

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOÍAS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**NÍVEIS DE FITASE E REDUÇÃO DE CÁLCIO EM DIETAS DE
FRANGOS**

Miliane Alves da Costa
Orientador: Prof. Dr. José Henrique Stringhini

Goiânia
2019



PRPG
PRÓ-REITORIA DE
PÓS-GRADUAÇÃO



**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: [] Dissertação [x] Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

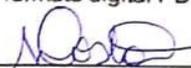
Nome completo do autor: MILIANE ALVES DA COSTA

Título do trabalho: NÍVEIS DE FITASE E REDUÇÃO DE CÁLCIO EM DIETAS DE FRANGOS

3. Informações de acesso ao documento:

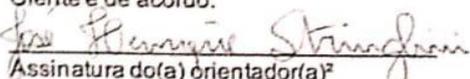
Concorda com a liberação total do documento [X] SIM [] NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.



Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 30 / 12 / 2019

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² A assinatura deve ser escaneada.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOÍAS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**NÍVEIS DE FITASE E REDUÇÃO DE CÁLCIO EM DIETAS DE
FRANGOS**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Zootecnia junto à Escola de
Veterinária e Zootecnia da Universidade
Federal de Goiás

Área de Concentração:
Produção Animal

Orientador:
Prof. Dr. José Henrique Stringhini-UFG

Comitê de Orientação:
Prof. Dra. Fabyola Barros de Carvalho-UFG
Prof. Dr. Marcos Barcellos Café-UFG

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Alves da Costa, Miliane
NÍVEIS DE FITASE E REDUÇÃO DE CÁLCIO EM DIETAS DE
FRANGOS [manuscrito] / Miliane Alves da Costa. - 2019.
xv, 88 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. José Henrique Stringhini; co-orientador Dr. Marcos Barcellos Café; co-orientador Dr. Fabyola Barros de Carvalho.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Goiânia, 2019.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, fotografias, abreviaturas, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. fitato. 2. peito amadeirado. 3. inositol. 4. resistência óssea. I. Stringhini, José Henrique, orient. II. Título.

CDU 635

30/12/2019

SEI/UFG - 1048127 - Ata de Defesa de Tese



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata nº 37 da sessão de Defesa de Tese de **MILIANE ALVES DA COSTA** que confere o título de **Doutor (a) em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**, na área de concentração em **Produção Animal**.

Aos seis dias do mês de dezembro de dois mil e dezenove, a partir das 13h30min, na Escola de Veterinária e Zootecnia, Departamento de Zootecnia, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada “**Níveis de fitase e redução de cálcio em dietas de frangos**”. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador Professor Doutor Jose Henrique Stringhini com a participação dos demais membros da Banca Examinadora, Professores Doutores: Michele Laboissiere – UEG/SMBelos-GO, membro titular externo; Alexandre Barbosa de Brito - ABVista do Brasil -SP/SP, membro titular externo; Roberto de Moraes Jardim Filho - São Salvador Alimentos, Itaberaí-GO, membro titular interno e Nadja Susana Mogyca Leandro - EVZ/UFG, membro titular interno. Durante a arguição os membros da banca não fizeram sugestão de alteração do título do trabalho conforme explicitado abaixo. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese tendo sido a candidata aprovada pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Professor Doutor Jose Henrique Stringhini, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, Aos seis dias do mês de dezembro de dois mil e dezenove.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **José Henrique Stringhini, Professor do Magistério Superior**, em 06/12/2019, às 17:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Nadja Susana Mogyca Leandro, Professor do Magistério Superior**, em 06/12/2019, às 17:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Roberto de Moraes Jardim Filho, Usuário Externo**, em 06/12/2019, às 17:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Alexandre Barbosa de Brito, Usuário Externo**, em 06/12/2019, às 17:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **MICHELE LABOISSIERE, Usuário Externo**, em 10/12/2019, às 09:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

30/12/2019

SEI/UFMG - 1048127 - Ata de Defesa de Tese



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site
[https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?
acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1048127** e
o código CRC **03A6FBF7**.

Referência: Processo nº 23070.044171/2019-31

SEI nº 1048127

AGRADECIMENTOS

Primeiro agradeço a Deus, pelo privilégio de viver, sonhar e de alcançar esta grande conquista.

