



LUÍS FILIPE VILLAS-BÔAS DE FREITAS

**AVALIAÇÃO DA MATRIZ NUTRICIONAL DE UMA 6-
FITASE EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE**

**LAVRAS – MG
2019**

LUÍS FILIPE VILLAS-BÔAS DE FREITAS

**AVALIAÇÃO DA MATRIZ NUTRICIONAL DE UMA 6-FITASE EM
DIETAS DE FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Não Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Antônio Gilberto Bertechini
Orientador

**LAVRAS - MG
2019**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Freitas, Luís Filipe Villas-Bôas de.

Avaliação da matriz nutricional de uma 6-fitase em dietas de
frangos de corte / Luís Filipe Villas-Bôas de Freitas. - 2019.

57 p.

Orientador(a): Antônio Gilberto Bertechini.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Fitase. 2. Fitato. 3. Matriz nutricional. I. Bertechini, Antônio
Gilberto. II. Título.

LUÍS FILIPE VILLAS-BÔAS DE FREITAS

**AVALIAÇÃO DA MATRIZ NUTRICIONAL DE UMA 6-FITASE EM DIETAS DE
FRANGOS DE CORTE**

**EVALUATION OF NUTRIENTS MATRIX OF A 6-PHYTASE IN DIETS OF
BROILERS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Não Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 12 de julho de 2019.

Dr. Antônio Gilberto Bertechini UFLA

Dr. Alexandre de Oliveira Teixeira UFSJ

Dr(a). Luciana de Paula Naves UFLA

Prof. Dr. Antônio Gilberto Bertechini
Orientador

**LAVRAS – MG
2019**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus e a nossa Senhora por sempre me conduzir e me iluminar.

À minha família pelo apoio e ajuda sempre quando necessitei, sendo a base de todas as escolhas e minha base para vida.

À Universidade Federal de Lavras pela oportunidade e pela contribuição em minha formação profissional.

Às entidades Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e demais entidades e empresas que foram as fontes de financiamento e auxílio a minha pós-graduação e aos meus projetos.

Ao meu orientador Antônio Gilberto Bertechini pela orientação, pelos conhecimentos profissionais e conselhos de vida proporcionados durante todos esses anos, sendo que toda oportunidade, conhecimento e experiência profissional que tive até o presente momento da vida devo a maior parte a ele.

Aos membros da banca examinadora pelo aceite de participação e de contribuição ao trabalho.

Aos meus amigos, em especial meu padrinho Guilherme, meus “irmãos” Gabriel, Igor, Otavio, Caio, Robert e Alisson, que sempre me ajudaram e me apoiaram durante esse percurso.

Ao NECTA, onde tive oportunidade de crescer profissionalmente e pessoalmente durante todo esse tempo.

E a todos e todas que contribuíram com meu trabalho ou com apoio nessa etapa da minha vida.

Deixo aqui meu **MUITO OBRIGADO !!!**.

RESUMO

Objetivou-se avaliar a matriz nutricional de uma 6-fitase dietética em diferentes níveis de suplementação utilizando o desempenho, características de carcaça e ósseas e digestibilidade de nutrientes em frangos de corte. No experimento I foram utilizados 1980 pintos de um dia machos, Cobb 500, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em nove tratamentos com 10 repetições de 22 aves em cada, no sistema de piso. Os tratamentos consistiram em controle positivo (CP) e controles negativos (CN). O CP com níveis adequados de nutrientes; quatro CN com reduções nutricionais distintas em energia metabolizável, proteína bruta, fósforo disponível, cálcio, sódio e aminoácidos, conforme a matriz da enzima (CN 250, CN 500, CN 750 e CN 1000) e quatro CN + suplementação de fitase em seus respectivos níveis (CN + 250, CN + 500, CN + 750, CN + 1000). O desempenho foi analisado pelo consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e índice de eficiência produtiva (IEP). Para as características de carcaça foram analisados os rendimentos de carcaças (RC) e peitos (RP) e a porcentagem de gordura abdominal (GA). As características ósseas analisadas foram o índice Seedor (IS), a resistência à quebra (RQ), a porcentagem de matéria mineral (MM %) e peso da matéria mineral por tíbia (MM (g/tíbia)). No experimento II, foram utilizados 96 pintos de um dia machos, Ross AP 95, distribuídos em DIC em oito tratamentos com seis repetições e dois animais em cada, alojados em gaiolas metabólicas. Os tratamentos foram semelhantes ao experimento I, com exceção do CP. Foi avaliada a digestibilidade dos nutrientes em duas fases de coleta total de excretas nos períodos do 18º a 21º e do 39º ao 42º dia de idade. Foram analisados os coeficientes de digestibilidade de matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB), cálcio (CDCa) e fósforo total (CDPt). Os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e quando significativos foi aplicado teste de SNK para o experimento I e o teste de Tukey para o experimento II à 5 % de significância. O CP apresentou melhores valores ($P < 0,05$) para GP, CA e IEP. O CR das aves do CP, dos tratamentos com suplementação da enzima e do CN 250 foram superiores ($P < 0,05$) aos demais CN. As aves dos tratamentos suplementados com fitase apresentaram desempenho superior em relação aos seus CN a partir do nível de 500 FTU/Kg da dieta. Para RC o CN + 250 apresentou resultado superior ($P < 0,05$) aos CN 750 e CN 1000. Para RQ e IS os tratamentos suplementados com enzima, o CN 250 e o CP foram melhores ($P < 0,05$) aos 21 e 42 dias. Houve aumento ($P < 0,05$) no CDCa e CDPt aos 21 dias quando utilizada fitase nas dietas, independentemente do nível utilizado. Assim, foi evidenciado que a matriz nutricional da fitase considerada não foi satisfatória para desempenho, porém para as características de carcaça e ósseas a enzima foi eficaz. Os valores de CDCa e CDPt melhoraram com a suplementação da enzima no período inicial.

Palavras-chave: Características ósseas. Desempenho. Digestibilidade. Enzima. Fitato.

ABSTRACT

The objective was to validate the nutritional matrix of a dietary 6-phytase supplementation at different levels on performance, carcass and bone characteristics and nutrient digestibility in broilers. In the experiment I were used 1980 one day male chicks, Cobb 500, distributed in randomized design (RD) in nine treatments with 10 replicates of 22 birds in each, in the floor system. The treatments consisted of positive control (PC) and negatives controls (NC). The PC was adequate on levels of nutrients, four NC with reduction values on metabolizable energy, crude protein, available phosphorus, calcium, sodium and amino acids according to the enzyme matrix (NC 250, NC 500, NC 750, NC 1000) and four NC with phytase supplementation according at their respective levels (NC + 250, NC + 500, NC + 750, NC + 1000). Performance was analyzed by feed intake (FI), weight gain (WG), feed conversion ratio (FCR) and productive efficiency index (PEI). For the carcass characteristics, carcass yields (CY), breasts yields (BY) and percentage of abdominal fat (AF) were analyzed. The bone characteristics analyzed were Seedor index (SI), breaking resistance (BR), percentage of mineral matter (MM %) and weight of mineral matter by tibia (MM (g/ tibia)). In the experiment II, 96 male one-day chicks, Ross AP 95, were distributed in RD in eight treatments with six replicates and two animals each, housed in metabolic cages. The treatments were similar to experiment I, except PC. The nutrient digestibility was evaluated in two phases of total excreta collection, at 18° to 21° and 39° to 42° days of age. The dry matter digestibility coefficient (DMDC), crude protein (CPDC), calcium (CaDC) and total phosphorus (PDC) were analyzed. The data were submitted to ANOVA and, when significant, the SNK test was applied for experiment I and the Tukey test for experiment II at 5%. The PC resulted better values ($P < 0.05$) for WG, FCR and PEI. The FI of the PC birds and the treatments with enzyme supplementation and the NC 250 were higher ($P < 0.05$) than others NC. The birds in the treatments supplemented with phytase resulted higher performance in relation to their NC starting up the level of 500 FTU / kg of the diet. For CY the NC + 250 shows higher results ($P < 0,05$) than NC 750 and NC 1000. For BR and SI the treatments supplemented with phytase, the NC 250 and the PC shows better results ($P < 0.05$) at 21 and 42 days. There was an increase ($P < 0.05$) in the CaDC and PDC at 21 days when phytase was used in the diets, regardless of the level used. It was evidenced that the phytase nutritional matrix considered was not satisfactory for performance, but for the carcass and bone characteristics the enzyme was effective. The values of CaDC and PDC improved with the enzyme supplementation in the initial period.

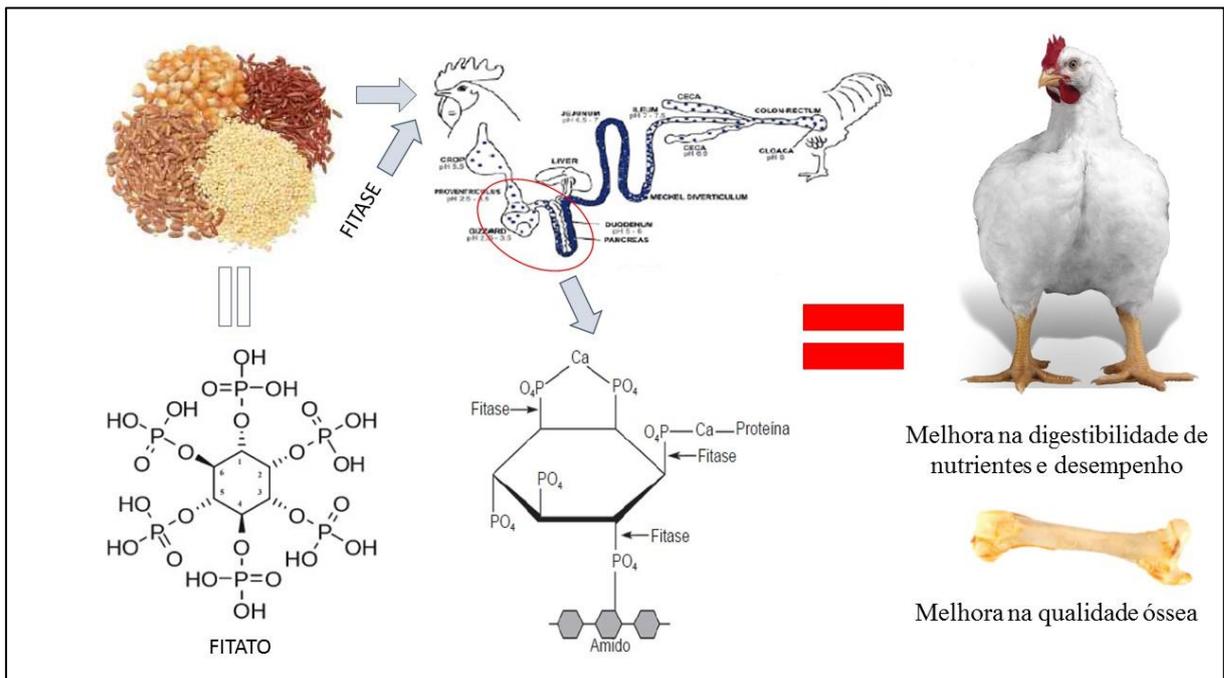
Keywords: Bone characteristics. Digestibility. Enzyme. Performance. Phytate. Phytic acid

Resumo Interpretativo e Resumo Gráfico

Elaborado por **Luís Filipe Villas-Bôas de Freitas** e orientado por **Antônio Gilberto Bertechini**

Os ingredientes de origem vegetal possuem em sua composição o fitato considerado fator antinutricional para animais não-ruminantes. O fitato é composto por seis grupos fosfatos ligados a um anel de mioinositol, responsável por armazenamento de fósforo para os grãos das plantas. Quando fornecido nas dietas de não-ruminantes possui grande capacidade de complexação com minerais catiônicos e outros nutrientes afetando a disponibilidade dos mesmos e o desempenho das aves. Como alternativa para redução desse fator em dietas de frangos de corte a suplementação da enzima fitase é uma alternativa, sendo responsável por hidrolisar os grupos fosfatos, liberando os mesmos para aproveitamento pelas aves e diminuindo a força de complexação do fitato, disponibilizando o P e demais constituintes complexados a esse fator.

O objetivo deste estudo foi avaliar a matriz nutricional de uma enzima 6-fitase comercial fornecida em diferentes níveis em dietas de frangos de corte utilizando desempenho, características de carcaça e ósseas e digestibilidade de nutrientes. Quando considerada a matriz nutricional da fitase a mesma não foi capaz de liberar a quantidade de nutrientes assumidas, sendo assim o desempenho das aves não foi recuperado eficientemente para as diferentes fases, porém houve aumento no desempenho das aves comparadas aos controles negativos. Para as características de carcaça e ósseas a fitase promoveu efeito positivo podendo ser considerada em dietas para recuperação dessas variáveis. Além disso, a enzima quando fornecida na dieta, valorizada sua matriz, foi capaz de melhorar a digestibilidade de P e Ca, mostrando efetividade na liberação desses nutrientes quando suplementada.



Avaliação da matriz nutricional de uma 6-fitase em dietas de frangos de corte utilizando desempenho, características de carcaça e ósseas e digestibilidade dos nutrientes.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE.....	9
1. INTRODUÇÃO	9
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
2.1 Ácido fítico ou fitato	10
2.1.1 Fitato como fator antinutricional nas dietas de frangos de corte.....	12
2.1.2 Impacto ambiental do fitato.....	14
2.2 Fitase	14
2.2.1 Gerações da fitase.....	15
2.2.2 Classificações da fitase.....	16
2.2.3 Matriz de fitase para P.....	17
2.2.4 Fatores que afetam a atividade da fitase e valoração de sua matriz nutricional além do P e Ca em dietas para frangos de corte.	19
REFERÊNCIAS	21
SEGUNDA PARTE.....	25
1. ARTIGO 1 Avaliação da matriz nutricional de uma 6-fitase utilizando desempenho, características de carcaça e ósseas e digestibilidade de nutrientes em frangos de corte.....	25

PRIMEIRA PARTE

1. INTRODUÇÃO

Na produção de frangos de corte os alimentos de origem vegetal são utilizados como ingredientes bases na formulação de rações, sendo responsáveis pelo fornecimento de energia proteína, aminoácidos, minerais e vitaminas para as aves. No entanto, somente os ingredientes vegetais não são capazes de fornecer todos os nutrientes necessários para suprir a exigência dietética para produção das mesmas e, assim, outros ingredientes são necessários, tais como fontes de minerais, aminoácidos industriais, suplementos vitamínicos, microminerais e alguns aditivos.

Nos ingredientes de origem vegetal são encontrados alguns fatores antinutricionais, sendo o mais comum o ácido fítico. O composto ácido fítico ou fitato é responsável pelo armazenamento do fósforo (P) para utilização pelos grãos das plantas. Os animais não-ruminantes como as aves, não possuem a produção da fitase endógena e, assim, possuem dificuldade no aproveitamento desse P. De maneira geral, os grãos cereais apresentam em torno de 70% de P na forma de fitato. Ao mesmo tempo, essa molécula aprisiona outros nutrientes como minerais bivalentes, aminoácidos, entre outros. A redução no aproveitamento dos nutrientes influencia negativamente o desempenho das aves e faz com que as mesmas não atinjam seu máximo potencial genético produtivo. O aumento da excreção dos nutrientes, principalmente o P, resulta em contaminação ao ambiente quando não destinado os excrementos de forma correta e aumento no custo de produção, sendo que o P é o terceiro componente mais oneroso da ração.

A enzima responsável pela hidrolização do fitato é denominada fitase e sua produção endógena em animais monogástricos é questionável. Assim para que se possa diminuir o efeito do fator antinutricional, fitato, a suplementação dessa enzima na forma exógena se faz uma alternativa, esperando-se diminuição dos efeitos prejudiciais para a nutrição das aves. A enzima fitase pode ser classificada conforme diferentes aspectos, tais como, origem, podendo ser fúngica ou bacteriana, preferência por determinado sítio de início da catalisação, podendo ser classificadas em 3-fitase e 6-fitase, e pH de atuação, sendo classificadas em ácidas e alcalinas. Assim deve-se levar em consideração essas características pois são determinantes na resposta da enzima quando suplementadas na dieta de frangos de corte.

Para obtenção da matriz nutricional de uma enzima fitase de forma correta, ensaios *in vivo* com animais devem ser realizados, uma vez que ensaios *in vitro* não são tão representativos. A matriz nutricional da enzima é obtida por meio de avaliações de características diretas e indiretas após a realização de uma série de ensaios experimentais e a partir de cálculos específicos é considerado valor de liberação de nutrientes para determinada fitase. A eficácia da ação da enzima na liberação dos minerais P e cálcio (Ca) são mais coerentes do que para os demais nutrientes, no entanto existem enzimas disponibilizadas no mercado, as quais em sua matriz nutricional é extrapolada a ação da mesma para liberação de energia e nutrientes como proteína, AA, macros e microminerais.

