parâmetro que melhor avalia a liberação do P fítico da molécula de fitato.

O cálculo de P liberado pela fitase utilizando a curva padrão é demonstrado utilizando a variável mg de cinzas ósseas. A média da quantidade de mg de cinzas ósseas, obtida com cada inclusão de fitase, é substituída na equação e calculado o consumo de P correspondente. A razão entre o consumo de P correspondente e o consumo total de ração representa a porcentagem de P liberado pela fitase expresso em % (Tabela 8).

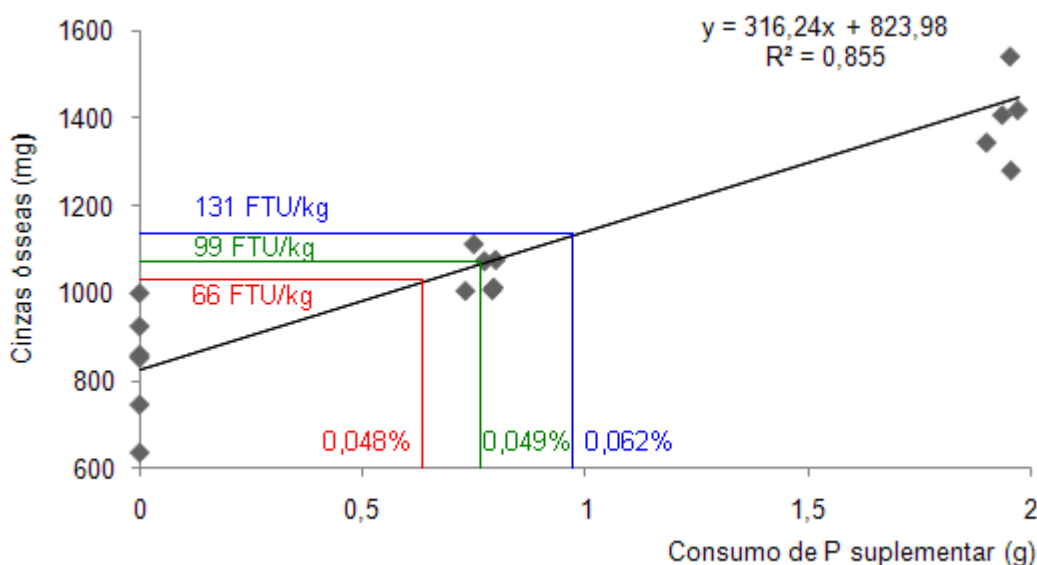


Figura 3 - Curva padrão: mg de cinzas ósseas em função do consumo de P suplementar

Tabela 8 - Média de cinzas ósseas, consumo de P suplementar, consumo de ração e P liberado de acordo com os níveis de fitase adicionados

FTU/kg	66	99	131
Cinzas ósseas (mg)	1040	1060	1130
Consumo de P suplementar (g)	0,684	0,747	0,968
Consumo de ração (g)	1412	1523	1569
P liberado (%)	0,048	0,049	0,062

Pelo fato de não ter ocorrido efeito dos diferentes níveis de consumo de P suplementar na porcentagem de cinzas ósseas, o cálculo de biodisponibilidade de P foi realizado somente com a variável mg de cinzas ósseas. Este resultado discorda de outros estudos (NELSON et al; 1971; APPLGATE; WEBEL; LEI, 2003; AUGSPURGER et al; 2003), que indicaram que cinzas ósseas, tanto em porcentagem como em mg, podem ser utilizados para estimar o P liberado da molécula de fitato pela fitase.

A eficácia da fitase bacteriana em liberar o fósforo fítico de ingredientes vegetais pode ser verificada pelas variáveis analisadas. O ganho de peso (GP) e o consumo de ração (CR) aumentaram entre 20 a 30% e mg de cinzas ósseas aumentou de 22% a 27% em relação ao tratamento controle, sendo que o aumento é proporcional à inclusão de fitase na dieta.