Meus sinceros agradecimentos aos meus pais, a minha mãe Aparecida Alves da Costa e ao meu pai Antônio José Alves por serem meus maiores incentivadores, por acreditar nos meus sonhos, pela confiança nas minhas tomadas de decisões e por serem meu porto seguro. Amo infinitamente vocês.

Sou grata também aos meus queridos e preciosos irmãos, Bruno Alves e Mirian Alves pelo incentivo, apoio, confiança e amizade.

Ao meu querido e sábio orientador José Henrique Stringhini, pela dedicação, disposição, orientação e profissionalismo durante a realização deste trabalho.

Aos professores coorientadores, Fabyola Barros de Carvalho e Marcos Barcelos Café, pela disposição, vontade e ajuda no meu crescimento profissional.

Aos meus amigos de doutorado: Deibity Cordeiro, Maryelle Durães, Regina Fialho, Pedro Rezende, Saulo Diogo, Thiago Silva e Lindolfo Dorcino pela colaboração indispensável no dia-a-dia e na condução do trabalho de pesquisa.

Aos meus colegas, os alunos bolsistas de iniciação científica: Itallo Silva, Laís Montel, pela ajuda indispensável para conclusão do meu trabalho de pesquisa.

Aos meus amigos Vitor Magalhães e Tawanne Magalhães pela parceira e pelos sorrisos sinceros.

Ao Ranieri Torsinelli, por ser um ouvinte atento, pelo apoio e pela valorização sempre tão entusiasta do meu trabalho.

Aos professores da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás que se dedicaram e compartilharam suas experiências, e conhecimentos, oferecendo uma formação completa.

A FAPEG – Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Goiás - pelo apoio financeiro por meio da bolsa concedida.

A empresa ABVista pela credibilidade e parceria com os recursos financeiros para realização dos experimentos.

A empresa São Salvador Alimentos pela parceria para realização dos experimentos.

E para aqueles que de maneira direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento dos experimentos.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”

José de Alencar

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	
1.1 Importância do cálcio e fósforo para frangos de corte.....	14
1.2 Ácido fítico e efeitos antinutricionais.....	16
1.3 Enzima fitase.....	17
1.4 Interação cálcio, fósforo e fitase.....	18
1.5 Superdosagem de fitase.....	20
1.6 Referências.....	23
CAPÍTULO 2. DESEMPENHO, RENDIMENTO DE CARÇA E PARÂMETOS SANGUÍNEOS DE FRANGOS ALIMENTADOS COM NÍVEIS DE CÁLCIO E FITASE	
RESUMO	30
ABSTRACT	31
2.1 Introdução.....	32
2.2 Material e Métodos.....	33
2.3 Resultados	40
2.4 Discussão	46
2.5 Conclusão.....	49
2.6 Referências.....	50
CAPÍTULO 3. EFEITO DA REDUÇÃO DO CÁLCIO E NÍVEIS DE FITASE NA QUALIDADE DA CARNE DE FRANGOS DE CORTE	
RESUMO	54
ABSTRACT	55
3.1 Introdução.....	56
3.2 Material e Métodos.....	57
3.3 Resultados	66
3.4 Discussão	72
3.5 Conclusão.....	75
3.6 Referências.....	76
CAPÍTULO 4. CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS DE FRANGOS ALIMENTADOS COM REDUÇÃO DO CÁLCIO E NÍVEIS DE FITASE	
RESUMO	79
ABSTRACT	80
4.1 Introdução.....	81
4.2 Material e Métodos.....	82
4.3 Resultados	89
4.4 Discussão	91
4.5 Conclusão.....	94
4.6 Referências.....	95
CAPÍTULO 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	
	98

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais da fase pré-inicial (1- 7 dias)	35
Tabela 2 - Composição das dietas experimentais da fase inicial (8 – 21 dias)	36
Tabela 3 - Composição das dietas experimentais da fase de crescimento (21-35 dias)..	37
Tabela 4 - Composição das dietas experimentais da fase final (35 – 42 dias)	38
Tabela 5 - Desempenho de frangos de corte na fase pré-inicial (1-7 dias) alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase	40
Tabela 6 - Desempenho de frangos de corte aos 21 (1-21 dias) alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase.....	41
Tabela 7 -Desdobramento da interação para as variáveis ganho de peso, peso final e consumo de ração de frangos aos 21 dias de idade alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase.....	42
Tabela 8 - Desempenho de frangos de corte aos 35 (1 a 35dias) alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase.....	42
Tabela 9 - Desempenho de frangos de corte aos 42 (1 a 42 dias) alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase.....	43
Tabela 10 - Desdobramento da interação do consumo de ração e conversão alimentar de frangos aos 42 dias de idade alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase.....	43
Tabela 11- Rendimento de carcaça e cortes de frangos de corte alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase aos 42 dias de idade.....	44
Tabela 12- Desdobramento da interação do rendimento de carcaça de frangos de corte aos 42 dias de idade alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase.....	45
Tabela 13- Parâmetros sanguíneos de frangos de corte alimentados com diferentes inclusões de cálcio e de fitase	45
Tabela 14- Desdobramento da interação da concentração de Albumina e Proteína sanguínea de frangos de corte aos 42 dias de idade alimentados com diferentes relações cálcio/fósforo e suplementados com doses de fitase	46