Nesse sentido, foi realizado esse estudo com o objetivo de avaliar a matriz nutricional de uma 6-fitase comercial, oriunda de *Escherichia coli*, utilizando o desempenho, características de carcaça e ósseas e digestibilidade de nutrientes em frangos de corte.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Ácido fítico ou fitato

O ácido fítico (hexafosfato de inositol) é composto por seis grupos fosfatos ligados a 12 átomos de hidrogênio, ou seja, dois prótons por grupo fosfato, ligados em um anel de mioinositol (IUPAC-IUB, 1989) (Figura 1).

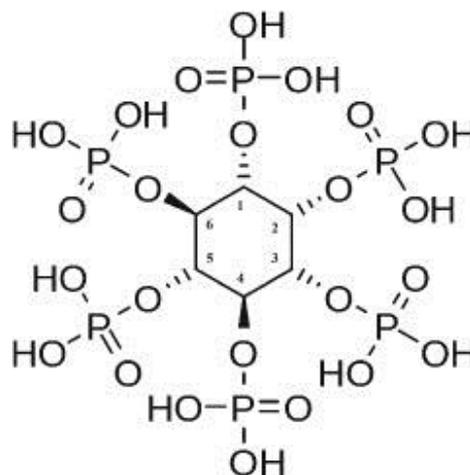


Figura 1. Estrutura do ácido fítico (Hexafosfato de inositol, IP6) (IUPAC, 1989).

Esse composto é normalmente encontrado em todas as sementes dos vegetais, contribuindo com a reserva de 50 a 80 % do P total das mesmas (Kumar et al., 2012). A principal função do fitato, além da reserva de P, está relacionada ao controle da germinação, pois permite impulso de liberação de P quando a germinação se inicia por meio da fitase presente na semente (Woyengo; Nyachoti, 2013).

O fitato pode ser encontrado em diferentes concentrações nos ingredientes de origem vegetal (Tabela 1) sendo que o tipo de espécie, a cultivar, a idade de maturação, o solo (adubação), o clima, o grau de processamento e o melhoramento genético são fatores atuantes sobre a concentração desse composto nas plantas (Steiner et al., 2007). Normalmente, há maior concentração de fitato em subprodutos de moagem de cereais e farelo de plantas oleaginosas quando comparado aos grãos de leguminosas e grãos de cereais. A maior concentração de ácido fítico nos subprodutos dos cereais ocorre devido ao fato de que nesses ingredientes, o mesmo está situado na aleurona das células que estão presentes em grande parte dos subprodutos dos cereais (Steiner et al., 2007).

Tabela 1. Valores de P nos ingredientes utilizados na alimentação de frangos de corte.

Ingrediente	P total (Pt) (%)	P fítico (Pf) (%)	P disponível (%)	Relação Pf:Pt (%)
Farelo de Arroz	1,82	1,50	0,32	82,42
Milho (8,8% PB*)	0,19	0,15	0,04	78,95
Farelo de Soja (46% PB)	0,59	0,38	0,21	64,44
Soja integral tostada	0,53	0,36	0,16	67,92
Sorgo Grão, baixo tanino	0,23	0,16	0,07	69,57
Farelo de trigo	0,94	0,45	0,49	47,87

*Proteína bruta.

Fonte: Adaptado de Rostagno et al. (2017).

Devido ao fato de possuir 12 sítios de ligações carregados negativamente, o ácido fítico possui grande capacidade de complexação com minerais catiônicos, tais como, cálcio, ferro, zinco, manganês, magnésio, dentre outros, em sua maioria, minerais bivalentes. Quando complexados a esses minerais torna-se um sal insolúvel, sendo assim denominado fitato. Na área zootécnica, o ácido fítico em sua forma livre ou complexada com cátions é denominado de fitato (Naves, 2012).

Em relação à fosforilação do anel de mioinositol, quanto maior a fosforilação, maior o poder do fitato de complexar com os nutrientes, tornando-os indisponíveis aos animais. Segundo Naves (2012) aproximadamente 90% dos anéis de mioinositol presentes nas sementes

estão na forma hexafosfórica (IP6), ou seja, em sua forma mais complexante e 10% distribuídos em frações de penta, tetra e trifosfórica.

2.1.1 Fitato como fator antinutricional nas dietas de frangos de corte

Na produção de rações para frangos de corte, a maior parte da dieta é composta por ingredientes de origem vegetal, como milho e farelo de soja, que apresentam o fitato em sua composição química. O mesmo é considerado como fator antinutricional, pois além de indisponibilizar aproximadamente dois terços do P presente no ingrediente, é ainda capaz de se complexar com minerais, AA, amido e dentre outros nutrientes durante a passagem do alimento no trato gastrointestinal das aves tornando-os indisponíveis para as aves. Afetando assim o aproveitamento de minerais, proteína e de energia, podendo reduzir o desempenho dos não-ruminantes. (Woyengo; Nyachoti, 2013).

O trato gastrointestinal das aves possui variações de pH nos seus diferentes segmentos (Figura 2), estando correlacionado diretamente com a formação do fitato em função das características de dissociação e solubilidade desse composto químico. Além do pH, outros fatores também influenciam na complexação do fitato com íons, como exemplo, a concentração do fator antinutricional na dieta, sendo que quanto maior a concentração do mesmo maior o poder de complexação (Cheryan; Rackis, 1980).

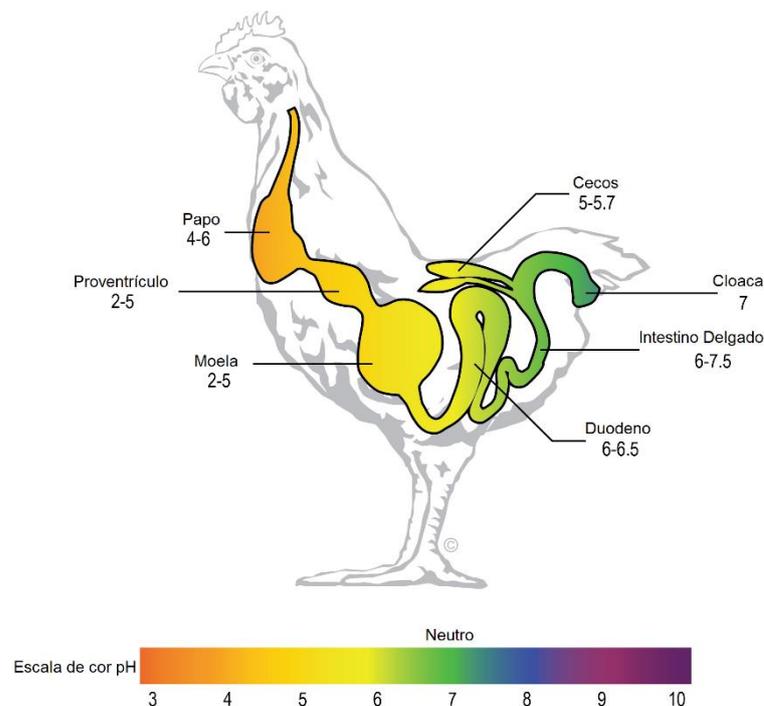


Figura 2. Níveis de pH ao longo do TGI das aves.

Fonte: Adaptado de BRI (2015).

Em meios de solução onde o pH esteja ácido, como encontrado no proventrículo (2-5) e moela (2-5), o ácido fítico tem como característica principal dissociar-se e ser solúvel, porém encontra-se carregado negativamente e possui a capacidade de se ligar não seletivamente a resíduos básicos, tais como proteínas, por forte interação eletrostática, formando complexo insolúvel. Além disso, também pode ligar-se a aminoácidos básicos como arginina, histidina e lisina, formando complexo proteína-fitato (Kies et al., 2006). Em artigo de revisão sobre fitato e fitase (Cowieson et al., 2009) foi demonstrado o modo como o fitato complexa com proteínas em pH ácido, sendo por meio de uma ligação eletrostática do fitato, que se encontra carregado negativamente pela presença dos seus grupos fosfatos, ligando-se a proteínas carregadas de forma positiva (por estarem em ambiente ácido, abaixo do seu ponto isoelétrico). Segundo os autores, 1g de fitato é capaz de complexar 10g de proteína em condições ideais, resultando posteriormente em redução na utilização dessa proteína no metabolismo e ocorrendo maior excreção de nitrogênio para o ambiente.

Em pH básico e neutro, encontrados nos segmentos do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), ocorre complexação do fitato com os minerais catiônicos e complexação de proteínas e cátions, formando complexos de proteína-mineral-fitato, sendo complexos insolúveis e resistentes a hidrólise de enzimas, reduzindo a eficiência da utilização de proteínas, AA e minerais (Dersjant-li et al., 2015).

O fitato também provoca ação inibitória em algumas enzimas endógenas, tais como, α -amilase, tripsina e quimiotripsina, reduzindo assim, a digestibilidade de proteínas e carboidratos (Singh; Krikorian, 1982; Deshpande; Cheryan, 1984). Esse efeito inibitório segundo Cousins (1999) ocorre pelo fato do fitato complexar-se com os íons de cálcio que seriam utilizados como cofatores nas atividades destas enzimas endógenas. Outro efeito relevante é que a complexação do Ca com o fator antinutricional, promove formação de sabões metálicos no lúmen intestinal reduzindo assim a digestão de gorduras saturadas (Ravindran et al., 2000).

Além do efeito de complexação direta, o fitato promove perdas endógenas de AA devido ao aumento na secreção de enzimas digestivas, mucinas e redução da reabsorção dos AA secretados de forma endógena (Woyengo; Nyachoti, 2013). Esse composto pode ainda promover perda endógena de minerais, principalmente o sódio (Na), que quando secretado à nível de lúmen intestinal, pode vir a complexar-se com o fitato, reduzindo a reabsorção do mesmo pelo organismo, estando esse mineral diretamente envolvido na redução da atividade da enzima Na-K ATPase no trato gastrointestinal das aves e suínos (Liu et al., 2008). Segundo Cowieson et al. (2009) o aumento na perda do Na está correlacionado com a ligação do fitato

com proteínas no estômago, o que faz com que haja uma hipersecreção de ácido clorídrico (HCl) ocasionando em hipersecreção de muco e bicarbonato de sódio no intestino delgado, fazendo com que o Na endógeno liberado no intestino seja complexado com o fitato sendo posteriormente excretado. A perda endógena desse na ocasiona indiretamente redução no aproveitamento de glicose e certos AA que são dependentes de mecanismos que o utilizam como co-transportador (Liu et al., 2008).

Desta forma, é extremamente relevante o efeito negativo do fitato nos ingredientes de origem vegetal quando utilizados na fabricação de rações e fornecidos em dietas para frangos de corte, afetando diretamente a digestão, absorção e metabolismo de nutrientes e consequentemente influenciando negativamente o desempenho produtivo das aves.

2.1.2 Impacto ambiental do fitato

O fitato, quando fornecido em dietas de frangos de corte, contribui com maior excreção de P, Ca e outros nutrientes ao ambiente devido ao seu fator antinutricional. O excesso da excreção de tais minerais, principalmente o P e o destino incorreto dos resíduos da produção animal podem ser fatores impactantes ao meio ambiente, pois podem provocar a eutrofização de lagos e lagoas (Niño-gómez et al., 2017)

Além disso, devido a menor disponibilização do P presente nos ingredientes vegetais, uma alternativa que se têm é a utilização de fontes inorgânicas do mineral, tais como fosfatos monocalcicos e bicalcicos, para que seja atendido a exigência nutricional de tal nutriente, o que afeta diretamente o ambiente por ser um ingrediente extrativista e sem renovação.

2.2 Fitase

A fitase (hexafosfato de mioinositol fosfohidrolase) é uma enzima catalítica, responsável pela desfosforilação dos grupos do mioinositol presentes no ácido fítico, liberando o grupo fosfato e íons, quando complexados (Lei; Porres, 2003). Essa enzima é capaz de disponibilizar de 25 a 70% do P aprisionado ao fitato (Choct, 2006), melhorando sua disponibilidade para os animais monogástricos quando utilizados na dieta.

A enzima pode ser produzida por plantas, tecidos de animais e microrganismos (bactérias, fungos e leveduras), porém sua produção endógena em aves é questionável e controversa (Torres et al., 2003). Segundo Applegate et al. (2003) a microbiota presente no

trato gastrointestinal das aves é capaz de produzir fitase, sendo encontrada no trato gastrointestinal desses animais mesmo sem o seu fornecimento exógeno, porém a quantidade produzida é relativamente baixa sendo insuficiente na hidrólise dos fitatos oriundos da dieta. A enzima pode ser encontrada também em ingredientes vegetais utilizados nas dietas dessas aves, porém sua efetividade no trato gastrointestinal sobre o fitato é considerada nula. Assim, para atuação satisfatória da enzima em monogástricos a mesma deve ser fornecida de forma exógena, ou seja, produzida por outros organismos.

As fitases podem ser diferenciadas em quatro classes, como, as histidinas ácidas fosfatases (HFA), as fitase β -hélice (FBH), as fosfatases ácidas purpúreas (FAP) e a proteína tirosina fosfatase, diferenciando-se apenas entre si em relação à eficiência catalítica, estrutura, mecanismo de ação e propriedades bioquímicas. As fitases suplementadas em dietas das aves, como a maioria das fitases sintetizadas por vegetais, microrganismos e animais, são as pertencentes à classe HFA. A estrutura molecular dessa enzima é considerada frágil, sendo vários os fatores que podem atuar sobre a mesma e promover sua desnaturação, como: ação do calor, ácidos, vitaminas, minerais, metais pesados e por agentes oxidantes (Rostami; Giri, 2013). Devido a essa fragilidade, pesquisas são realizadas com intuito de melhorar o potencial da enzima e de extrema importância verificar se sua atividade é efetiva sobre a produção de frangos de corte.

A atividade da fitase pode ser expressa por diferentes unidades, tais como, FTU, FYT, PU e U, sendo que todas essas diferentes unidades possuem o mesmo significado em sua essência, sendo a quantidade de enzima utilizada para hidrolisar 1 micromol de P inorgânico por minuto de reação em uma solução de fitato de sódio 5,1 mmol . L⁻¹ em pH 5,5 e temperatura de 37° C (Engelen et al., 1994).

O desenvolvimento e aprimoramento da enzima fitase tem como principal responsável a indústria biotecnológica, responsáveis por selecionar cepas produtoras de enzima ou incorporar genes de microrganismos produtores de fitase resistentes a meios como altas temperaturas, processamento industrial, flutuação de pHs e mais características de interesse que o mercado avícola demanda (Singh, 2014).

2.2.1 Gerações da fitase

A descoberta da enzima fitase e seu aprimoramento tecnológico para utilização à nível comercial foram divididas em gerações (Dersjant-Li et al., 2015). A primeira geração foi descoberta em 1991 utilizando a fitase fungica oriunda de *Aspergillus niger*, em sequência, em

1999, por meio da engenharia genética foram descobertas a fitase oriunda da expressão da *Escherichia coli*, dando origem a geração das fitases bacterianas. Estas são mais preferíveis do que as fungicas, pois possuem maior efetividade de ação, proporcionando maior desempenho dos animais, aumentando a mineralização óssea e melhorando a biodisponibilidade de P para as aves (Lei et al., 2013) e ainda são mais resistentes a ação das enzimas proteolíticas do estômago (Rodriguez et al., 1999).

O marco da 3ª geração de fitase foi dado pelo o aumento do “*melting point*”, ponto de derreter, que seria o aumento da termoestabilidade dessa enzima, passando de 60°C para 90-95°C (Remus, 2009). Sendo essa nova geração considerada grande descoberta para a nutrição animal, pois atualmente a maior parte da ração fabricada e fornecida aos frangos de corte no Brasil, são rações que passam pelo processo de peletização, ou seja, sofrem processos de alta pressão e temperatura onde as enzimas se desnaturavam e era perdido sua eficácia e atualmente se têm uma quantidade resistente ao processamento. Segundo Remus (2009), utilizando enzima de nova geração *Phyzyme XP TPT* em uma série de experimentos isolados, foi observado que quando comparado a atividade da enzima sofrendo o processo de peletização à uma temperatura de 90°C com o processamento para obtenção da ração farelada, a atividade foi mantida em 99%. Já quando comparada com a peletização à 95°C, a atividade da enzima foi de 96% em relação a atividade apresentada na ração farelada.