Augspurger et al. (2003) mostraram que a utilização de fitase de origem fúngica com inclusões de 500 e 1000 FTU/kg liberaram de 0,026 a 0,048% de P, e a fitase bacteriana (*E. coli*) com inclusão de 500 FTU/kg liberou 0,125% de P. Os resultados obtidos pela fitase bacteriana (*E. coli*) utilizando-se menores níveis de inclusão (66, 99 e 131 FTU/kg de ração) liberaram respectivamente 0,048, 0,049 e 0,062% de P (Figura 3). Confrontando-se os resultados obtidos de P liberado pela fitase bacteriana com a fitase fúngica avaliada por Augspurger et al. (2003), pode-se verificar a maior eficiência de liberação de P pela fitase bacteriana. A inclusão de fitase fúngica no nível de 1000 FTU/kg liberou a mesma quantidade de P que a fitase bacteriana com inclusão de apenas 66 FTU/kg. Provavelmente, um dos motivos da maior eficácia de liberação de P fítico pela fitase bacteriana é o fato da enzima ser 6-fitase. A enzima 6-fitase desfosforila a molécula de fitato completamente (WODZINKI; ULLAH, 1996), sendo que o mesmo não ocorre com fitases fúngicas que são 3-fitase.

A inclusão de fitase traz benefícios econômicos para produtores de frangos de corte. O custo da inclusão da enzima bacteriana em 131 FTU/kg de ração é de R\$ 1,48 por tonelada. Considerando uma suplementação de fosfato bicálcico para atingir os mesmos 0,062% de Pd liberado pela enzima, tem-se uma necessidade de 3,35 kg de fosfato bicálcico/tonelada. Com preço de R\$ 1,24/kg, o custo é de R\$ 4,16 de fosfato bicálcico. Assim, a inclusão de 131 FTU/kg permite uma economia de R\$ 2,68 por tonelada de ração. Além do efeito econômico a utilização de fitase também traz benefícios para o meio ambiente. A inclusão da enzima nas dietas permite a redução de excreção de nutrientes como o fósforo.

5 CONCLUSÃO

A quantidade de cinzas ósseas em mg é a variável de maior eficácia para estimativas de fósforo liberado pela fitase de uma dieta à base de milho e farelo de soja.

A fitase bacteriana (*E. coli*) tem uma maior eficiência em liberar o fósforo fítico da molécula de fitato em relação à fitase de origem fúngica.

A inclusão de fitase nas matrizes de formulação de ração traz benefícios econômicos para produtores de frangos de corte.

Com a necessidade de redução da poluição ambiental, a utilização de fitase terá cada vez mais sua importância na indústria de rações, principalmente tendo em vista a exigência do mercado em produtos com baixo impacto ambiental.

REFERÊNCIAS

- ADEOLA, O.; OLUKOSI, O.A.; JENDZA, J.A.; DILGER, R.N.E.; BEDFORD, M.R. Response of growing pigs to *Peniphora lycii* e *Escherichia coli* derived phytase or varying ratios of calcium to total phosphorus. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 637-644, 2004.
- APPLEGATE, T.J.; WEBEL, D.M.; LEI, X.G. Efficacy of a phytase derived from *Escherichia coli* and expressed in yeast on phosphorus utilization and bone mineralization in turkeys poults. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, p. 1726-1732, 2003.
- 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 Animal Science**, Champaign, v. 81, p. 474-483, 2003.
- AUGSPURGER, N.; UGALDE, E. Comparative phytase utilization in pigs and broiler chickens. In: CONGRESSO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2009, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2009. p. 117-128.
- BALLAM, G.C.; NELSON, T.S.; KIRBY, L.K. Effect of fiber and phytate source and of calcium and phosphorus level on phytate hydrolysis in the chick. **Poultry Science** Champaign, v. 63, n. 2, p. 333-338, 1984.
- CORRELL, D.L. Phosphorus: a rate limiting nutrient in surface waters. **Poultry Science**, Champaign v. 78, n. 5, p. 674-682, 1999.
- DENBOW, D.M.; RAVINDRAN, V.; KORNEGAY, E.T.; YI, Z.; HULET, R.M. Improving phosphorus availability in soyabean meal for broilers by supplemental phytase. **Poultry Science**, Champaign, v. 74, n. 11, p. 1831-1842, 1995.
- EDWARDS, H.M. Jr. Phosphorus. 1. Effect of breed and strain on utilization of sub-optimal levels of phosphorus in the rations. **Poultry Science**, Champaign, v. 62, n. 1, p. 77-84, 1983.
- _____. Dietary 1,25-dihydroxycholecalciferol supplementation increases natural phytate phosphorus utilization in chickens. **The Journal of Nutrition**, Athens, v. 123, p. 567-577, 1993.
- EDWARDS, H.M. Jr.; VELTMAN, J.R. Jr. The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibial dyschondroplasia in young chicks. **Journal of Nutrition**, Athens, v. 113, p. 1568-1575, 1983.
- EDWARDS, H.M. Jr.; PALO, P.; SOONCHAERENYING, S.; ELLIOT, M.A. Factors influencing the bioavailability of phytase phosphorus to chickens. In: SOUTHGATE, D.; JOHNSON, I.; FENWICK, G.R. **Nutrient availability**: chemical and biological aspects. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1989. p. 271-276.