Capítulo 3

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais da fase pré-inicial (1- 7 dias)	58
Tabela 2 - Composição das dietas experimentais da fase inicial (8 – 21 dias)	59
Tabela 3 - Composição das dietas experimentais da fase de crescimento (21-35 dias)..	60
Tabela 4 - Composição das dietas experimentais da fase final (35 – 42 dias)	61
Tabela 5 - Qualidade da carne de frangos alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase aos 42 de idade	66
Tabela 6 - Desdobramento da interação da Perda de Líquido por Cocção e Maciez da carne de frango aos 42 dias de idade alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase	67
Tabela 7 - Análise histopatológica do músculo de frangos de corte alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase.....	69
Tabela 8 - Composição química do músculo peitoral de frangos alimentados com redução do cálcio e níveis de fitase.....	71

Capítulo 4

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais da fase pré-inicial (1- 7 dias)	84
Tabela 2 - Composição das dietas experimentais da fase inicial (8 – 21 dias)	85
Tabela 3 - Composição das dietas experimentais da fase de crescimento (21-35 dias)..	86
Tabela 4 - Composição das dietas experimentais da fase final (35 – 42 dias)	87
Tabela 5- Qualidade óssea de frangos alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase aos 21 dias de idade	89
Tabela 6- Desdobramento da Interação do peso da tíbia de frangos 21 dias alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase	89
Tabela 7- Qualidade óssea de frangos alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase aos 42 dias de idade	90
Tabela 8- Concentração mineral e resistência óssea da tíbia de frangos alimentados com redução de cálcio e suplementados com níveis de fitase aos 42 dias de idade..	91
Tabela 9 - Desdobramento da interação da resistência óssea de frangos aos 42 dias alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase.....	91

LISTA DE FIGURAS**Capítulo 3**

- Figura 1 - Análise macroscópica da musculatura do peito de frangos de corte aos 42 dias de idade.....62
- Figura 2 - Incidência de peito amadeirado (%) em frangos de corte aos 42 dias de idade alimentados com alimentos com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase67
- Figura 3 - Efeito da fitase na incidência de peito amadeirado (%) em frangos de corte aos 42 dias de idade68
- Figura 4 - Redução dos níveis de cálcio e incidência de peito amadeirado (%) em frangos de corte aos 42 dias de idade69