O autor também apresentou a eficiência dessa nova geração da enzima isolada a partir de bactérias em comparação com as enzimas isoladas de fungos a termoestabilidade, sendo que a fitase de origem fungica quando peletizada a 90°C permaneceu com 76% da sua atividade na ração e a 95°C somente 67%, demonstrando mais uma vez a justificativa da preferência por fitases microbianas à fungicas.

Assim, pode -se verificar que a engenharia genética e a indústria biotecnológica foram e são áreas importantes para o desenvolvimento de novas gerações de enzimas, tornando-as em um produto mais resistente e eficaz. Por mais que a enzima fitase já detenha muitos anos de pesquisa na nutrição de frangos de corte, as novas aprimorações dessa enzima faz com que novos estudos devem ser considerados e avaliados para uma melhor resposta nutricional em dietas desses animais.

2.2.2 Classificações da fitase

As fitases podem ser classificadas em dois aspectos, o primeiro sendo quanto a posição de inicialização de hidrólise e o segundo quanto as preferências de condições de pH de atuação (Kumar et al., 2010).

Quanto à posição de inicialização de hidrólise, segundo a União Internacional de bioquímica, as fitases podem ser diferenciadas em 3-fitase e 6- fitase, ou seja, a inicialização da hidrólise das enzimas 3-fitase se iniciam no carbono 3 da molécula do fitato, enquanto a da 6-fitase ocorre no carbono 6. Normalmente as fitases bacterianas são classificadas em 3-fitases e as fitases oriundas das plantas em 6-fitase, salvas algumas exceções, como no caso da fitase expressada pela *Escherichia coli* classificada como 6-fitase e a fitase produzida pela soja classificada em 3-fitase (Sandberg; Andlid, 2002).

Quanto a classificação da fitase relacionada ao valor de pH ótimo de atuação, essa enzima pode ser classificada em ácidas e alcalinas. Ácidas são as fitases que seu pH ótimo de atuação está entre 3 a 5,5, enquanto as alcalinas têm melhor atuação em pH 7 a 8 (Yin et al., 2007). A maior parte das fitases microbianas são ácidas e apresentam como produto final de sua hidrólise o mioinositol monofosfato IP1 (Greiner et al., 2000), liberando 5 dos 6 grupos fosfatos do mioinositol, sendo mais eficientes quando comparadas as fitases alcalinas que possuem como produto final o mioinositol trifosfato (IP3), sendo incapazes de hidrolisar o fosfato de mioinositol com três ou menos grupos fosfatos.

2.2.3 Matriz de fitase para P

A utilização de enzima fitase em dietas para aves, tem como principal função a liberação e disponibilização de P. Porém além do fornecimento do macromineral para as aves, outros nutrientes se tornam mais disponíveis, tais como outros macrominerais (Ca, Na), microminerais (Fe, Zn, Mn e mais), AA (lisina, metionina, cistina, arginina, valina e outros) e o aumento da disponibilização de proteína bruta e energia metabolizável (Qian et al., 1996; ; Sebastian et al., 1997; Namkung et al., 1999; Ravindran et al., 1999; Johnston, 2000). Além da promoção econômica pela redução do P, cujo é o terceiro nutriente mais oneroso da ração, as reduções da utilização de todos os outros nutrientes favorecem a economicidade da dieta dos animais, sendo necessário quantificar precisamente a disponibilização desses nutrientes para as aves para uma formulação mais acurada, a fim de reduzir a utilização de fosfato monocálcico, calcário calcítico, aminoácidos cristalinos, farelo de soja e dentre outros (Shelton et al., 2004).

Estudos com matriz de fitase se fazem necessário, pois quando avaliado a atividade da enzima *in vitro*, o ambiente é controlado, mantendo a mesma temperatura e pH, podendo representar um equívoco na mensuração de liberação dos nutrientes, pois o trato gastrointestinal das aves possuem oscilações de pH e temperatura (Dersjant-Li et al., 2019). As enzimas utilizadas possuem estados de atividades ótimos diferentes do testado *in vitro*, sendo assim o cálculo de sua atividade pode não estar fornecendo dados verdadeiros quando utilizados pelos formuladores à campo.

Para a obtenção da matriz de fitase do P existem dois métodos, o método indireto e método direto, ambos tendo como finalidade quantificar a disponibilização do nutriente por meio de ensaios *in vivo*, obtendo assim resultados mais precisos para utilização da enzima. A matriz do P é desenvolvida para mensurar a contribuição do P disponibilizado pela adição de uma unidade de fitase (Dersjant-Li et al., 2019).

O método direto expressa o aumento da disponibilização do fósforo disponível (Pd) utilizando dietas práticas comerciais. E para ser realizado é necessário um tratamento controle negativo deficiente em P e outro tratamento suplementado com incrementos graduais de enzima fitase, podendo ser mensurados pelo método de coleta ileal ou por coleta total de excreta. O valor da matriz de liberação do Pd é calculado por meio da disponibilização do mesmo nos tratamentos com fitase comparado ao controle negativo. Esse método calcula a quantidade de P absorvido pelo animal e não inclui na contabilidade o P liberado do fitato que não foi absorvido, fazendo que seja uma mensuração subestimada (Dersjant-Li et al., 2019). Além disso, se fornecido dieta deficiente (controle negativo) por período longo, os animais podem aumentar o aproveitamento de Pd devido a capacidade de adaptar-se à deficiência desse mineral (Li et al., 2014).

O valor de Pd disponibilizado pela fitase é determinado após uma série de experimentos, com diferentes utilizações de dosagens analisadas da inclusão da fitase e assim, avaliando a dose-resposta por uma curva exponencial (Dersjant-Li et al., 2019).

O método indireto é realizado para calcular a equivalência do Pd por fitase em relação a uma fonte de referência, como o fosfato monocálcico, utilizando como medida, variáveis de resposta biológica (peso de tíbia, cinzas de tíbia, ganho de peso, conversão alimentar e outros). Também pode ser realizado por meio de uma dieta altamente deficiente em P suplementado com a fonte inorgânica ou fitase exógena. A fonte inorgânica é adicionada em níveis gradeados para fornecer o P não fítico ao CN e em seguida o Pd ou equivalência de P é calculada. A

resposta deve ser dada por meio de regressão linear e diferentes variáveis respostas resultarão em diferentes valores de Pd avaliados, até no mesmo experimento (Dersjant-Li et al., 2019).

Com isso, existe a necessidade de sempre verificar e ajustar a matriz da fitase para os nutrientes, para os diferentes locais de criação, linhagens e idade dos animais, que são fatores que afetam diretamente a resposta da suplementação das dietas com a enzima.

2.2.4 Fatores que afetam a atividade da fitase e valoração de sua matriz nutricional além do P e Ca em dietas para frangos de corte.

A suplementação de uma enzima fitase em dietas de frangos de corte pode apresentar diferentes respostas, pois, múltiplos são os fatores que atuam sobre a atividade da mesma. Assim, quando utilizadas, alguns desses fatores devem ser levados em consideração com intuito de gerar melhores respostas.

Os primeiros fatores influentes na atividade da enzima dizem respeito a própria fitase, pois são a origem da enzima, o pH ótimo de atuação, a termoestabilidade e a resistência a hidrólise. Além desses, temos os fatores relacionados aos animais, como: idade, espécie e tempo de retenção, e os fatores relacionados ao conteúdo da dieta, como: concentração de fitato e a concentração de Ca, visto que a maior concentração de Ca é responsável por aumentar o pH do meio, tornando-o mais básico o que afeta diretamente na atividade da fitase, pois em sua maioria são preferíveis por ambientes ácidos para atuação (Dersjant-li et al., 2015).

Os fatores relacionados aos frangos de corte sobre a enzima fitase são mais evidenciados em questão das idades das aves. Foi verificado por Babatunde et al. (2019) que em aves mais novas a enzima fitase quando suplementada promove maior efeito, pois, nessa idade as aves apresentam o trato digestório imaturo e com menor produção enzimática, assim as aves aumentam o aproveitamento dos nutrientes disponibilizados pela enzima.

Em sua maioria, os estudos realizados para avaliar a atividade da enzima e a matriz nutricional da mesma são sobre a redução de P e Ca nas dietas de frangos, no entanto algumas matrizes comerciais extrapolam sua atividade sobre energia e demais nutrientes, tais como PB, AA, Na e microminerais. Trabalhos com essa valoração completa são mais difíceis de encontrar na literatura e muitas das vezes apresentam resultados variáveis quanto à eficácia da enzima para desempenho, características de carcaça, características ósseas e digestibilidade em dietas de frangos de corte.

Assuena et al. (2009) avaliando a suplementação de fitase nos níveis 250 FTU, 500 FTU, 750 FTU e 1000 FTU/Kg da dieta valorizando a matriz nutricional da fitase para EM, PB,

Ca, Pt, lisina, metionina, cístina, met + cis, triptofano, treonina, valina, isoleucina, leucina, arginina, fenilalanina e histidina (todos aminoácidos na forma digestível) de forma que se igualassem ao CP, verificaram que em geral a matriz de fitase utilizada promoveu redução linear no GP, CA e no IEP das aves a partir de que se aumentava os níveis de suplementação da enzima, demonstrando que quando valorizado a matriz nutricional para todos os nutrientes a mesma não foi satisfatória para o desempenho devendo ser reavaliada a matriz nutricional da fitase. Já para a excreção de P e N os autores evidenciaram que não houve diferença na excreção do N entre os tratamentos, no entanto a excreção de P reduziu linearmente com o aumento do nível da suplementação da fitase na dieta.

Em pesquisa realizada por Shelton et al. (2004), os autores realizaram a validação de uma fitase microbiana na dieta de frangos de corte considerando sua matriz de liberação em 600 FTU/Kg da dieta para AA, Ca e Pd (exp. 1) e EM, Ca e Pd (exp.2). Os mesmos observaram que quando feito à redução nutricional para ambos os experimentos e suplementando a enzima, a mesma se equiparou com o CP, para desempenho, características de carcaça e cinzas minerais de tíbias, evidenciando que a matriz elaborada para utilização da fitase está correta e pode ser utilizada.

Lelis et al. (2012) avaliando a redução progressiva de nutrientes, como P, Ca, PB, EM e lisina digestível na dietas acompanhando a matriz de liberação de fitase nos níveis de 250 FTU e 500 FTU/Kg da dieta comparado ao CP observaram que em geral a matriz utilizada foi eficiente em recuperar o desempenho das aves e os tratamentos que sofreram reduções nutricionais sem adição de enzima, ocasionaram em redução no desempenho produtivo das aves.

Sousa et al. (2015) avaliando a redução dos níveis de EM, metionina, lisina, treonina, arginina, Ca e P sobre a dieta controle conforme matriz nutricional de uma 6-fitase e suplementando dietas CNs com a enzima em 500 FTU/Kg da dieta, evidenciaram que quando somente reduzido a EM e os AA da dieta e suplementando a enzima, não houve diferença no desempenho para os frangos de corte de 1 a 42 dias entre a dieta com a enzima e seu CN, no entanto, quando realizado a redução de tais nutrientes juntamente com P e Ca e suplementando a enzima em mesmo nível, a adição da enzima apresentou melhores resultados que o CN. Sendo que em geral para desempenho os tratamentos quando suplementados com a enzima obtiveram resultados similares ao CP.

Dessa forma, diferentes respostas podem ser observadas quando considerada a matriz nutricional da enzima fitase além do Ca e P. Existem diversos fatores que podem influenciar

sobre a atividade da mesma, sendo necessária atenção maior no fornecimento da mesma em dietas à campo, sendo sua utilização uma realidade em dietas práticas à campo.

REFERÊNCIAS

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 turkey poults. **Poultry science**, vol. 82, n.11, p. 726-1732, 2003.

ASSUENA, V. et al. . Effect of dietary phytase supplementation on the performance, bone densitometry, and phosphorus and nitrogen excretion of broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, vol. 11, n. 1, p. 25-30, 2009.

BABATUNDE, O. O. et al. . Influence of age and duration of feeding low-phosphorus diet on phytase efficacy in broiler chickens during the starter phase. **Poultry science**, vol. 98, n. 6, p. 2588-2597, 2019.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Ufla, 2013.

BIO RESOURCE INTERNATIONAL (BRI), 2015. Disponível em: <http://briworldwide.com/wpcontent/uploads/2015/02/ChickenEnzymeArt_Complete.jpg>. Acesso em 28 de junho de 2019.

CHERYAN, M.; RACKIS, J. J. . Phytic acid interactions in food systems. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, vol. 13, n.4, p. 297-335, 1980.

CHOCT, M. . Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World's Poultry Science Journal**, vol. 62, n. 1, p. 5-16, 2006.

COUSINS, B. . Enzimas na nutrição de aves. In: I Simpósio Internacional ACAV-Embrapa sobre Nutrição de aves 17 e 18 de novembro de 1999, Concórdia, SC.

COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. . Supplementation of Corn–Soy-Based Diets with an *Escherichia coli*-Derived Phytase: Effects on Broiler Chick Performance and the Digestibility of Amino Acids and Metabolizability of Minerals and Energy. **Poultry Science**, vol. 85, n. 1, p. 1389-1397, 2006.

COWIESON, A. J. et al. . Phytate and microbial phytase: implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. **World's poultry science journal**, vol. 65, n. 3, p. 401-418, 2009

DERSJANT-LI, Y. et al. . Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Journal of the science of food and agriculture**, vol. 95, n.5, p. 878–896, 2015.

DERSJANT-LI, Y. et al. . A critical review of methods used to determine phosphorus and digestible amino acid matrices when using phytase in poultry and pig diets. **Journal of Applied Animal Nutrition**, vol. 7, n.1, 2019.

DESHPANDE, S. S.; CHERYAN, M. . Effects of phytic acid, divalent cations, and their interactions on α -amylase activity. **Journal of Food Science**, vol. 49, n. 2, p. 516-519, 1984
 ENGELN, A. J. et al. .Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal of AOAC International**, vol. 77, n. 3, p. 760-764, 1994.

GREINER, R.; CARLSSON, N. G.; ALMINGER, M. L. . Stereospecificity of myo-inositol hexakisphosphate dephosphorylation by a phytate-degrading enzyme of Escherichia coli. **Journal of biotechnology**, vol.84, n. 1, p. 53-62, 2000.

IUPAC-IUB (Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry). Enzyme nomenclature, Orlando, San Diego, New York, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: Academic Press Inc, 1984.

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**, vol. 79, n. 10, p. 1485-1490, 2000.

KIES, A. K. et al. . Effect of graded doses and a high dose of microbial phytase on the digestibility of various minerals in weaner pigs. **Journal of Animal Science**, vol. 84, n. 5, p. 1169-1175, 2006.

KUMAR, V. et al. . Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: a review. **Food Chemistry**, vol. 120, p. 945– 959, 2010.

KUMAR, V., et al. . Phytate and phytase in fish nutrition. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, vol. 96, n. 3, p. 335-364, 2012.

LEI, X. G.; PORRES, J. M. . Phytase enzymology, applications, and biotechnology. **Biotechnology letters**, vol. 25, n. 21, p. 1787-1794, 2003.

LEI, X. G. et al. . Phytase, a newlife for an 'old' enzyme. **Annu Rev Anim Biosci**, vol.1, p,283–309, 2013.

LELIS, G. R. et al. . Diet supplementation with phytase on performance of broiler chickens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol. 41, n.4, p. 929-933, 2012.

LI, C. et al. . Citrobacter amalonaticus phytase on the cell surface of Pichia pastoris exhibits high pH stability as a promising potential feed supplement. **PLoS one**, vol. 9, n. 12, p. e114728, 2014.

LIU, N. et al. . Effects of phytate and phytase on the performance and immune function of broilers fed nutritionally marginal diets. **Poultry Science**, vol. 87, p. 1105-1111, 2008.

NAMKUNG, H.; LEESON, S. . Effect of phytase enzyme on dietary nitrogen-corrected apparent metabolizable energy and the ileal digestibility of nitrogen and amino acids in broiler chicks. **Poultry Science**, vol. 78, n. 9, p. 1317-1319, 1999.

NAVES, L.D.P. . Metodologias para quantificar fitato e uso de fitases em rações para frangos de corte. 2012. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras.

NAVES, L. D. P. et al. . Activity of fungal phytases stored in two ways in response to the period of storage at room temperature. **Ciência Rural**, vol. 42, n. 1, p. 178-183, 2012.

NIÑO-GÓMEZ, D. C. et al. . “In Silico” Characterization of 3-Phytase A and 3-Phytase B from *Aspergillus niger*. **Enzyme research**, vol. 2017, 2017.