ENGELEN, A.J.; VAN DER HEEFT, F.C.; RANDSDORP, P.H.G.; SMITH, E. L.C. Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal AOAC Internacional**, Gaithersburg, v. 77, n. 3, p. 760-764, 1994.

FERNANDEZ, S.R. **Uso de enzimas termoestables en la alimentacion animal**. Disponível em: http://www.engormix.com/uso_enzimas_thermoestables_alimentacion_s_articulos_1489_AVG.htm. Acesso em: 10 dez. 2009.

FRANCE, J.; DIAS, R.S.; KEBREAB, E.; VITTI, D.M.S.S.; CROMPTON, L.A.; LOPEZ, S. Kinetic Models for the study of phosphorus metabolism in Ruminants and Monogastrics. In: VITTI, D.M.S.S. **Phosphorus and calcium utilization and requirements in farm animals**. Piracicaba: Cabi, 2010. chap. 3, p. 18 - 44.

GRIMBERGEN, A.H.M.; CORNELISSEN, J. P.; STAPPERS, H.P. The relative availability of phosphorus in inorganic feed phosphates for young turkeys and pigs. **Animal Feed Science and Technology**, Davis, v. 13, n. 1-2, p. 117-130, 1985.

JUANPERE, J.; PÉREZ-VENDRELL, A.M.; BRUFAU, J. Effect of microbial phytase on broilers fed barley-based diets in the presence or not of endogenous phytase. **Animal Feed Science and Technology**, Davis, v. 115, p. 265-279, 2004.

KARIM, A. Responses of broiler chicks to non-phytate phosphorus levels and phytase supplementation. **International Journal of Poultry Science**, Champaign, v.5, n. 3, p. 251-254, 2006.

LAURENTIZ, A.C.; JUNQUEIRA, O.M.; FILARDI, R.S.; ASSUENA, V.; CASARTELLI, E.M.; COSTA, R. Efeito da adição da enzima fitase em rações para frangos de corte com redução dos níveis de fósforo nas diferentes fases de criação. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 8, n. 2, p. 207-216, 2007.

LIM, H.S.; NAMKUNG, H.; UM, J.S.; KANG, K.R.; KIM, B.S. PAIK, IK. The effect of phytase supplementation on the performance of broiler chickens fed diets with different levels of non-phytate phosphorus. **Asian-Australian Journal of Animal Sciences**, New Jersey, v. 14, n. 2, p. 250-257, 2000.

LIMA, M.R.; SILVA, J.H.V.; ARAUJO, J.A.; LIMA, C.B.; OLIVEIRA, E.R.A. Enzimas exógenas na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 1, n. 4, p. 99-110, 2007.

LOLAS, G.M.; PALAMIDIS, N.; MARKAKIS, P. The phytic acid-total phosphorus relationship in barley, oats, soybeans and wheat. **Cereal Chemistry**, Manhattan, v. 53, p. 867-871, 1976.