QIAN, H. et al. . Effects of supplemental phytase and phosphorus on histological and other tibial bone characteristics and performances of broilers fed semi-purified diets. **Poultry Science**, vol. 75, n. 5, p. 618-626, 1996.

RAVINDRAN, V. et al. . Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. **Poultry Science**, vol. 78, n. 5, p. 699-706, 1999.

RAVINDRAN, V. et al. . Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. **Poultry Science**, vol. 80, n. 3, p. 338-344, 2000.

REMUS, T. P. . Protein interactions of the inositol 1, 4, 5 tris phosphate receptor. 2009. Tese de Doutorado. Loyola University Chicago.

RODRIGUEZ E. et al. . Different sensitivity of recombinant *Aspergillus niger* phytase (r-PhyA) and *Escherichia coli* pH 2.5 acid phosphatase (r-ppA) to trypsin and pepsin in vitro. **Arch. Biochem. Biophys**, vol. 365, p. 262–267, 1999.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. . Tabelas brasileiras para aves e suínos – composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa. UFV, Departamento de Zootecnia, 2017.

ROSTAMI, H.; GIRI, A. . An overview on microbial phytase and its biotechnological applications. **Int. Adv. Biotech. Res**, vol. 4, n. 1 , p. 62-71, 2013.

SANDBERG A.S.; ANDLID T. . Phytogetic and microbial phytases in human nutrition. **Int J Food Sci Tech**, vol. 37, n. 1, p. 823-833, 2002.

SEBASTIAN, S. et al. . Apparent digestibility of protein and amino acids in broiler chickens fed a corn-soybean diet supplemented with microbial phytase. **Poultry Science**, vol. 76, p. 1760–1769, 1997.

SHELTON, J. L. et al. . Effects of microbial phytase, low calcium and phosphorus, and removing the dietary trace mineral premix on carcass traits, pork quality, plasma metabolites, and tissue mineral content in growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, vol. 82, n. 9, p. 2630-2639, 2004.

SINGH, B. . Phytase Production by *Aspergillus oryzae* in Solid-State Fermentation and its Applicability in Dephytinization of Wheat Bran. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, vol. 173, n. 7, p. 1885-1895, 2014.

SINGH, M.; KRIKORIAN, A. D. . Inhibition of trypsin activity in vitro by phytate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 30, n. 4, p. 799-800, 1982.

SOUSA, J. P. L. et al. . The effect of dietary phytase on broiler performance and digestive, bone, and blood biochemistry characteristics. **Brazilian Journal of Poultry Science**, vol. 17, n. 1, p. 69-76, 2015.

STEINER, T. et al. . Distribution of phytase activity, total phosphorus and phytate phosphorus in legume seeds, cereals and cereal by-products as influenced by harvest year and cultivar. **Animal Feed Science and Technology**, vol. 133, n. 3-4, p. 320-334, 2007.

TORRES, D.M. et al. . Eficiência das enzimas amilase, protease e xilanase sobre o desempenho de frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, vol. 27, n. 6, p.1404-1408, 2003.

VATS, P.; BANERJEE, U. C. . Production studies and catalytic properties of phytases (myo-inositolhexakisphosphate phosphohydrolases): an overview. **Enzyme and Microbial Technology**, vol. 35, n. 1, p. 3-14, 2004.

WOYENGO, T. A.; NYACHOTI, C. M. . Anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry—current knowledge and directions for future research. **Canadian Journal of Animal Science**, vol. 93, n. 1, p. 9-21, 2013.

YIN, Q. Q. et al. . Biochemical characteristics of phytases from fungi and the transformed microorganism. **Animal Feed Science and Technology**, vol. 132, n. 1, p. 341-350, 2007.

SEGUNDA PARTE

- 1. ARTIGO 1 Avaliação da matriz nutricional de uma 6-fitase utilizando desempenho, características de carcaça e ósseas e digestibilidade de nutrientes em frangos de corte**

Freitas, L.F.V.; Bertechini, A.G.

Avaliação da matriz nutricional de uma 6-fitase utilizando desempenho, características de carcaça, características ósseas e digestibilidade de nutrientes em frangos de corte

Avaliação da matriz nutricional de fitase em dietas de frangos de corte

Luís Filipe Villas-Bôas de Freitas ¹ e Antônio Gilberto Bertechini ¹

⁽¹⁾ Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, CEP: 37200-000, Minas Gerais, Brasil. E-mail para correspondência: luisfilipevbf95@gmail.com.

RESUMO

Objetivou-se validar a matriz nutricional de uma 6-fitase dietética em diferentes níveis de suplementação utilizando o desempenho, características de carcaça e ósseas e digestibilidade de nutrientes em frangos de corte. No experimento I foram utilizados 1980 pintos de um dia machos, Cobb 500, distribuídos em nove tratamentos com 10 repetições de 22 aves em cada, no sistema de piso. Os tratamentos consistiram em controle positivo (CP) e controles negativos (CN). O CP com níveis adequados de nutrientes; quatro CN com reduções nutricionais distintas em: energia metabolizável, proteína bruta, fósforo disponível, cálcio, sódio e aminoácidos, conforme a matriz da enzima (CN 250, CN 500, CN 750 e CN 1000) e quatro CN + suplementação de fitase em seus respectivos níveis (CN + 250, CN + 500, CN + 750, CN + 1000). O desempenho foi analisado pelo consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e índice de eficiência produtiva (IEP). Para as características de carcaça foram analisados os rendimentos de carcaças (RC) e peitos (RP) e a porcentagem de gordura abdominal (GA). As características ósseas analisadas foram o índice Seedor (IS), a resistência à quebra (RQ), a porcentagem de matéria mineral (MM %) e peso da matéria mineral por tíbia (MM (g/tíbia)). No experimento II, foram utilizados 96 pintos de um dia machos, Ross AP 95, distribuídos em oito tratamentos com seis repetições e dois animais em cada, alojados em gaiolas metabólicas. Os tratamentos foram semelhantes ao experimento I, com exceção do CP. Foi avaliada a digestibilidade dos nutrientes em duas fases de coleta total de excretas, sendo analisados os coeficientes de digestibilidade de matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB), cálcio (CDCa) e fósforo total (CDPt). Os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e quando significativos foi aplicado teste de SNK para o experimento I e o teste de Tukey para o experimento II à 5 % de significância. O CP apresentou melhores valores ($P < 0,05$) para GP, CA e IEP. O CR das aves do CP, dos tratamentos com suplementação da enzima e do CN 250 foram superiores ($P < 0,05$) aos demais CN. As aves dos tratamentos suplementados com fitase apresentaram desempenho superior em relação aos seus CN a partir do nível de 500 FTU/Kg da dieta. Para RC o CN + 250 apresentou resultado superior ($P < 0,05$) aos CN 750 e CN 1000. Para RQ e IS os tratamentos suplementados com enzima, o CN 250 e o CP foram melhores ($P < 0,05$) aos 21 e 42 dias. Houve aumento ($P < 0,05$) no CDCa e CDPt aos 21 dias quando utilizada fitase nas dietas. Assim, foi evidenciado que a matriz nutricional da fitase considerada não foi satisfatória para desempenho, porém para as características de carcaça e ósseas a enzima foi eficaz. Os valores de CDCa e CDPt melhoraram com a suplementação da enzima no período inicial.

Palavras-chave: ácido fítico, enzima, fósforo disponível, avicultura, cálcio, fitato.

INTRODUÇÃO

As rações de frangos de corte na América e na Europa são a base de ingredientes de origem vegetal como milho e farelo de soja. Esses ingredientes possuem em sua composição o ácido fítico (hexafosfato de mioinositol) considerado fator antinutricional para animais não-ruminantes, sendo responsável por indisponibilizar aproximadamente 2/3 do fósforo (P) advindo de ingredientes de origem vegetal, uma vez que a síntese endógena da enzima fitase, responsável pela hidrólise do fitato, nessas aves é questionável e considerada nula (Torres et al., 2003).

Com isso, a presença do ácido fítico em dietas de frangos de corte afeta negativamente o desempenho produtivo das aves, principalmente por meio da redução no aproveitamento de nutrientes, pois, o mesmo possui grande capacidade de complexação com cátions e demais nutrientes, indisponibilizando os mesmos para utilização e aumentando a excreção desses (Yu, Cowieson, Gilber & Plumstead, 2012).

O menor aproveitamento do P fítico gera aumento no custo da dieta, pois fontes inorgânicas de P devem ser utilizadas e esses ingredientes são considerados onerosos e extrativistas, o que leva a ser o terceiro nutriente de maior custo de rações de frangos de corte.

A enzima fitase (hexafosfato de mio-inositol fosfohidrolase) é considerada uma das alternativas na redução da utilização do P inorgânico e na diminuição dos custos das dietas de frangos de corte (Graña et al., 2013). Essa enzima é responsável pela hidrólise do fitato atuando na liberação de grupos fosfatos e demais nutrientes complexados, tornando-os disponíveis para o aproveitamento pelas aves. Sua utilização de forma exógena já é uma realidade a campo e sua atuação na liberação de P e Ca para frangos de corte já é concisa (Simons et al., 1990; Cowieson, Acamovia & Bedford, 2006; Gautier, Walk & Dilger, 2018).

Diversos autores assumem a efetividade dessa enzima no aumento do aproveitamento de energia metabolizável (EM) (Cowieson et al., 2006; Dessimoni et al., 2019), proteína bruta (PB), aminoácidos (AA) (Cowieson et al., 2017; Dersjant-Li & Kwakernaak, 2019), e outros minerais (Cowieson, Acamovia & Bedford, 2004; Chung, Rutherford, Thomas & Moughan, 2013) fazendo com que algumas fitases comerciais considerem em suas matrizes nutricionais valores para liberação de tais nutrientes. Entretanto, os resultados para liberação para esses nutrientes na literatura ainda são contraditórios e não tão precisos como a liberação de P e Ca, além de que, vários são os fatores que influem na atividade da enzima fitase, tais como fatores

inerentes à própria enzima, as dietas e fatores relacionados as aves, o que pode levar a diferentes respostas (Dersjant-li et al., 2015).

Assim, é de extrema importância ter o conhecimento de como se obteve a matriz da fitase e se seus valores de liberação assumidos estão corretos quando valorada, uma vez que se a mesma estiver incorreta pode acarretar em prejuízos no desempenho das aves ou maior excreção de nutrientes para ambiente, levando a prejuízos econômicos (Dersjant-li et al., 2019).

Desta forma objetivou-se avaliar a matriz nutricional de uma 6-fitase comercial, suplementada nos níveis de 250 FTU, 500 FTU, 750 FTU e 1000 FTU/Kg da dieta, para EM, PB, Ca, Pd, Na e aminoácidos utilizando o desempenho, características de carcaça, características ósseas e digestibilidade de PB, Ca e fósforo total (Pt) para frangos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

Localização e período experimental

Dois ensaios experimentais foram realizados no CPTA (Centro de Pesquisa e Tecnologia Avícola), localizado na BR 265, Km 344, no município de Lavras, Minas Gerais, em convênio com a Universidade Federal de Lavras. No experimento I foi avaliado os parâmetros de desempenho, características de carcaça e ósseas das aves e no experimento II avaliou-se a digestibilidade dos nutrientes. Ambos experimentos foram realizados simultaneamente tendo como duração 42 dias. Todos os procedimentos realizados foram avaliados e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Lavras sob protocolo nº 017/2019.

Enzima

A enzima utilizada foi uma 6-fitase em pó, oriunda de *Escherichia coli* com atividade enzimática mínima de 10.000 FTU/g. Um FTU é definido como a capacidade da enzima de liberar 1µmol de fosfato inorgânico de 5,0 mmol de fitato de sódio por minuto em pH 5,5 e 37°C (Engelen, Randsdorp & Smit, 1994).

Experimento 1

Procedimentos experimentais e dietas

Foram utilizados 1980 pintos de um dia machos, Cobb 500, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, em nove tratamentos com 10 repetições de 22 aves cada. Os tratamentos consistiam em controle positivo (CP) e controles negativos (CN), sendo: o CP formulado atendendo as exigências nutricionais; CN com redução baseada na matriz

nutricional da fitase em 250 FTU/Kg da dieta (CN 250); CN 250 + suplementação da enzima fitase em 250 FTU/Kg da dieta (CN + 250); CN com redução baseada na matriz nutricional da fitase em 500 FTU/Kg da dieta (CN 500); CN 500 + fitase em 500 FTU/Kg da dieta (CN + 500); CN com redução baseada na matriz nutricional da fitase em 750 FTU/Kg da dieta (CN 750); CN 750 + fitase em 750 FTU/Kg da dieta (CN + 750); CN com redução baseada na matriz nutricional da fitase em 1000 FTU/Kg da dieta (CN 1000); CN 1000 + fitase em 1000 FTU/Kg da dieta (CN +1000).

As dietas foram formuladas a base de milho, farelo de soja e farelo de trigo. O CP foi formulado seguindo as recomendações nutricionais de Rostagno et al. (2017), exceto para níveis de energia e AA, onde foi reduzido 50 Kcal da EM e 10% da exigência para todos os AA, com intuito de reduzir o desempenho das aves para que ao final dos 42 dias de idade as mesmas permanecem com peso vivo próximo ao peso vivo comercializado ($\pm 2,8$ Kg). Os CN foram reduzidos nos teores de PB, EM, Ca, Pd, Na e AA, seguindo as recomendações da empresa de disponibilização da matriz nutricional da fitase (Tabela 1) em suas diferentes dosagens, com intuito de testar sua eficácia. O programa de alimentação foi dividido em três fases, sendo fase inicial (1-21d) (Tabela 2), fase de crescimento (22-35d) (Tabela 3) e fase final (36-42d) (Tabela 4). As dietas experimentais foram fornecidas na forma farelada e anteriormente ao início do experimento foi analisada a real atividade enzimática da fitase, assumindo o valor analisado de 19.000 FTU/g para suplementação da enzima nas rações, sendo realizada em substituição ao inerte. Após cada preparo das rações experimentais, uma amostra de cada tratamento foi retirada, armazenada e enviada para laboratório comercial específico onde foram realizadas análise quanto à atividade enzimática (Tabela 5).

Os animais foram alojados em galpão convencional, equipado com sistema de ventilação e aspersão para controle da temperatura do ar, seguindo as recomendações do manual da linhagem para as diferentes fases de criação (COBB GUIDELINES, 2018). Durante a fase inicial o aquecimento das aves foi realizado por meio de fofalha à lenha, mantendo a temperatura dentro da instalação em $32^{\circ}\text{C} \pm 1,5^{\circ}\text{C}$, reduzindo gradativamente dois graus a cada semana, a fim de atender as necessidades das aves. As aves foram criadas sobre piso cobertos com cama de maravalha nova, divididos em boxes (2 x 1,1m), equipados com um comedouro tubular (25Kg) e quatro bebedouros tipo *nipple*. Água e ração foram fornecidas *ad libitum* durante todo o período experimental. O programa de iluminação adotado foi de 24 horas de luz do primeiro ao sétimo dia de idade e posteriormente do oitavo dia até o final do experimento

foi fornecido 16 horas de luz e 8 horas de escuro. Todas as aves foram vacinadas no incubatório para Marek e Gumboro vetorizada.

Parâmetros de desempenho analisados

Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e índice de eficiência produtiva (IEP) foram mensurados aos 21, 35 e 42 dias de idade, sendo avaliados em três períodos experimentais distintos (1-21d, 1-35d e 1-42d). O CR foi calculado pela diferença entre a quantidade de ração fornecida no início do período e a sobra no final do período. O GP foi calculado pela pesagem das aves subtraindo o peso final pelo peso inicial. A conversão alimentar foi calculada dividindo-se o CR pelo GP e o IEP por meio da Equação 1:

$$IEP = \frac{\text{Ganho diário (g)} \times \text{Viabilidade (\%)}}{CA \times 10} ;$$

Equação 1

Onde viabilidade é calculada pela Equação 2:

$$\text{Viabilidade (\%)} = \frac{n^{\circ} \text{ total de aves} - n^{\circ} \text{ de aves mortas}}{n^{\circ} \text{ total de aves}} \times 100 ;$$

Equação 2

A mortalidade das aves foi monitorada duas vezes ao dia e quando verificada mortalidade, foi realizado o cálculo para correção da CA segundo metodologia proposta por Sakomura & Rostagno (2016). A viabilidade foi considerada para o período experimental total.