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

MAIORKA, A.; MACARI, M. Absorção de minerais. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, 2002. cap. 13, p. 167-175.

MANANGI, M. K.; COON, C.K. Evaluation of phytase enzyme with chicks fed basal diets containing different soyabean meal samples. **Journal of Applied Poultry Research**, Champaign, v. 15, n. 2, p. 292-306, 2006.

MITCHELL, R.D.; EDWARDS, H.M. Effect of phytase and 1,25 dihydroxycholecalciferol on phytate utilization and the quantitative requirement for calcium and phosphorus in young broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 75, n. 1, p. 95-110, 1996.

MOHAMMED, A.; GIBNEY, M.J.; TAYLOR, T.G. The effect of dietary levels of inorganic phosphorus, calcium and cholecalciferol on the digestibility of phytate phosphorus by the chick. **British Journal of Nutrition**, London, v. 66, p. 251-259, 1991.

MONTGOMERY, D.C.; ELIZABETH, A.P.; VINING, G.G. **Introduction to linear regression analysis**. Hoboken: John Wiley, 2006. 640 p.

NELSON, T.S. The hydrolysis of phytate phosphorus by chicks and laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 55, n. 6, p. 2262-2264, 1976.

NELSON, T.S.; WALKER, A.C. The biological evaluation of phosphorus compounds: A summary. **Poultry Science**, Champaign, v. 43, p. 94-98, 1964.

NELSON, T.S.; SHIEH, T.R.; WODZINSKI, J.; WARE, J.H. Effect of supplemental phytase on the utilization of phytate phosphorus by chicks. **The Journal of Nutrition**, Athens, v. 101, p. 1289-1294, 1971.

NICHOLSON, F.A.; CHAMBERS, B.J.; SMITH, K.A. Nutrient composition of poultry manures in England and Wales. **Bioresource and Technology**, Amsterdam, v. 58, n. 3, p. 279-284, 1996.

PAIK, I. Application of phytase, Microbial or plant origin to reduce phosphorus excretion in poultry production. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, Kwachon-Shi, Kyunggi-Do, v. 16, n. 1, p. 124-135, 2003.

PENG, Y.L.; GUO, Y.M.; YUAN, J.M. Effects of microbial phytase replacing partial inorganic phosphorus supplementation and xylanase on the growth performance and nutrient digestibility on broilers fed wheat based diets. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, Kwachon-Shi, Kyunggi-Do, v. 16, n. 2, p. 239-247, 2003.

PILLAI, P.B.; CONNOR-DENNIE, T.O.; OWENS, C.M.; EMMERT, J.L. Efficacy of an *Escherichia coli* phytase in broilers fed adequate or reduced phosphorus diets and its effect on carcass characteristics. **Poultry Science**, Champaign, v. 85, n. 10, p. 1737-1745, 2006.

PIZZOLANTE, C.C. **Estudo da atividade enzimática da fitase e sua utilização na alimentação de frangos de corte**. 2000. 127 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

POTTER, L.M. Bioavailability of phosphorus from various phosphates based on body weight and toe ash measurements. **Poultry Science**, Champaign, v. 67, n. 1, p. 96-102, 1988.

QIAN, H.; KORNEGAY, T.; DENBOW, D.M. Utilization of phytase phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol, and the calcium: total phosphorus ratio in broiler diets. **Poultry Science**, Champaign, v.76, n. 1, p.37-46, 1997.

REEDY, N.R.; SATHE, S.K.; SALUNKHE, D.K. Phytases in legumes and cereals. **Advances in Food Research**, New York, v. 28, p. 1-91, 1982.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 186 p.

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 1-21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 187-196, 2001.

SAS INSTITUTE. **Statistical analysis system: user's guide**; version 9.1. Cary, 2006.

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 broilers chickens fed corn- soybean diets. **Poultry Science**, Champaign, v. 75, p. 729-736, 1996.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S.P.; CHAVEZ, E.R. Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: a review. **World's Poultry Science Journal**, Amsterdam, v. 54, p. 27-47, 1998.

SEEDOR, J.G. The bisphosphonate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, Washington, v. 4, p. 265-270, 1993.

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

SHARPLEY, A. Agricultural phosphorus, water quality and poultry production: are they compatible? **Poultry Science**, Champaign, v. 78, n.5, p. 660-673, 1999.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. de. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2004. 235 p.

SILVA, J.H.V.; ARAUJO, J.A.; GOULART, C.C.; COSTA, F.G.P.; SAKOMURA, N. K.; FURTADO, D.A. Influência da interação fósforo disponível \times fitase da dieta sobre o desempenho, os níveis plasmáticos de fósforo e os parâmetros ósseos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 12, p. 2157-2165, 2008.

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

SINGH, P.K. Significance of phytic acid and supplemental phytase in chicken nutrition: a review. **World's Poultry Science Journal**, Amsterdam, v. 64, p. 553-580, 2008.

SINGH, P.K.; KHATTA, V.K. Effect of phytase supplementation on the performance of broiler chickens fed wheat based diets. **Indian Journal of Animal Nutrition**, New Delhi, v. 20, n. 1, p. 57-62, 2003.

SINGH, P.K.; KHATTA, V.K.; THAKUR, R.S. Effect of phytase supplementation in maize diet on growth performance and nutrients utilization of broiler chickens. **Indian Journal of Animal Sciences**, New Delhi, v. 73, n. 4, p. 455-458, 2003.

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

SUREK, D.; MAIORKA, A.; DAHLKE, F.; OPALINSKI, M.; FRANCO, S.G.; KRABBE, E.L. Uso de fitase em dietas de diferentes granulometrias para frangos de corte na fase inicial. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 6, p. 1725-1729, 2008.

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

TORRE, M.; RODRIGUEZ, A.R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Amherst, v. 1, n. 1, p. 1-22, 1991.

ULLAH, A. H. J.; SETHUMADHAVAN, K. PhyA gene products of *Aspergillus niger* and *Peniophora lycii* produces dissimilar phytases. **Biochemical Biophysical Research Communications**, New Orleans, v. 303, n.2, p. 463-468, 2003.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. Disponível em: <http://www.abef.com.br/uba/>. Acesso em: 04 set. 2010.

VOHRA, GRAY, G.A.; KRATZER, F.H. Phytic acid-metal complexes. **Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine**, New York, v. 120, n. 2, p. 447-449, 1965.

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

WISE, A. Dietary factors determining the biological activity of phytase. **Nutrition Abstract and Reviews**, New Jersey, v. 53, p. 791-806, 1983.

WODZINSKI, R. J.; ULLAH, A.H.J. Phytase. **Advances in Applied Microbiology**, Louisiana, v. 42, p. 263-303, 1996.

ZYLA, K.; WIKIERA, A.; KORELESKI, J.; SWIATKIEWICZ, S.; PIIRONEN, J.; LEDOUX, D.R. Comparison of the 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**, Champaign, v. 79, p. 1434-1443, 2000.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Controle diário da temperatura durante 1 -28 dias de experimentação

Data	Temperatura máxima	Temperatura mínima
03/02	34	28
04/02	33	27
05/02	33	26
06/02	32	27
07/02	33	26
08/02	33	24
09/02	31	29
10/02	32	24
11/02	28	24
12/02	30	25
13/02	32	24
14/02	32	23
15/02	32	24
16/02	32	24
17/02	31	25
18/02	26	23
19/02	27	25
20/02	28	24
21/02	30	23
22/02	31	24
23/02	34	29

APÊNDICE B – Controle diário da umidade relativa durante 1 -28 dias de experimentação