Rendimento de carcaça e peito e porcentagem de gordura abdominal

Aos 42 dias de idade três animais por parcela, com pesos próximos à média ($\pm 3\%$), foram selecionados, pesados individualmente e abatidos por deslocamento cervical. A carcaça (sem vísceras, pescoço e pés) e gordura abdominal foram pesadas e expressas em porcentagem do peso vivo da ave. O peito foi separado da carcaça, pesado e seu peso expresso em porcentagem do peso da carcaça, obtendo-se assim posteriormente os índices rendimento de carcaças (RC), rendimento de peitos (RP) e porcentagem de gordura abdominal (GA).

Qualidade óssea

Aos 21 e 42 dias de idade, três aves com peso próximo a média da parcela ($\pm 3\%$) foram abatidas e as tíbias direitas e esquerdas das mesmas foram coletadas e imediatamente armazenadas em freezer (-20°C) para posterior análise da qualidade óssea. As tíbias direitas foram utilizadas para obtenção da porcentagem de matéria mineral (MM %) e peso da matéria mineral por tíbia (MM g/tíbia). As tíbias foram limpas manualmente, sendo retirado o tecido aderido ao osso, secas em estufa 105°C por 12 horas, desengorduradas por meio de extrator de gordura utilizando éter etílico por aproximadamente 12 horas, secas ao ar e novamente conduzidas à estufa 105°C para secagem e manutenção do peso. As amostras foram pesadas

em pool (três tíbias) por meio de balança analítica e levadas à MUFLA por 6 horas para obtenção e determinação do conteúdo de matéria mineral. As tíbias esquerdas foram utilizadas para mensuração de peso (g), comprimento (mm) para obtenção do índice de seedor (IS) e resistência à quebra (Kgf). O peso foi mensurado por meio de balança digital e o comprimento por meio de paquímetro digital. A resistência à quebra foi mensurada utilizando prensa mecânica universal, pelo método de flexão, com carga de força de 200 Kgf em velocidade de 5mm s^{-1} , sendo considerado o valor máximo de força utilizado para ruptura como resistência à quebra (RQ). Foi realizado o cálculo do IS como medida correlacionada à densidade óssea, por meio da Equação 3, proposta por Seedor, Quarruccio & Thompson (1991):

$$IS = \frac{\textit{peso}(g)}{\textit{comprimento}(cm)} ;$$

Equação 3

O valor assumido para cada análise foi à média dos resultados obtidos para as três tíbias.

Análise Estatística

Para todas as características a parcela foi considerada como unidade experimental. Os resultados foram submetidos à ANOVA utilizando o pacote estatístico SAS® (2002) e quando significativo foi utilizado o teste Student-Newman-Keuls (SNK) à 5% de probabilidade para comparação das médias. Foi realizada análise de regressão para os resultados do CP e os CN para desempenho, características de carcaça e ósseas verificando a eficácia do desafio nutricional.

Experimento 2

Design Experimental e manejo

Foram utilizados 96 pintos de um dia machos da linhagem Ross AP 95, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em oito tratamentos com seis repetições e duas aves em cada. Os tratamentos utilizados foram semelhantes ao Experimento 1, com exceção do CP, sendo utilizados o CN 250, CN + 250, CN 500, CN + 500, CN 750, CN + 750, CN 1000, CN + 1000. O experimento foi dividido em dois períodos de coleta de excreta total, sendo o primeiro do 18° ao 21° dia de idade das aves e o segundo do 39° ao 42° dia de idade dos animais, sendo as coletas realizadas uma vez ao dia.

As rações das aves foram formuladas a base de milho, farelo de soja e farelo de trigo. A ração basal (semelhante ao CP do experimento 1) foi formulada seguindo as recomendações de Rostagno et al. (2017), com redução nos teores de EM e AA, com intuito de reduzir o

desempenho das aves para que ao final dos 42 dias de idade as mesmas estejam com peso vivo próximo ao peso vivo comercial. Os CN sofreram reduções em seus teores de PB, EM, Ca, Pd, Na e AA, seguindo as recomendações de disponibilização da matriz nutricional da fitase (Tabela 1). As dietas testes utilizadas na primeira coleta foram as mesmas do período inicial (1-21 dias) (Tabela 2) e as dietas da segunda coleta foram as do período de crescimento (22-35 dias) (Tabela 3).

As aves permaneceram alojadas em galpão convencional do 1° ao 14° dia de idade, sobre piso coberto por cama de maravalha nova e equipado com comedouros tubulares e bebedouros pendulares. O sistema de aquecimento da fase inicial foi por meio de fornalha a lenha. Durante todo o período experimental as aves receberam ração e água *ad libitum* e o programa de iluminação adotado foi de 24 horas de luz contínua. Ao 15° dia de idade, as aves foram transferidas para as gaiolas metabólicas, sendo distribuídas com pesos médios de $582g \pm 17,46g$. As aves passaram por três dias de adaptação as gaiolas e a dieta e posteriormente foi realizada a coleta de excretas durante três dias, utilizando como marcador o óxido férrico, sendo fornecido *on top* na dieta (Sakomura & Rostagno, 2016). Ao final do primeiro período de coleta de excreta, os animais permaneceram nas gaiolas e receberam dieta basal até o 36° dia de idade. Em seguida, as aves ($2,830 \text{ kg} \pm 0,142 \text{ kg}$) passaram novamente por três dias de adaptação a dieta e posteriormente foi realizada a coleta das excretas do 39° dia ao 42° dia de idade também utilizando como marcador o óxido férrico.

Procedimentos laboratoriais e parâmetros avaliados

Após cada dia de coleta as excretas foram armazenadas em freezer (-20°C) até o último dia do ensaio de metabolismo. Ao final de cada ensaio as mesmas foram descongeladas, homogeneizadas e de cada total foi retirada uma amostra de 300g de amostra para cada parcela. As amostras foram submetidas à pré-secagem em estufa de ventilação forçada (65°C) por três dias, posteriormente moídas (moinho tipo faca com peneira 2,0 mm) e armazenadas para realização das análises laboratoriais.

As análises laboratoriais foram realizadas em triplicata e conforme os procedimentos da AOAC, descrito por Horwitz & Latimer Jr. (2005). As rações e excretas foram analisadas quanto ao teor de matéria seca (MS) em estufa (método 943,01), proteína bruta (PB) pelo método de Kjeldahl (método 954,01), cálcio (método 927,02) e fósforo total (método 964,06).

Após realizada as análises foi feito os cálculos de CDMS, CDPB, CDCa e CDPT, por meio da Equação 4:

$$CD_{\text{nutriente}} (\%) = \frac{(\text{nutriente ingerido} - \text{nutriente excretado})}{\text{nutriente ingerido}} \times 100$$

Equação 4.

Análises estatísticas

Cada gaiola foi considerada como uma unidade experimental. Os resultados foram submetidos à ANOVA utilizando o procedimento modelo linear geral do pacote estatístico SAS® (2002) e quando significativos as médias foram comparadas pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

RESULTADOS

Na Tabela 5 encontram-se os valores das atividades de fitase para cada dieta experimental.

Experimento 1

Durante todas as fases analisadas o CP proporcionou melhores resultados para GP, CA e IEP (Tabela 6). O desafio realizado com a redução dos níveis nutricionais da dieta nas diferentes fases e tratamentos foram eficazes em reduzir o desempenho das para CR, GP, CA e IEP de forma linear (Tabela 7). A suplementação da enzima a partir de 500 FTU/Kg da dieta, em todos os períodos analisados, proporcionou aumento no GP, melhora na CA e aumento do IEP das aves comparado ao desempenho das aves de seus respectivos controles negativos. Já as aves que receberam dietas CN + 250 e seu CN obtiveram desempenhos semelhantes (Tabela 6). Para o CR das aves que receberam as dietas CP, CN 250 e os CN suplementados com a enzima nos seus diferentes níveis apresentaram ($P < 0,05$) valores superiores para o consumo. Durante todo o período experimental não houve diferença ($P > 0,05$) para viabilidade dos tratamentos.

Os resultados para as características de carcaça aos 42 dias de idade se encontram na Tabela 9. Não foram observadas diferenças entre os tratamentos ($P > 0,05$) para RP e GA. Entretanto, quando utilizada a suplementação da fitase em 250 FTU/kg da dieta foi observado maior RC quando comparado aos controles negativos com alto desafio CN 750 e CN 1000.

Os parâmetros de qualidade óssea aos 21 e 42 dias de idade estão apresentados na Tabela 10. Aos 21 e 42 dias foi observado que as reduções nutricionais promoveram redução no IS e na RQ. Porém, quando houve adição da enzima na dieta aos seus respectivos níveis, os

tratamentos foram eficazes ($P < 0,05$) em se equiparar ao CP. Foi observado que o tratamento CN 250 obteve resultados semelhante ao CP e os tratamentos com adição da enzima, mostrando que a redução realizada foi marginal não reduzindo os valores para IS e RQ. Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos para MM (%) e MM (g/túbia) entre os tratamentos.

Experimento 2

Na tabela 11 encontram-se os valores de coeficientes de digestibilidade aparente para MS, PB, Ca e Pt na fase inicial (18-21d) e fase final (39-42d). Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) para CDMS e CDPB entre os tratamentos para as diferentes fases avaliadas. Para CDCa e CDPt observou-se ($P < 0,05$) aumento no coeficiente de digestibilidade das aves que receberam rações suplementadas com fitase em relação ao seu respectivo CN, demonstrando resultados positivos em relação a sua utilização durante a fase de 19 a 21 dias de idade das aves. No entanto, aos 42 dias o CN + 250 apresentou menor CDPt e os demais tratamentos apresentaram valores superiores de coeficientes de digestibilidade.

DISCUSSÃO

Experimento 1

A mortalidade durante todo o período experimental foi abaixo de 3,3% e não foi afetada ($P > 0,05$) pelos diferentes tratamentos (dados não apresentados). Durante todas as fases avaliadas, a redução dos níveis nutricionais das dietas conforme a matriz da fitase, nos tratamentos sem adição de enzima, promoveram redução ($P < 0,05$) no CR, GP, IEP e aumento ($P < 0,05$) na CA. Em estudo realizado por Lelis et al. (2012) similarmente a esse trabalho, avaliando reduções nutricionais para PB, Ca, Pt, EM e lisina, conforme a matriz da fitase testada em 250 FTU/Kg da dieta, 500 FTU/Kg da dieta e a suplementação dos mesmos com fitase, foi evidenciado que os tratamentos negativos, obtiveram resultados inferiores para CR, GP e CA quando comparados aos demais tratamentos.

Este fato pode vir a ser explicado devido, principalmente, ao efeito drástico da redução do Pd nos tratamentos, sendo que no presente experimento as reduções do Pd comparada ao CP, consistiram em 26,6% para 250 FTU/kg da dieta, 35,3% para 500 FTU/kg da dieta, 44,9% para 750 FTU/Kg da dieta e 45,9% para 1000 FTU/Kg da dieta. Segundo Parmer, Carew & Alster (1987) a deficiência de P na dieta promove redução das concentrações dos hormônios triiodotironina (T3), tetraiodotironina (T4) e hormônio do crescimento (GH) à nível sérico. A redução na concentração desses hormônios está relacionada com redução no desempenho das

aves afetando as características de CR, GP e CA, resultando em menor IEP (Dessimoni et al., 2019).

Durante todas as fases estudadas, as aves que receberam o CN 250 apresentaram desempenho semelhantes aos demais tratamentos suplementados com enzima, resultados semelhantes a outras pesquisas realizadas (Kiarie, Woyengo & Nyachoti, 2015; Hamdi et al., 2018). Esse fato que pode ter ocorrido devido ao desafio que o nível da enzima utilizado não foi capaz de liberar quantidades suficientes de nutrientes, com isso o CN se equiparou ao CN com a suplementação da enzima.

As aves dos tratamentos com suplementação dietética da enzima fitase a partir do nível de 500 FTU/ Kg da dieta apresentaram melhora no desempenho quando comparadas as aves de seus respectivos controles negativos durante todas as fases experimentais.

A utilização da enzima em 500 FTU/kg da dieta possibilitou melhora de 6,44%, 9,48%, 2,45% e 11,03% em CR, GP, CA e IEP, respectivamente, comparado ao seu CN, no período inicial (1-21d). Pieniazek et al. (2017a) encontraram resultados semelhantes, testando a eficácia de fitase em nível de 500 U/Kg da dieta adicionada ao CN, sendo que a suplementação da enzima no período inicial (1-21d) possibilitou eficácia de 33,6% para o CR, 37,1% para o GP, e 19,1% para a CA, fato que pode ter ocorrido pois o CN testado por esses autores foi reduzido somente no nível do Pd, em 37,1% comparado ao CP.

Para a fase de crescimento a suplementação da enzima em 500 FTU/Kg da dieta proporcionou melhora de 4,61% para CR, 4,61% para GP, 1,95% para CA e 9,69% para o IEP comparado ao seu CN. Hamdi et al. (2018a) avaliando a suplementação de fitase bacteriana em 500 FTU/Kg da dieta sob CN (reduzido 32,6% Pt e 20,6% Ca) não observaram diferença para CR, GP e CA, diferindo-se do presente trabalho. Porém quando houve suplementação em 1000 FTU/kg verificaram melhora de 1,8% no CR e 2,5% no GP quando comparado ao CN. No presente experimento a suplementação da enzima em 1000 FTU/ Kg da dieta, no período de 1 a 35 dias de idade favoreceu os resultados das variáveis CR, GP, CA e IEP em 8,65%, 9,40%, 1,79% e 11,45%, respectivamente.

Quando comparada a suplementação da enzima em 1000 FTU/Kg da dieta ao seu CN (CN 1000) durante a fase inicial (1-21d) houve melhora de 7,18%, 9,14%, 1,75% e 9,48% em CR, GP, CA e IEP, respectivamente. Ribeiro Jr. et al. (2016) avaliando a eficácia da enzima fitase oriunda de *Escherichia coli* suplementada em 1000 FTU/Kg da dieta comparada ao CN (redução do Pd em 50%) observaram melhora de 58,8 % no CR, 56,9% no GP e 3,8% para CA no período de 1-21 dias.

Em geral, a suplementação da enzima fitase a partir do nível 500 FTU/kg da dieta favoreceu as características de desempenho nos três períodos experimentais em 2,05% a 9,04% para CR, 4,61% a 12,17% para GP, 1,66 % a 5,47% para CA e 7,76% a 14,86% para IEP, quando comparado aos seus respectivos CN.

O melhor desempenho das aves pode ser explicadas pela atividade da enzima em atuar sobre o fator antinutricional fitato, liberando os nutrientes complexados e possibilitando o aumento no aproveitamento de minerais (Cowieson & Adeola, 2005; Ravindran, Cowieson & Selle, 2008; Nourmohammadi, Hosseini, Sarace & Arab, 2011; Ptak, Swiatkiewicz, Zyla & Józefiak, 2015), proteínas (Sebastian, Touchburn, Chavez & Lague, 1996; Liu, Bold, Plumstead & Selle, 2015) e energia (Santos, Hruby, Pierson, Remus & Sakomura, 2008; Ravindran et al., 2008).

Ao avaliar a porcentagem de ganho dos parâmetros de desempenho analisados promovidos pela suplementação da fitase comparado aos seus CN, foi evidenciado que as maiores porcentagens se deram na fase inicial. Isso pode ter ocorrido, segundo Babatunde, Cowieson, Wilson & Adeola (2019), pois aves mais jovens possuem o trato gastrointestinal imaturo, com menos produções enzimáticas. Assim, o fornecimento da enzima fitase exógena reduz o efeito antinutricional do fitato aumentando a disponibilização dos nutrientes e o melhor aproveitamento pelas aves. Ao passo que as aves se tornam mais velhas, o processo de digestão melhora em função da maturação dos órgãos que compõem o sistema digestório e o aumento da produção de enzimas tais como lipase, amilase, protease (Nitsan, Bem-Avraham, Zorf & Nir, 1991). Sendo que o efeito da suplementação da fitase exógena nessa fase pode vir a ser menor para desempenho uma vez que as aves aproveitam melhor os nutrientes nessa fase de criação.

O CP foi superior aos demais tratamentos para todas as características avaliadas para desempenho, portanto a ação da enzima nos diferentes níveis não foi satisfatória na recuperação dos níveis nutricionais reduzidos, considerados na matriz da fitase.

Não houve diferença entre os tratamentos para RP e GA. Foi verificada que a suplementação da enzima e os desafios nutricionais impostos não influenciaram em tais variáveis. Entretanto para RC as reduções nutricionais mais elevadas (CN 750 e CN 1000) implicaram em piores resultados. Contudo quando suplementado a dieta das aves com CN + 250 obteve-se melhores resultados, mostrando efeito positivo da suplementação da enzima na dieta. Junqueira et al. (2011) evidenciaram resultados semelhantes quando suplementado fitase em níveis de 250, 500, 750 e 1000 FTU/ kg na dieta, reduzindo EM, PB, AA, Ca e Pd conforme

a matriz nutricional da enzima, não se diferindo ao CP para RC e RP. Kozłowski, Jankows & Jeroch (2010) não encontraram diferenças ($P > 0,05$) entre o CP, CN e a suplementação nos níveis de 250, 500 e 750 FTU/Kg da dieta para RP e GA, dados semelhantes aos encontrados na presente pesquisa.