DIA	PERIODO	UMIDADE RELATIVA (%)
3 de fev	manhã	71,52
3 de fev	tarde	61,84
3 de fev	noite	71,52
4 de fev	manhã	77,32
4 de fev	tarde	66,39
4 de fev	noite	77,32
5 de fev	manhã	84,60
5 de fev	tarde	67,02
5 de fev	noite	71,52
6 de fev	manhã	71,52
6 de fev	tarde	51,80
6 de fev	noite	77,79
7 de fev	manhã	71,52
7 de fev	tarde	56,28
7 de fev	noite	77,32
8 de fev	manhã	84,26
8 de fev	tarde	65,04
8 de fev	noite	70,93
9 de fev	manhã	76,82
9 de fev	tarde	50,93
9 de fev	noite	70,93
10 de fev	manhã	76,82
10 de fev	tarde	76,82
10 de fev	noite	83,91
11 de fev	manhã	83,91
11 de fev	tarde	77,32
11 de fev	noite	91,61
12 de fev	manhã	91,99
12 de fev	tarde	55,47
12 de fev	noite	76,82
13 de fev	manhã	84,26
13 de fev	tarde	55,47
13 de fev	noite	64,31
14 de fev	manhã	83,91
14 de fev	tarde	50,01
14 de fev	noite	70,30
15 de fev	manhã	84,26
15 de fev	tarde	55,47
15 de fev	noite	64,31
16 de fev	manhã	84,26
16 de fev	tarde	65,73
16 de fev	noite	65,04

17de fev	manhã	77,32
17de fev	tarde	91,41
17de fev	noite	91,41
18de fev	manhã	91,41
18de fev	tarde	91,80
18de fev	noite	91,80
19de fev	manhã	83,91
19de fev	tarde	77,32
19de fev	noite	76,82
20de fev	manhã	76,29
20de fev	tarde	70,93
20de fev	noite	91,41
21de fev	manhã	70,93
21de fev	tarde	50,01
21de fev	noite	70,93
22 de fev	manhã	83,91
22 de fev	tarde	70,30
22 de fev	noite	76,82

APÊNDICE C – Desempenho dos frangos de corte de 1 a 21 dias de idade

% de P suplementar	PV	GP	CR	CA	VB
0	496,67	454,92	510,49	1,122	75,00
0	544,83	502,83	601,95	1,197	72,50
0	478,13	436,13	490,92	1,126	80,00
0	581,82	539,57	627,96	1,164	82,50
0	553,13	510,38	607,80	1,191	80,00
0	604,17	561,42	621,27	1,107	60,00
0,05	777,50	734,75	850,00	1,157	100,00
0,05	758,97	716,97	814,80	1,136	97,50
0,05	743,59	701,84	780,22	1,112	97,50
0,05	728,21	686,21	774,09	1,128	97,50
0,05	766,56	723,81	826,17	1,141	97,50
0,05	791,89	749,64	843,94	1,126	92,50
0,1	917,50	875,50	1022,50	1,168	100,00
0,1	890,00	847,25	990,00	1,168	100,00
0,1	902,56	859,81	1019,25	1,185	97,50
0,1	922,50	880,00	1010,00	1,148	100,00
0,1	912,50	870,50	972,50	1,117	100,00
0,1	902,56	859,56	991,42	1,153	97,50
0 + 66 FTU/kg	665,79	621,54	695,04	1,118	95,00
0 + 66 FTU/kg	668,57	626,32	702,87	1,122	87,50
0 + 66 FTU/kg	736,36	694,11	805,92	1,161	82,50
0 + 66 FTU/kg	683,33	640,83	722,13	1,127	90,00
0 + 66 FTU/kg	657,58	614,83	741,24	1,206	82,50
0 + 66 FTU/kg	692,11	649,11	731,32	1,127	95,00
0 + 99 FTU/kg	747,37	704,62	815,68	1,158	95,00
0 + 99 FTU/kg	722,50	680,00	780,00	1,147	100,00
0 + 99 FTU/kg	708,82	666,57	740,29	1,111	85,00
0 + 99 FTU/kg	730,77	688,52	773,01	1,123	97,50
0 + 99 FTU/kg	697,37	654,37	749,96	1,146	95,00
0 + 99 FTU/kg	748,72	705,72	802,42	1,137	97,50
0 + 131 FTU/kg	752,78	710,28	798,22	1,12	90
0 + 131 FTU/kg	707,69	665,44	755,2	1,13	97,5
0 + 131 FTU/kg	794,59	751,84	858,23	1,14	92,5
0 + 131 FTU/kg	789,47	746,47	865,78	1,16	95
0 + 131 FTU/kg	756,41	713,66	803,8	1,13	97,5
0 + 131 FTU/kg	726,32	684,07	782,7	1,14	95