A redução do RC para os CN (CN 750 e CN 1000) comparado ao CN + 250 ocorreu pela redução de PB, AA, EM, Ca, Pd e Na na dieta, mostrando que quando suplementado a enzima em seus diferentes níveis foi evidenciado eficácia na liberação de tais nutrientes se equiparando ao tratamento.

Aos 21 dias de idade, foi observada diferença ($P < 0,05$) para IS e RQ das tíbias. A redução dos níveis nutricionais a partir do desafio do CN 500 FTU/Kg da dieta resultaram em valores inferiores para essas características. No entanto, quando foi suplementada a enzima fitase, as características foram recuperadas, mostrando eficácia da enzima na liberação dos constituintes da matriz óssea (P e Ca) melhorando a qualidade das tíbias assemelhando-se ao CP. A melhora das características ósseas aos 21 dias de idade pela adição de fitase em dietas reduzidas nutricionalmente já foram comprovada por diversos autores (Augspurger, Webel, Lei & Baker, 2003; Onyango, Bedford & Adeola, 2004; Rutherford, Chung, Thomaz, Zou & Moughan, 2012; Li et al., 2015).

Shaw, Hess, Blake & Ward (2011) avaliando a suplementação de enzima fitase bacteriana sobre dieta com redução de Pd (0,22%) evidenciaram que quando adicionado a enzima em 500 e 1000 FYT/ Kg da dieta sobre o CN foram obtidos melhores resultados ($P > 0,05$) para RQ. No presente estudo a utilização da fitase no nível de 500 FTU/ Kg da dieta permitiu a liberação mínima de 0,15% Pd e para 1000 FTU/ Kg da dieta a liberação de 0,195% Pd uma vez que os valores de RQ foram semelhantes ao CP, demonstrando assim, eficácia da enzima na liberação do P fítico e melhor mineralização óssea aos 21 dias de idade.

Não houve diferença entre os tratamentos para MM (%) e MM (g/tíbia), demonstrando que a redução nutricional utilizada não foi efetiva em reduzir a MM das tíbias. Freitas et al (2019) suplementando fitase nos níveis de 500 FTU, 1000 FTU e 1500 FTU/ Kg da dieta, reduzidas em Ca, Pd e Na não observaram diferença entre os tratamentos e o CP, sendo que o autor assume efetividade da enzima, porém o autor não utilizou tratamentos CN, para realmente determinar a ação da mesma.

Dessimoni et al (2019) avaliando a suplementação de enzima fitase, proveniente de *Escherichia Coli*, em dietas reduzidas em EM, Ca e Pd evidenciaram efetividade da enzima na

melhora da MM (%) das tíbias de aves aos 21 dias, resultado diferente dos observados no presente estudo.

Aos 42 dias de idade somente o IS e a RQ apresentaram diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos, sendo que as reduções nutricionais a partir do nível da matriz de 500 FTU/Kg da dieta resultaram em menor RQ. Para o IS, o CN 750 FTU/Kg da dieta apresentou menor valor, medida correlacionada à densidade óssea.

A baixa densidade óssea está relacionada com menor mineralização do osso, tornando-o mais susceptível a quebra e principalmente ao aparecimento de doenças ósseas que comprometem a produção de frangos de corte. A MM % e MM (g/tíbia) não se diferiram entre os tratamentos.

A baixa RQ pelos tratamentos com redução nutricional pode ter vindo a ocorrer devido à má mineralização óssea por meio da deficiência de Ca e P responsáveis pela formação da hidroxiapatita, tornando-os assim em ossos menos resistentes a forças externas. Porém ao comparar a MM (%) e MM (g/tíbia) há indicação de que a mineralização óssea entre os tratamentos não se diferiu, não sendo reduzidas com os desafios nutricionais realizados. Liu et al. (2015) ao suplementar enzima fitase nos níveis de 500 e 1000 FTU/Kg da dieta com redução em EM, PB, AA, Ca, P e Na evidenciaram aumento da MM (%) quando suplementado a enzima nos CN, resultados similares a presente pesquisa.

Os resultados da presente pesquisa indicaram que a matriz da enzima utilizada para fósforo e cálcio foi efetiva para recuperação das características ósseas das aves nos níveis de maior suplementação, a partir de 500 FTU/Kg da dieta. Quanto ao desempenho, a matriz geral de nutrientes se apresentou supervalorada, não permitindo a recuperação do desempenho apresentado pelo tratamento controle positivo, com os níveis nutricionais indicados. As reduções nutricionais crescentes com o uso das matrizes da fitase, prejudicou as características ósseas dos frangos de corte nas fases estudadas. As dietas com níveis de suplementação crescente das enzimas nas diversas valorações impostas, não influenciaram nas características de carcaça das aves.

Experimento 2

Não houve nenhuma mortalidade no período de coleta (dados não demonstrados). A redução nutricional da dieta e a suplementação da enzima fitase nas fases inicial (18-21 dias) e final (39-42 dias) não afetaram o CDMS e CDPB, no entanto houve efeito ($P < 0,05$) para CDCa e CDPt para ambas as fases. Fukuyama et al. (2008) observaram resultados semelhantes para CDMS, CDPB e CDPt ao suplementar dietas com fitase em 500, 750 e 1000 UFT/ Kg da dieta,

no entanto não encontraram diferença para CDCa. Liu et al. (2015) avaliando a suplementação da fitase em 500 e 1000 FTU/Kg da dieta, evidenciaram aumento no CDPB ao nível de 1000 FTU/ Kg da dieta, resultado diferente da presente pesquisa.

Aos 21 dias a suplementação da enzima aos CN proporcionaram melhor CDCa, sendo que a partir do nível de 500 FTU/Kg da dieta houve melhora significativa ($P < 0,05$) de 16,54% a 27,12% na digestibilidade de Ca. Aureli et al. (2011) verificaram resultados semelhantes ao verificar a CDCa por coleta total de excretas em frangos de corte suplementados com enzima fitase bacteriana, 6-fitase, ao CN em nível de 500 e 1000 U/Kg da dieta, sendo que ao nível de 500 U/Kg da dieta os autores observaram aumento de 23,2% e para 1000 FTU/ Kg da dieta aumento de 28,5%.

Já para CDPt, no presente experimento, a partir da suplementação ao nível de 250 FTU/Kg da dieta ao respectivo controle negativo houve aumento significativo ($P < 0,05$) na digestibilidade, variando de 10,76% a 26,6% quando a enzima foi adicionada as dietas. Entretanto, o CN + 1000 FTU e seu respectivo CN não diferiram entre si ($P > 0,05$) no CDPt.

Aureli et al. (2011) observaram que quando o CN (0,38% Pt) foi suplementado com fitase em 500 U/Kg da dieta e 1000 U/Kg da dieta, houve aumento de 20% e 26,2% na retenção do P, respectivamente, evidenciando efeito positivo da fitase no CDPt.

No presente estudo o nível de 500 FTU/ Kg da fitase influenciou em melhor CDPt, em 10,76% comparado ao CN (0,535% Pt), no entanto a suplementação em 1000 FTU/ Kg da dieta não está de acordo com o resultado encontrado na pesquisa de Aureli et al. (2011), uma vez que não diferiu-se do seu CN (0,495% Pt).

Foi observado que, ao passo que, a redução nutricional se tornava mais brusca houve um aumento significativo ($P < 0,05$) no CDPt dos CN, sendo que os desafios do CN 750 e CN 1000 FTU/ Kg da dieta obtiveram melhora CDPt comparados aos demais CN. Esse fato pode ter vindo há ocorrer possivelmente pelo fato de as aves estarem em desafio rigoroso aumentando o aproveitamento de P por meio de mecanismos fisiológicos adaptativos como utilização da vitamina D, atuando em maior ativação de mecanismos de transporte do mineral, melhorando assim seu aproveitamento (Hunziker et al. 1982; Yan, Angel, Ashwell, Mitchell & Christman, 2005).

Aos 42 dias de idade verificou-se que os desafios mais rigorosos e suas respectivas suplementações com fitase apresentaram melhores valores para CDPt e CDCa, sendo que o CN + 250 FTU/ Kg da dieta apresentou menor valor para ambas características do que os demais

tratamentos, possivelmente por atender à exigência das aves para o período resultando em maior excreção dos minerais.

O valor calculado de Pd utilizado na ração foi de 0,257% para Pd e 0,647% para Ca (Tabela 3). A exigência para fase foi de 0,347% para Pd e 0,742% para Ca (Rostagno et al., 2017), considerando a liberação da matriz nutricional da enzima os valores seriam excedentes e por isso a maior excreção dos minerais. Já para a CDMS e CDPB, não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Resultados semelhantes a esses foram encontrados por Pirgozliev, Karadas, Pappas, Acamovic & Bedford (2010) quando suplementado dietas reduzidas em Pd com fitase nos níveis de 250, 500 e 2500 FTU/Kg da dieta.

Foi evidenciado que os coeficientes de digestibilidade do fósforo e do cálcio nas dietas com o uso de fitase foram altos na fase inicial, sendo que os valores para 750 e 1000 FTU/Kg de suplementação, foram semelhantes para Pt. Já na fase final a enzima não promoveu melhora nos coeficientes de digestibilidade de Ca e P sendo seus valores semelhantes aos CN.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) pelo apoio na presente pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Augspurger, N. I., Webel, D. M., Lei, X. G. & Baker, D. H (2003). Efficacy of an E. coli phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. *Journal of Animal Science*, 81(2), 474-483.
- Aureli, R., Faruk Umar, M., Cechova, I., Pedersen, P. B., Elvig-Joergensen, S. G., Fru, F. & Broz, J. (2011). The efficacy of a novel microbial 6-phytase expressed in *Aspergillus oryzae* on the performance and phosphorus utilization in broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 10(2), 160-168.
- Babatunde, O. O., Cowieson, A. J., Wilson, J. W. & Adeola, O. (2019). Influence of age and duration of feeding low-phosphorus diet on phytase efficacy in broiler chickens during the starter phase, 98(6), 2588-2597. doi: 10.3382/ps/pez014.
- Chung, T. K., Rutherford, S. M., Thomas, D. V., & Moughan, P. J. (2013). Effect of two microbial phytases on mineral availability and retention and bone mineral density in low-phosphorus diets for broilers. *British Poultry Science*, 54(3), 362-373. <https://doi.org/10.1080/00071668.2013.783902>.

- Cobb guidelines. Broiler management guide. [S.l.]: [s.n.], (2018). 112 p. Available at: <<https://www.cobb-vantress.com/assets/Cobb-Files/management-guides/7575e12e44/9109a8e0-1815-11e9-9c88-c51e407c53ab.pdf>>. Accessed at: 26 jun. 2019.
- Cowieson, A. J., Acamovic, T., & Bedford, M. R. (2004). The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. *British Poultry Science*, 45(1), 101-108. <https://doi.org/10.1080/00071660410001668923>.
- Cowieson, A. J., Acamovic, T. & Bedford, M. R. (2006). Supplementation of Corn–Soy-Based Diets with an *Escherichia coli*-Derived Phytase: Effects on Broiler Chick Performance and the Digestibility of Amino Acids and Metabolizability of Minerals and Energy. *Poultry Science*, 85(8), 1389-1397. <https://doi.org/10.1093/ps/85.8.1389>.
- Cowieson, A. J., & Adeola, O. (2005). Carbohydrases, protease, and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. *Poultry science*, 84(12), 1860-1867. <https://doi.org/10.1093/ps/84.12.1860>.
- Cowieson, A. J., Ruckebusch, J. P., Sorbara, J.O.B., Wilson, J.W., Guggenbuhl, P., Roos, F. F. (2017). A systematic view on the effect of phytase on ileal amino acid digestibility in broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 225, 182-194. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.01.008>
- Dessimoni, G. V., Sakomura, N. K., Zanardo, D., Goldflus, F., Ferreira, N. T. & Dalólio, F. S. (2019). Effect of supplementation with *Escherichia coli* phytase for broilers on performance, nutrient digestibility, minerals in the tibia and diet cost. *Semina: Ciências Agrárias*, 40(2), 767-780. doi: 10.5433/1679-0359.2019v40n2p767.
- Dersjant-Li, Y., Awati, A., Schulze, H., & Partridge, G. (2015). Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(5), 878-896. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6998>.
- Dersjant-Li, Y. and Kwakernaak, C. (2019). Comparative effects of two phytases versus increasing the inorganic phosphorus content of the diet, on nutrient and amino acid digestibility in boilers, 253, 166-180. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.05.018>.
- Engelen, A. J., Randsdorp, P. H., & Smit, E. L. (1994). Simple and rapid determination of phytase activity. *Journal of AOAC International*, 77(3), 760-764.
- Freitas, H. B., Nascimento, K. M. R. S., Kiefer, C., Gomes, A. G., Santos, T. T., Garcia, E. R. M., Silva, T. R., Paiva, L. L. & Berno, P. R. (2019). Graded levels of phytase on performance, bone mineralization and carcass traits of broiler fed reduced dicalcium phosphate. *Asian-Australas J Anim Sci*, 32(5), 691-700. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0228>.

- Fukuyama, E. H., Sakomura, N. K., Dourado, L. R. B., Neme, R., Fernandes, J. B. K. & Marcato, S. M. (2008). Effect of phytase supplementation on performance and nutrient digestibility in diets of broilers. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37(4), 629-635.
- Gautier, A. E., Walk, C. L. & Dilger, R. N. (2018). Effects of a high level of phytase on broiler performance, bone ash, phosphorus utilization, and phytate dephosphorylation to inositol. *Poultry Science*, 97(1), 211–218. doi: 10.3382/ps/pex291.
- Graña, A., Tavernari, F. C., Lelis, G. R., Albino, L. F. T., Rostagno, H. S. & Gomes, P. C. (2013). Evaluation of nutrient excretion and retention in broilers submitted to different nutritional strategies. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 15(2), 161-168. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-635X2013000200013>.
- Hamdi, M., Perez, J. F., Létourneau-Montminy, M. P., Franco-Rosselló, R., Aligue, R., & Solà-Oriol, D. (2018). The effects of microbial phytases and dietary calcium and phosphorus levels on the productive performance and bone mineralization of broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 243, 41-51. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.07.005>.
- Horwitz, W. & Latimer, G.W. (2005). Official methods of analysis of AOAC international 644 (18nd ed.). Association of Official Analytical Chemistry International-AOAC, Maryland.
- Hunziker W., Walters, M. R., Bishop, J. E., & Norman, A. W. (1982). Effect of vitamin D status on the equilibrium between occupied and unoccupied 1,25-dihydroxyvitamin D intestinal receptors in the chick. *J. Clin. Invest.* 69:826–833. doi: 10.1172/JCI110522.
- Junqueira, O. M., Duarte, K. F., Assuena, V., Filardi, R. S., Laurentiz, A. C. & Praes, M. F. F. M. (2011). Effect of phytase supplementation on performance, bone densitometry and carcass yield in broilers chicks. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 33 (3), 301-307. doi: 10.4025/actascianimsci.v33i3.10702.
- Kiarie, E., Woyengo, T. & Nyachoti, C. M. (2015). Efficacy of New 6-Phytase from *Buttiauxella* spp. on Growth Performance and Nutrient Retention in Broiler Chickens Fed Corn Soybean Meal-based Diets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(10), 1479-1487. doi: 10.5713/ajas.15.0059.
- Kozłowski, K., Jankowski & Jeroch, H. (2010). Efficacy of different levels of *Escherichia coli* phytase in broiler diets with a reduced P content. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 13(3), 431-436.
- Lelis, G. R., Albino, L. F. T., Calderano, A. A., Tavernari, F. C., Rostagno, H. S., Campos, A. M. A., Araújo, W. A. G., & Ribeiro Júnior, V. (2012). Diet supplementation with phytase on performance of broiler chickens. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(4), 929-933. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982012000400014>.
- Li, W., Angel, R., Kim, S. W, Jiménez-Moreno, E., Proszkowiec- Weglarz, M. & Plumstead, P. W. (2015). Impact of response criteria (tibia ash weight vs. percent) on phytase relative non phytate phosphorus equivalence. *Poultry Science*, 94(9), 2228-2234. doi: 10.3382/ps/pev156.

- Liu, S. Y., Bold, R.M., Plumstead, P. W. & Selle, P. H. (2015). Effects of 500 and 1000 FTU/kg phytase supplementation of maize-based diets with two tiers of nutrient specifications on performance of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 207, 159-167. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.06.002>.
- Nitsan, Z., Bem-Avraham, G., Zoref, Z. & Nir, I. (1991). Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. *British Poultry Science*, 32(3), 515-523. doi: 10.1080/00071669108417376.
- Nourmohammadi, R., Hosseini, S. M., Saraee, H. & Arab, A. (2011). Plasma thyroid hormone concentrations and pH values of some GI-tract segments of broilers fed on different dietary citric acid and microbial phytase levels. *Am. J. Anim. Vet. Sci*, 6, 1-6.
- Onyango, E. M., Bedford, M. R. & Adeola, O. (2004). The Yeast Production System in Which *Escherichia coli* Phytase Is Expressed May Affect Growth Performance, Bone Ash, and Nutrient Use in Broiler Chicks. *Poultry Science*, 83(3), 421-427. doi: 10.1093/ps/83.3.421.
- Parmer, T. G., Carew, L. B. & Alster, F. A. (1987). Thyroid function, growth hormone, and organ growth in broilers deficient in phosphorus. *Poultry Science*, 66(12), 1995- 2004. doi: 10.3382/ps.0661995.
- Pieniasek, J., Smith, K. A., Williams, M. P., Manangi, M. K., Vazquez-Anon, M., Solbak, A., Miller, M. & Lee, J. T. (2017). Evaluation of increasing levels of a microbial phytase in phosphorus deficient broiler diets via live broiler performance, tibia bone ash, apparent metabolizable energy, and amino acid digestibility. *Poultry Science*, 96(2), 370-382. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pew225>.
- Pirgozliev, V., Karadas, F., Pappas, A., Acamovic, T., Bedford, M. R. (2010). The effect on performance, energy metabolism and hepatic carotenoid content when phytase supplemented diets were fed to broiler chickens. *Research in Veterinary Science*, 89(2), 203-205. doi:10.1016/j.rvsc.2010.03.007.
- Ptak, A., Bedford, M. R., Świątkiewicz, S., Zyla, K. & Józefiak, D. (2015). Phytase Modulates Ileal Microbiota and Enhances Growth Performance of the Broiler Chickens. *Plos One*, 10(3), e0119770. doi:10.1371/journal.pone.0119770.
- Ravindran, V., Cowieson, A. J. & Selle, P. H. (2008). Influence of dietary electrolyte balance and microbial phytase on growth performance, nutrient utilization, and excreta quality of broiler chickens. *Poultry Science*, 87(4), 677-688. doi: 10.3382/ps.2007-00247.
- Ribeiro Junior, V., Salguero, S. C., Gomes, G., Barros, V. R. S. M., Silva, D. L., Barreto, S. L. T., Rostagno, H. S., Hannas, M. I. & Albino, L. F. T. (2016). Efficacy and phosphorus equivalency values of two bacterial phytases (*Escherichia coli* and *Citrobacter braakii*) allow the partial reduction of dicalcium phosphate added to the diets of broiler chickens from 1 to 21 days of age. *Animal Feed Science and Technology*, 221(Part A), 226-233. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.09.008>.

Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Hannas, M. I., Donzele, J. L., Sakomura, N. K., Perazzo, F. G., & Brito, C. O. (2017). *Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais* (488 p.). Departamento de Zootecnia-UFV, Viçosa, MG, BR.

Rutherford, S. M., Chung, T. K., Thomas, D. V., Zou, M. L. & Moughan, P. J. (2012). Effect of a novel phytase on growth performance, apparent metabolizable energy, and the availability of minerals and amino acids in a low-phosphorus corn-soybean meal diet for broilers. *Poultry Science*, 91(5), 1118-1127. doi: 10.3382/ps.2011-01702.

Sakomura, N. K. & Rostagno, H. S. *Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos*. 2. ed. Jaboticabal: Sakomura, NK, 2016. 262 p.

Santos, F. R., Hruby, M., Pierson, E. E. M., Remus, J. C. & Sakomura, N. K. (2008). Effect of phytase supplementation in diets on nutrient digestibility and performance in broiler chicks. *Journal of Applied Poultry Research*, 17(2), 191-201. <https://doi.org/10.3382/japr.2007-00028>.

Sebastian, S., Touchburn, S. P., Chávez, E. R. & Lague, P. C. (1996). Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization of broiler chicks. *Poultry Science*, 75(12), 1516-1523. doi: 10.3382/ps.0751516.

Seedor, J.G., Quarruccio, H.A. & Thompson, D.D. (1991). The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. *Journal of Bone and Mineral Research*, 6, 339-346.

Shaw, A. L., Hess, J. B., Blake, J. P. & Ward, N. E. (2011). Assessment of an experimental phytase enzyme product on live performance, bone mineralization, and phosphorus excretion in broiler chickens. *The Journal of Applied Poultry Research*, 20(4), 561-566. <https://doi.org/10.3382/japr.2011-00389>.

Simons, P. C. M., Versteegh, H. A., Jongbloed, A., Kemme, P. A., Slump, P., Bos, K. D., ... & Verschoor, G. J. (1990). Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. *British Journal of Nutrition*, 64(2), 525-540. <https://doi.org/10.1079/BJN19900052>.

Statistical Analysis System institute - SAS. SAS/STAT® 9.0 User's guide. Cary: SAS Institute Inc., 2002.

Torres, D. M., Teixeira, A. S., Rodrigues, P. B., Bertechini, A. G., Freitas, R. T. F., & Santos, E. C. (2003). Eficiência das enzimas amilase, protease e xilanase sobre o desempenho de frangos de corte. *Ciência e Agrotecnologia*, 27, 1401-1408.

Yan, F., Angel, R., Ashwell, C., Mitchell, A., & Christman M. (2005). Evaluation of the Broiler's Ability to Adapt to an Early Moderate Deficiency of Phosphorus and Calcium. *Poultry Science*, 84(8), 1232-1241. <https://doi.org/10.1093/ps/84.8.1232>.

Yu, S., Cowieson, A., Gilber, C., Plumstead, P., & Dalsgaar, S. (2012). Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP1-5) including IP5 isomers with dietary protein and iron

and inhibition of pepsin. *Journal of Animal Science*, 90, 1824-1832. doi: 10.2527/jas.2011-3866.

Tabela 1. Matriz de liberação de nutrientes pela enzima fitase.

Nutrientes	Contribuição 250 FTU/Kg	Contribuição 500 FTU/Kg	Contribuição 750 FTU/Kg	Contribuição 1000 FTU/Kg
P disp. (%)	0,113	0,150	0,177	0,195
Cálcio (%)	0,113	0,150	0,177	0,195
Sódio (%)	0,032	0,042	0,050	0,055
Lisina dig. (%)	0,016	0,021	0,025	0,027
Metionina dig. (%)	0,007	0,009	0,011	0,012
Cisteína dig. (%)	0,011	0,015	0,018	0,020
Metionina + Cisteína Dig. (%)	0,018	0,024	0,028	0,031
Treonina dig. (%)	0,022	0,029	0,034	0,038
Triptofano dig. (%)	0,003	0,004	0,005	0,005
Leucina dig. (%)	0,038	0,050	0,059	0,065
Isoleucina dig. (%)	0,020	0,026	0,031	0,034
Arginina dig. (%)	0,009	0,012	0,014	0,016
Fenilalanina dig. (%)	0,020	0,026	0,031	0,034
Histidina dig. (%)	0,009	0,012	0,014	0,016
Valina dig. (%)	0,021	0,028	0,033	0,036
Proteína bruta (%)	0,376	0,501	0,591	0,651
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	37,500	50,000	59,000	65,000

Tabela 2. Ingredientes e composição nutricional calculada das dietas fornecidas para os frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade.

Ingredientes	CP	CN 250 (CN + 250)	CN 500 (CN + 500)	CN 750 (CN + 750)	CN 1000 (CN + 1000)
Milho	59,00	59,53	58,56	57,86	57,40
Farelo de Soja (46%)	35,88	34,03	33,43	32,95	32,65
Farelo de trigo	0,10	2,57	4,33	5,65	6,50
Óleo de soja	0,79	0,10	0,10	0,10	0,10
Sal	0,50	0,42	0,40	0,38	0,36
Calcário	0,83	0,94	0,97	1,00	1,02
Fosfato bicálcico (20%)	1,60	1,00	0,78	0,62	0,52
L- Lisina HCL (99%)	0,13	0,16	0,17	0,18	0,19
MHA – Ca [†] (84%)	0,27	0,26	0,26	0,26	0,26
L – Treonina (98%)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Suplemento Vit. [‡]	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Suplemento Mineral [§]	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Activate DA [¶]	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Salinomicina	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Fitase [⊥]	0,000	0,000 (0,0013)	0,0000 (0,0026)	0,0000 (0,0039)	0,0000 (0,0053)
Inerte	0,2930	0,4000 (0,3987)	0,4000 (0,3974)	0,3950 (0,3911)	0,4000 (0,3947)
Total	100,00	100,00 (100,00)	100,00 (100,00)	100,00 (100,00)	100,00 (100,00)
Composição nutricional					
E.M. (Kcal/Kg)	2.940,0	2.902,5 (2940,0)	2.890,0 (2940,0)	2.881,0 (2940,0)	2.875,0 (2940,0)
PB (%)	21,25	20,84 (21,25)	20,77 (21,25)	20,71 (21,25)	20,67 (21,25)
P total (%)	0,675	0,568	0,535	0,511	0,495
P disponível (%)	0,425	0,312 (0,425)	0,275 (0,425)	0,248 (0,425)	0,230 (0,425)
Cálcio (%)	0,890	0,777 (0,890)	0,740 (0,890)	0,713 (0,890)	0,695 (0,890)
Sódio (%)	0,220	0,187 (0,220)	0,177 (0,220)	0,169 (0,220)	0,164 (0,220)
Lisina dig. (%)	1,140	1,124 (1,140)	0,119 (1,140)	1,115 (1,140)	1,113 (1,140)
Met.+ Cist. dig. (%)	0,890	0,872 (0,890)	0,866 (0,890)	0,862 (0,890)	0,859 (0,890)
Treonina dig. (%)	0,750	0,728 (0,750)	0,721 (0,750)	0,716 (0,750)	0,712 (0,750)
Triptofano dig. (%)	0,240	0,230 (0,233)	0,229 (0,233)	0,228 (0,233)	0,227 (0,232)
Cisteína dig. (%)	0,290	0,283 (0,294)	0,283 (0,298)	0,282 (0,300)	0,282 (0,302)
Arginina dig. (%)	1,330	1,294 (1,303)	1,288 (1,300)	1,283 (1,297)	1,280 (1,296)
Isoleucina dig. (%)	0,820	0,790 (0,810)	0,782 (0,808)	0,776 (0,807)	0,772 (0,806)
Leucina dig. (%)	1,620	1,585 (1,623)	1,571 (1,621)	1,560 (1,619)	1,553 (1,618)
Valina dig. (%)	0,880	0,858 (0,879)	0,852 (0,880)	0,847 (0,880)	0,844 (0,880)
Histidina dig. (%)	0,510	0,492 (0,501)	0,483 (0,495)	0,476 (0,490)	0,472 (0,488)
Fenilalanina dig. (%)	0,950	0,916 (0,936)	0,900 (0,926)	0,888 (0,919)	0,880 (0,914)

[†] Metionina hidroxi-análoga

[‡] Suplemento vitamínico fornecendo por kg da dieta: Vit. A – 11.000 UI; Vit. D3 – 4.000 UI; Vit. E – 55 UI; Ácido Pantotênico – 12 mg; Ácido Fólico – 2 mg; Vit. K3 – 3 mg; Vit. B1- 2,3 mg; Vit. B2 – 7,0 mg; Vit. B6 – 4 mg; Vit B12 – 12 µg; Biotina – 0,250 mg; Niacina – 60 mg e Selênio – 0,300 mg.

[§] Suplemento mineral fornecendo por kg da dieta: Iodo – 1 mg; Cobre – 10 mg; Ferro – 50 mg; Zinco – 65 mg; Mangânes – 65 mg.

[¶] Produto comercial composto por: Metionina hidroxi-análoga; Ácido fumárico; Ácido benzoico.

[⊥] Enzima fitase – atividade analisada = 19.000 FTU/g.

Tabela 3. Ingredientes e composição nutricional calculada das dietas fornecidas para os frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade.

Ingredientes	CP	CN 250 (CN + 250)	CN 500 (CN + 500)	CN 750 (CN + 750)	CN 1000 (CN + 1000)
Milho	65,64	67,80	66,85	66,15	65,69
Farelo de Soja (46%)	29,62	27,87	27,21	26,73	26,43
Farelo de trigo	0,05	1,25	3,06	4,37	5,23
Óleo de soja	1,17	0,10	0,10	0,10	0,10
Sal	0,48	0,39	0,37	0,35	0,34
Calcário	0,71	0,81	0,84	0,87	0,89
Fosfato bicálcico (20%)	1,38	0,80	0,58	0,42	0,32
L- Lisina HCL (99%)	0,15	0,18	0,19	0,20	0,21
MHA – Ca [†] (84%)	0,22	0,21	0,21	0,21	0,21
L – Treonina (98%)	0,05	0,04	0,05	0,05	0,05
Suplemento Vit. [‡]	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
Suplemento Mineral [§]	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Activate DA [¶]	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Salinomicina	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Fitase [⊥]	0,000	0,000 (0,0013)	0,0000 (0,0026)	0,0000 (0,0039)	0,0000 (0,0053)
Inerte	0,020	0,020 (0,0187)	0,020 (0,0174)	0,020 (0,0161)	0,020 (0,0147)
Total	100,00	100,00 (100,00)	100,00 (100,00)	100,00 (100,00)	100,00 (100,00)
Composição nutricional					
E.M. (Kcal/Kg)	3.050,0	3.012,5 (3050,0)	3.000,0 (3050,0)	2.991,0 (3050,0)	2.985,0 (3050,0)
Proteína bruta (%)	18,87	18,43 (18,87)	18,34 (18,87)	18,27 (18,87)	18,23 (18,87)
Fósforo total (%)	0,608	0,499	0,466	0,442	0,426
Fósforo disponível (%)	0,370	0,257 (0,370)	0,220 (0,370)	0,193 (0,370)	0,175 (0,370)
Cálcio (%)	0,760	0,647 (0,760)	0,610 (0,760)	0,583 (0,760)	0,565 (0,760)
Sódio (%)	0,208	0,176 (0,208)	0,166 (0,208)	0,158 (0,208)	0,153 (0,208)
Lisina dig. (%)	1,010	0,994 (1,010)	0,989 (1,010)	0,985 (1,010)	0,983 (1,010)
Met.+ Cist. dig. (%)	0,800	0,782 (0,800)	0,776 (0,800)	0,772 (0,800)	0,769 (0,800)
Treonina dig. (%)	0,670	0,648 (0,670)	0,641 (0,670)	0,636 (0,670)	0,632 (0,670)
Triptofano dig. (%)	0,205	0,198 (0,201)	0,197 (0,201)	0,196 (0,201)	0,196 (0,201)
Cisteína dig. (%)	0,262	0,258 (0,269)	0,257 (0,272)	0,256 (0,274)	0,256 (0,276)
Arginina dig. (%)	1,153	1,117 (1,126)	1,109 (1,121)	1,104 (1,118)	1,101 (1,117)
Isoleucina dig. (%)	0,713	0,690 (0,710)	0,681 (0,707)	0,675 (0,706)	0,671 (0,705)
Leucina dig. (%)	1,479	1,451 (1,489)	1,435 (1,485)	1,424 (1,483)	1,417 (1,482)
Valina dig. (%)	0,780	0,759 (0,780)	0,752 (0,780)	0,747 (0,780)	0,744 (0,780)
Histidina dig. (%)	0,457	0,443 (0,452)	0,434 (0,446)	0,427 (0,441)	0,423 (0,439)
Fenilalanina dig. (%)	0,842	0,811 (0,831)	0,794 (0,820)	0,782 (0,813)	0,774 (0,808)

[†] Metionina hidroxí-análoga

[‡] Suplemento vitamínico fornecendo por kg da dieta: Vit. A – 11.000 UI; Vit. D3 – 4.000 UI; Vit. E – 55 UI; Ácido Pantotênico – 12 mg; Ácido Fólico – 2 mg; Vit. K3 – 3 mg; Vit. B1- 2,3 mg; Vit. B2 – 7,0 mg; Vit. B6 – 4 mg; Vit B12 – 12 µg; Biotina – 0,250 mg; Niacina – 60 mg e Selênio – 0,300 mg.