APÊNDICE D – Desempenho dos frangos de corte de 22 a 28 dias de idade

% de P suplementar	PV	GP	CR	CA	VB
0	776,47	257,21	643,79	2,503	75,00
0	895,24	319,55	456,72	1,429	87,50
0	784,21	298,64	641,15	2,147	72,50
0	860,71	278,90	550,07	1,972	87,50
0	959,09	405,97	658,63	1,622	75,00
0	927,27	308,45	547,40	1,775	97,50
0,05	1217,50	440,00	730,00	1,659	100,00
0,05	1236,11	477,14	771,81	1,618	92,50
0,05	1155,26	411,67	679,77	1,651	97,50
0,05	1180,56	452,35	723,99	1,601	92,50
0,05	1221,62	447,94	718,94	1,605	97,50
0,05	1252,78	460,89	751,38	1,630	97,50
0,1	1512,50	595,00	945,00	1,588	100,00
0,1	1461,54	571,54	942,77	1,650	97,50
0,1	1489,74	587,18	951,28	1,620	100,00
0,1	1530,00	607,50	942,50	1,551	100,00
0,1	1480,00	567,50	925,00	1,630	100,00
0,1	1517,95	615,38	958,97	1,558	100,00
0 + 66 FTU/kg	1014,29	348,50	594,79	1,707	100,00
0 + 66 FTU/kg	1096,30	427,72	744,82	1,741	80,00
0 + 66 FTU/kg	1210,71	474,35	794,19	1,674	87,50
0 + 66 FTU/kg	1058,33	375,00	605,56	1,615	100,00
0 + 66 FTU/kg	1043,33	374,18	628,78	1,680	95,00
0 + 66 FTU/kg	1111,76	419,66	710,20	1,692	90,00
0 + 99 FTU/kg	1229,41	482,04	798,50	1,656	90,00
0 + 99 FTU/kg	1192,11	469,61	766,47	1,632	90,00
0 + 99 FTU/kg	1180,00	471,18	763,90	1,621	97,50
0 + 99 FTU/kg	1121,05	390,28	657,80	1,685	97,50
0 + 99 FTU/kg	1117,14	411,17	709,32	1,725	95,00
0 + 99 FTU/kg	1225,71	466,90	783,21	1,677	92,50
0 + 131 FTU/kg	1238,2	476,95	745,23	1,560	97,5
0 + 131 FTU/kg	1135,3	427,6	712,36	1,670	87,5
0 + 131 FTU/kg	1291,9	497,3	791,89	1,590	100
0 + 131 FTU/kg	1275	472,54	804,62	1,700	100
0 + 131 FTU/kg	1210,3	453,85	702,56	1,550	100
0 + 131 FTU/kg	1197	470,65	794,37	1,690	87,5

APÊNDICE E – Desempenho dos frangos de corte de 1 a 28 dias de idade

% de P suplementar	PV	GP	CR	CA	VB
0	776,47	712,13	1154,29	1,621	50
0	895,24	822,37	1058,67	1,287	60
0	784,21	734,77	1132,06	1,541	52,5
0	860,71	818,46	1178,03	1,439	70
0	959,09	916,34	1266,43	1,382	55
0	927,27	869,86	1168,67	1,344	57,5
0,05	1217,50	1174,75	1580,00	1,345	100
0,05	1236,11	1194,11	1586,61	1,329	90
0,05	1155,26	1113,51	1459,99	1,311	95
0,05	1180,56	1138,56	1498,08	1,316	90
0,05	1221,62	1171,75	1545,11	1,319	95
0,05	1252,78	1210,53	1595,32	1,318	90
0,1	1512,50	1470,50	1967,50	1,338	100
0,1	1461,54	1418,79	1932,77	1,362	97,5
0,1	1489,74	1446,99	1970,53	1,362	97,5
0,1	1530,00	1487,50	1952,50	1,313	100
0,1	1480,00	1438,00	1897,50	1,320	100
0,1	1517,95	1474,95	1950,39	1,322	97,5
0 + 66 FTU/kg	1014,29	970,04	1289,83	1,330	95
0 + 66 FTU/kg	1096,30	1054,05	1447,69	1,373	67,5
0 + 66 FTU/kg	1210,71	1168,46	1600,12	1,369	70
0 + 66 FTU/kg	1058,33	1015,83	1327,69	1,307	90
0 + 66 FTU/kg	1043,33	989,00	1370,02	1,385	77,5
0 + 66 FTU/kg	1111,76	1068,76	1441,52	1,349	85
0 + 99 FTU/kg	1229,41	1186,66	1614,18	1,360	85
0 + 99 FTU/kg	1192,11	1149,61	1546,47	1,345	90
0 + 99 FTU/kg	1180,00	1137,75	1504,19	1,322	82,5
0 + 99 FTU/kg	1121,05	1078,80	1430,81	1,326	95
0 + 99 FTU/kg	1117,14	1065,54	1459,29	1,370	90
0 + 99 FTU/kg	1225,71	1172,62	1585,62	1,352	90
0 + 131 FTU/kg	1238,24	1187,23	1543,45	1,300	87,5
0 + 131 FTU/kg	1135,29	1093,04	1467,56	1,343	85
0 + 131 FTU/kg	1291,89	1249,14	1650,13	1,321	92,5
0 + 131 FTU/kg	1275	1219,01	1670,40	1,370	95
0 + 131 FTU/kg	1210,26	1167,51	1506,36	1,290	97,5
0 + 131 FTU/kg	1196,97	1154,72	1577,07	1,366	82,5

APÊNDICE F – Características ósseas de acordo com os tratamentos aos 28 dias de idade

% de P suplementar	% Cinzas ósseas	mg de cinzas	Índice de Seedor	Resistência Óssea
0	43,16	1000,6	82,1	17,6
0	43,12	924,9	79,1	13,9
0	43,77	635,3	.	13,2
0	45,20	745,3	79,5	17,1
0	41,93	859,5	83,2	10,3
0	35,85	852,7	79,1	15,9
0,05	45,47	1007,9	84,9	13,8
0,05	42,20	1013,9	89,6	14,5
0,05	43,50	1005,9	88	19,5
0,05	37,78	1113,1	86,5	15,8
0,05	38,14	1073,9	87,5	17,4
0,05	41,68	1076,8	85,9	19,5
0,1	50,56	1420,3	86,9	18,2
0,1	50,40	1408,9	89,3	19,8
0,1	49,84	1678,5	89,4	17,2
0,1	47,35	1281,7	89,3	16,3
0,1	44,93	1345,7	85,7	16,8
0,1	46,15	1542,7	87,9	16,
0 + 66 FTU/kg	44,46	999,7	76,8	12,3
0 + 66 FTU/kg	45,44	1104,4	86,7	15,1
0 + 66 FTU/kg	43,47	953,1	87,7	16,0
0 + 66 FTU/kg	40,43	1058,9	77,9	15,4
0 + 66 FTU/kg	46,16	1058,9	80,3	17,8
0 + 66 FTU/kg	39,85	1071,7	79,8	17,2
0 + 99 FTU/kg	46,81	1120,8	87	18,4
0 + 99 FTU/kg	45,19	1222,6	89,1	14,1
0 + 99 FTU/kg	42,57	926,9	77,7	18,3
0 + 99 FTU/kg	45,93	1000,2	88,9	.
0 + 99 FTU/kg	42,24	1001,2	80,2	13,2
0 + 99 FTU/kg	42,60	1106,0	79,5	17,4
0 + 131 FTU/kg	45,26	1170,2	89,1	16,6
0 + 131 FTU/kg	44,66	1056,3	85,4	18,7
0 + 131 FTU/kg	44,89	1179,9	.	24,2
0 + 131 FTU/kg	40,75	1221,2	87,6	15,4
0 + 131 FTU/kg	42,94	1083,0	89	12,8
0 + 131 FTU/kg	40,40	1066,0	80,2	14,5