[§] Suplemento mineral fornecendo por kg da dieta: Iodo – 1 mg; Cobre – 10 mg; Ferro – 50 mg; Zinco – 65 mg; Mangânes – 65 mg.

[¶] Produto comercial composto por: Metionina hidroxí-análoga; Ácido fumárico; Ácido benzoico.

[⊥] Enzima fitase – atividade analisada = 19.000 FTU/g.

Tabela 4. Ingredientes e composição nutricional calculada das dietas fornecidas para os frangos de corte no período de 35 a 42 dias de idade.

Ingredientes	CP	CN 250 (CN + 250)	CN 500 (CN + 500)	CN 750 (CN + 750)	CN 1000 (CN + 1000)
Milho	71,54	72,05	71,10	70,41	70,41
Farelo de Soja (46%)	24,49	22,66	22,00	21,52	21,23
Farelo de trigo	0,10	2,70	4,51	5,82	6,65
Óleo de soja	0,82	0,10	0,10	0,10	0,10
Sal	0,45	0,37	0,34	0,32	0,31
Calcário	0,71	0,81	0,84	0,87	0,89
Fosfato bicálcico (20%)	1,07	0,46	0,24	0,08	0,00
L- Lisina HCL (99%)	0,17	0,21	0,22	0,23	0,24
MHA – Ca [†] (84%)	0,19	0,18	0,18	0,18	0,18
L – Treonina (98%)	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Suplemento Vit. ‡	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Suplemento Mineral §	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Activate DA ¶	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Salinomicina	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Fitase [⊥]	0,000	0,000 (0,0013)	0,0000 (0,0026)	0,0000 (0,0039)	0,0000 (0,0053)
Inerte	0,020	0,020 (0,0187)	0,020 (0,0174)	0,020 (0,0161)	0,020 (0,0147)
Total	100,00	100,00 (100,00)	100,00 (100,00)	100,00 (100,00)	100,00 (100,00)
Composição nutricional					
E.M. (Kcal/Kg)	3.100,0	3.062,5 (3.100,0)	3.050,0 (3.100,0)	3.041,0 (3.100,0)	3.035,0 (3.100,0)
Proteína bruta (%)	16,96	16,58 (16,96)	16,488 (16,96)	16,423 (16,96)	16,386 (16,96)
Fósforo total (%)	0,530	0,424	0,391	0,367	0,357
Fósforo disponível (%)	0,300	0,187 (0,300)	0,150 (0,300)	0,123 (0,300)	0,110 (0,300)
Cálcio (%)	0,630	0,517 (0,630)	0,480 (0,630)	0,453 (0,630)	0,435 (0,630)
Sódio (%)	0,197	0,165 (0,197)	0,155 (0,197)	0,147 (0,197)	0,142 (0,197)
Lisina dig. (%)	0,910	0,894 (0,910)	0,889 (0,910)	0,885 (0,910)	0,883 (0,910)
Met.+Cist. dig. (%)	0,730	0,712 (0,730)	0,706 (0,730)	0,702 (0,730)	0,699 (0,730)
Treonina dig. (%)	0,600	0,578 (0,600)	0,571 (0,600)	0,566 (0,600)	0,562 (0,600)
Triptofano dig. (%)	0,180	0,174 (0,177)	0,173 (0,177)	0,172 (0,177)	0,171 (0,176)
Cisteína dig. (%)	0,242	0,238 (0,249)	0,237 (0,252)	0,237 (0,255)	0,236 (0,256)
Arginina dig. (%)	1,013	0,981 (0,990)	0,974 (0,986)	0,968 (0,982)	0,965 (0,981)
Isoleucina dig. (%)	0,631	0,607 (0,627)	0,598 (0,624)	0,592 (0,623)	0,586 (0,620)
Leucina dig. (%)	1,367	1,333 (1,371)	1,318 (1,368)	1,307 (1,366)	1,300 (1,365)
Valina dig. (%)	0,700	0,679 (0,700)	0,672 (0,700)	0,667 (0,700)	0,664 (0,700)
Histidina dig. (%)	0,415	0,396 (0,405)	0,387 (0,399)	0,381 (0,395)	0,377 (0,393)
Fenilalanina dig. (%)	0,752	0,714 (0,734)	0,697 (0,723)	0,684 (0,715)	0,677 (0,711)

[†] Metionina Hidroxi-análoga

[‡] Suplemento vitamínico fornecendo por kg da dieta: Vit. A – 11.000 UI; Vit. D3 – 4.000 UI; Vit. E – 55 UI; Ácido Pantotênico – 12 mg; Ácido Fólico – 2 mg; Vit. K3 – 3 mg; Vit. B1- 2,3 mg; Vit. B2 – 7,0 mg; Vit. B6 – 4 mg; Vit B12 – 12 µg; Biotina – 0,250 mg; Niacina – 60 mg e Selênio – 0,300 mg.

[§] Suplemento mineral fornecendo por kg da dieta: Iodo – 1 mg; Cobre – 10 mg; Ferro – 50 mg; Zinco – 65 mg; Mangânes – 65 mg.

[¶] Produto comercial composto por: Metionina hidroxi-análoga; Ácido Fumárico; Ácido benzoico.

[⊥] Enzima fitase – atividade analisada = 19.000 FTU/g.

Tabela 5. Atividade enzimática da fitase nas dietas nos diferentes períodos experimentais*.

Tratamentos	Atividade Enzimática (FTU/Kg da dieta)		
	1-21d	26-35d	36-42d
CP	0	0	0
CN 250	0	0	0
CN + 250	270	170	270
CN 500	0	0	0
CN + 500	460	560	580
CN 750	0	0	0
CN + 750	790	750	730
CN 1000	0	0	0
CN + 1000	990	1060	960

*Analisada pelo método MA-110 – Colorimetria – ISO 30024:2009.

Tabela 6. Desempenho produtivo de frangos de corte com e sem suplementação de fitase*.

Tratamento	1-21d				1-35d				1-42d				Viabilidade (%)
	CR † (kg)	GP ‡ (kg)	CA § (kg/kg)	IEP ¶ (%)	CR (kg)	GP (kg)	CA (kg/kg)	IEP	CR (kg)	GP (kg)	CA (kg/kg)	IEP	
CP	1,202 a	0,900 a	1,335 a	320 a	3,283 a	2,179 a	1,507 a	408 a	4,556 a	2,826 a	1,612 a	410 a	98,2
CN 250	1,193 a	0,844 b	1,414 bcd	282 b	3,243 a	2,078 b	1,561 b	374 b	4,501 a	2,709 b	1,662 b	381 b	98,3
CN + 250	1,192 a	0,866 b	1,376 b	297 b	3,287 a	2,122 b	1,526 a	387 b	4,540 a	2,726 b	1,654 b	385 b	98,6
CN 500	1,133 b	0,791 c	1,431 de	263 c	3,142 b	1,980 c	1,586 c	351 c	4,437 b	2,594 c	1,686 bc	361 c	98,4
CN + 500	1,206 a	0,864 b	1,396 bcd	292 a	3,287 a	2,114 b	1,555 b	385 b	4,528 a	2,731 b	1,658 b	389 b	99,0
CN 750	1,129 b	0,764 d	1,463 e	245 d	3,095 b	1,914 d	1,617 d	332 d	4,305 b	2,511 c	1,715 c	341 c	97,7
CN + 750	1,183 a	0,855 b	1,383 bc	293 b	3,262 a	2,094 b	1,557 b	383 b	4,540 a	2,731 b	1,663 b	388 b	99,0
CN 1000	1,117 b	0,764 d	1,462 e	249 d	3,064 c	1,892 d	1,619 d	332 d	4,315 b	2,516 c	1,715 c	348 c	99,5
CN + 1000	1,218 a	0,857 b	1,421 cd	286 b	3,329 a	2,094 b	1,590 c	370 b	4,625 a	2,746 b	1,685 bc	381 b	98,2
CV [⊥] (%)	3,92	3,08	2,51	4,66	2,92	3,00	1,52	4,56	2,78	3,06	1,80	4,72	2,37
P valor <	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,781

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem-se estatisticamente (P<0,05) pelo teste SNK.

† Consumo de ração; ‡ Ganho de Peso; § Conversão alimentar; ¶ Índice de Eficiência Produtiva; [⊥] Coeficiente de Variação.

Tabela 7. Efeito da redução dos níveis nutricionais da matriz de fitase sobre o desempenho de frangos de corte.

Tratamento	1-21d				1-35d				1-42d			
	CR † (kg)	GP ‡ (kg)	CA § (kg/kg)	IEP ¶ (%)	CR (kg)	GP (kg)	CA (kg/kg)	IEP (%)	CR (kg)	GP (kg)	CA (kg/kg)	IEP (%)
CP	1,202	0,900	1,335	320	3,283	2,179	1,507	408	4,556	2,826	1,612	410
CN 250	1,193	0,844	1,411	282	3,243	2,078	1,561	387	4,501	2,709	1,662	381
CN 500	1,133	0,791	1,431	263	3,142	1,980	1,586	351	4,437	2,594	1,686	361
CN 750	1,129	0,764	1,463	245	3,095	1,914	1,617	332	4,305	2,511	1,715	341
CN 1000	1,117	0,764	1,462	249	3,064	1,892	1,619	332	4,315	2,516	1,715	348
CV [⊥] (%)	3,50	2,80	2,58	4,64	2,71	2,74	1,50	4,00	2,65	2,60	1,85	3,51
P valor (linear)	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

† Consumo de ração; ‡ Ganho de Peso, § Conversão alimentar; ¶ Índice de Eficiência Produtiva; [⊥] Coeficiente de variação.

Equação para CR (1-21d): $-0,01340x + 1,21012$. ($R^2 = 41,58\%$).

Equação para GP (1-21d): $-0,01894x + 0,89292$. ($R^2 = 72,31\%$).

Equação para CA (1-21d): $0,01609x + 1,35399$. ($R^2 = 51,07\%$).

Equação para IEP (1-21d): $-9,44299x + 312,01505$. ($R^2 = 67,78\%$).

Equação para CR (1-35d): $-0,03296x + 3,30185$. ($R^2 = 49,50\%$).

Equação para GP (1-35d): $-0,04003x + 2,17705$. ($R^2 = 73,16\%$).

Equação para CA (1-35d): $0,01477x + 1,51501$. ($R^2 = 67,16\%$).

Equação para IPE (1-35d): $-10,23512x + 402,81585$. ($R^2 = 69,44\%$).

Equação para CR (1-42d): $-0,03742x + 4,56701$. ($R^2 = 39,66\%$).

Equação para GP (1-42d): $-0,04433x + 2,81796$. ($R^2 = 67,11\%$).

Equação para CA (1-42d): $0,01382x + 1,61957$. ($R^2 = 53,63\%$).

Equação para IPE (1-42d): $-8,80940x + 405,31074$. ($R^2 = 65,65\%$).

Tabela 8. Efeito da redução dos níveis nutricionais da matriz de fitase sobre a qualidade óssea de frangos de corte.

Tratamento	Tíbias 21d		Tíbias 42d	
	IS † (g/cm ³)	RQ ‡ (Kgf)	IS (g/cm ³)	RQ (Kgf)
CP	0,77	16,43	1,37	34,05
CN 250	0,74	15,47	1,38	28,47
CN 500	0,67	14,25	1,31	27,10
CN 750	0,67	11,01	1,26	24,82
CN 1000	0,66	11,09	1,30	23,01
CV § (%)	7,04	15,32	4,86	15,58
P valor (linear)	0,000	0,000	0,000	0,000

† Índice Seedor; ‡ Resistência à quebra; § Coeficiente de variação.

Equação para IS (21d): $-0,01519x + 0,75886$ ($R^2 = 35,09\%$).

Equação para RQ (21d): $-0,87346x + 17,38297$ ($R^2 = 54,17\%$).

Equação para IS (42d): $-0,01578x + 1,38893$ ($R^2 = 27,99\%$).

Equação para RQ (42d): $-1,32909x + 32,92669$ ($R^2 = 39,13\%$).

Tabela 9. Características de carcaça de frangos de corte com e sem suplementação de fitase*.

Tratamentos	RC † (%)	RP ‡ (%)	GA § (%)
CP	69,77 ab	36,54	2,00
CN 250	70,23 ab	36,03	1,86
CN + 250	71,38 a	36,43	2,02
CN 500	69,64 ab	37,10	1,80
CN + 500	69,98 ab	36,51	1,94
CN 750	68,74 b	35,79	1,94
CN + 750	69,76 ab	37,27	2,17
CN 1000	68,61 b	36,66	1,77
CN + 1000	69,60 ab	37,11	2,13
CV ¶ (%)	2,24	4,46	24,78
P valor <	0,009	0,431	0,552

*Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem-se estatisticamente ($P < 0,05$) entre si pelo teste SNK.

† Rendimento de carcaça; ‡ Rendimento de peito; § Gordura abdominal; ¶ Coeficiente de variação.

Tabela 10. Características ósseas de frangos de corte aos 21 e 42 dias com e sem suplementação de fitase*.

Tratamentos	Tíbia 21 dias				Tíbia 42 dias			
	IS † (g/cm ³)	RQ ‡ (Kgf)	MM (g/tibia) §	MM % ¶ (%)	IS (g/cm ³)	RQ (Kgf)	MM (g/tibia)	MM % (%)
CP	0,77 a	16,43 ab	0,65	53,12	1,37 a	34,05 a	2,15	54,83
CN 250	0,74 a	15,90 ab	0,61	53,03	1,38 a	28,47 abc	2,18	54,65
CN + 250	0,74 a	15,47 ab	0,65	54,92	1,40 a	31,14 ab	2,34	53,24
CN 500	0,67 b	14,25 b	0,64	56,17	1,31 ab	27,10 bc	2,27	54,06
CN + 500	0,74 a	17,03 ab	0,62	53,20	1,38 a	33,47 ab	2,41	53,03
CN 750	0,67 b	11,01 c	0,62	53,67	1,26 b	24,82 c	2,29	53,05
CN + 750	0,74 a	16,86 ab	0,66	54,49	1,30 ab	32,70 ab	2,28	52,94
CN 1000	0,66 b	11,09 c	0,67	53,68	1,30 ab	23,01 c	2,14	55,36
CN + 1000	0,74 a	17,86 a	0,64	52,56	1,37 a	32,71 ab	2,14	54,47
CV [⊥] (%)	6,27	16,00	16,43	5,39	5,73	17,35	11,99	4,25
P valor <	0,000	0,000	0,901	0,183	0,000	0,000	0,232	0,115

*Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem-se estatisticamente (P<0,05) entre si pelo teste SNK.

† Índice Seedor; ‡ Resistência à quebra; § Matéria mineral peso por tíbia; ¶ Porcentagem de matéria mineral; [⊥] Coeficiente de variação.

Tabela 11. Digestibilidade de nutrientes para frangos de corte com e sem suplementação de fitase na dieta*.

Tratamentos	18-21 dias				39-42 dias			
	CDMS †	CDPB ‡	CDCa§	CDPt ¶	CDMS	CDPB	CDCa	CDPt
CN 250	70,58	69,68	51,15 bc	49,52 d	72,87	69,69	65,66 ab	82,11 bc
CN + 250	73,41	76,13	59,76 b	76,12 a	76,74	73,04	64,65b	79,54 c
CN 500	71,14	75,84	44,85 c	61,33 c	75,37	77,22	70,45 ab	83,93 abc
CN + 500	72,24	75,53	61,39 ab	72,09 ab	74,98	72,31	65,84 ab	84,10 abc
CN 750	69,54	75,25	45,81 c	61,77 bc	74,86	70,63	66,43 ab	84,87 abc
CN + 750	72,22	75,93	72,93 a	73,93 a	76,58	74,01	71,00 ab	88,12 ab
CN 1000	71,50	77,06	42,01 c	67,87 abc	75,97	73,36	67,09 ab	83,34 abc
CN + 1000	74,20	78,30	60,22 b	73,33 a	76,00	71,73	71,79 a	89,73 a
CV [±] (%)	5,87	6,25	12,44	7,48	2,73	5,43	5,36	4,77
P valor <	0,621	0,195	0,000	0,000	0,101	0,106	0,005	0,003

*Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem-se estatisticamente (P<0,05) entre si pelo teste Tukey.

† Coeficiente de digestibilidade de matéria seca; ‡ Coeficiente de digestibilidade de proteína bruta; §Coeficiente de digestibilidade de cálcio; ¶ Coeficiente de digestibilidade de fósforo total; ± Coeficiente de variação.