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Ca- Cálcio

CV- Coeficiente de variação

Fe- Ferro

FTU- Unidade de fitase ativa

IP6- mio-inositol hexafosfato

IP5- mio-inositol pentafosfato

IP4- mio-inositol tetrafosfato

IP3- mio-inositol trifosfato

IP2- mio-inositol difosfato

PIP- mio-inositol fosfato

IP- fosfatidilinositol

Na-K-ATPase- bomba sódio-potássio

P- Fósforo

Zn - zinco

RESUMO

Dois experimentos foram conduzidos no Departamento de Avicultura da Universidade Federal de Goiás para avaliar a inclusão de diferentes níveis de fitase e redução dos níveis de cálcio em dietas de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade. No primeiro experimento o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos, oito repetições e 18 aves em cada parcela. No segundo experimento o delineamento experimental foi inteiramente casualizado e em esquema fatorial com seis tratamentos, seis repetições e 10 aves em cada parcela, sendo os tratamentos três níveis de Ca (100%, 82% e 64%) e duas inclusões de fitase 750FTU/kg e 1500FTU/kg de ração. Considerou-se o nível de 1,011% como 100% das recomendações de cálcio para fase pré-inicial, 0,907% para a inicial, 0,822% para crescimento e 0,661% para a fase final, já considerando a valorização da fitase para a liberação de fósforo. A análise dos dados foi realizada utilizando o procedimento de análise de variância a 5% de probabilidade e comparadas pelo teste de Scott-Knott. A superdosagem de fitase melhorou ganho de peso de consumo de ração. No primeiro experimento, aos 21 dias de idade a redução de 36% de cálcio e suplementação de 1500FTU de fitase proporcionou maior peso final, ganho de peso e consumo de ração. Aos 42 dias, a suplementação de 1500FTU de fitase melhorou o peso final, ganho de peso e conversão alimentar. A redução da inclusão de cálcio melhorou a conversão alimentar. A suplementação de 1500FTU de fitase e redução de cálcio em 18%, apresentaram maior rendimento de carcaça. A superdosagem de fitase (1500FTU/kg de ração) proporcionou aumento no comprimento, diâmetro, peso e resistência óssea de frango com 21 dias de idade. Quanto à qualidade óssea dos frangos aos 42 dias de idade, houve efeito apenas do fator fitase para comprimento e diâmetro de ossos. Quando as aves foram suplementadas com 1500FTU de fitase/kg de ração, não houve efeito dos níveis de cálcio em relação a resistência a quebra dos ossos. No primeiro experimento, a redução da inclusão de cálcio nas dietas reduziu a perda de líquido por cocção, e aumentou a força de cisalhamento da carne de peito de frango. A inclusão de 1500FTU de fitase proporcionou menor perda de líquido por descongelamento. A redução da inclusão de cálcio associada com a suplementação de fitase diminuiu a força de cisalhamento. No segundo experimento, não houve efeito dos níveis de cálcio e suplementação de enzima fitase sobre a incidência de peito amadeirado aos 42 dias de idade. Em relação as avaliações histopatológicas, no segundo experimento, os tratamentos não foram efetivos na ação sobre a qualidade da carne. A redução da suplementação de cálcio em até 36% com inclusão de 1500 FTU/kg de fitase podem ser utilizados sem efeitos adversos no desempenho, qualidade óssea e qualidade da carne de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Palavras-chave: fitato, peito amadeirado, inositol, resistência óssea

ABSTRACT

Two experiments were conducted at the Poultry Department of the Federal University of Goiás to evaluate the inclusion of different phytase doses and reduction of calcium levels in diets of broiler chickens from 1 to 42 days old. In the first experiment the experimental design was completely randomized with six treatments, eight replications and 18 birds in each plot. In the second experiment the experimental design was completely randomized with six treatments, six replications and 10 birds in each plot. The treatments consisted of three levels of Ca (100%, 82% and 64%) and two phytase inclusions 750FTU / kg and 1500FTU/kg of feed. The 1.011% level was considered as 100% of the calcium recommendations for the pre-initial phase, 0.907% for the initial, 0.822% for growth and 0.661 for the final phase. For the phosphorus (P) requirement in the diet, the requirement of each phase was reduced by 0.150% for the treatments. Phytase overdose improved feed intake weight gain. In the first experiment, at 21 days of age, 36% calcium reduction and phytase supplementation of 1500FTU provided higher final weight, weight gain and feed intake. At 42 days, 1500FTU phytase supplementation improved final weight, weight gain and feed conversion. Reducing calcium inclusion improved feed conversion. Phytase supplementation of 1500FTU and calcium reduction by 18% showed higher carcass yield. In the first experiment, phytase superdosing (1500FTU / kg of feed) increased the length, diameter, weight and bone strength of 21-day-old chicken. Regarding bone quality of broilers at 42 days of age, there was only effect of phytase factor for bone length and diameter. When birds were supplemented with 1500FTU phytase / kg feed, there was no effect of calcium levels on bone breaking strength. In the first experiment, reducing calcium inclusion in diets reduced cooking fluid loss and increased shear force of chicken breast meat. The inclusion of 1500FTU of phytase provided less liquid loss by thawing. The reduction in calcium inclusion associated with phytase supplementation decreased shear strength. In the second experiment, there was no effect of calcium levels and phytase enzyme supplementation on the incidence of woody breast at 42 days of age. Regarding the histopathological evaluations, in the second experiment, the treatments were not effective in the action on meat quality. Up to 36% reduction in calcium supplementation with inclusion of 1500 FTU / kg phytase can be used without adverse effects on performance, bone quality and meat quality of 42-day-old broilers.

Keywords: phytate, woody breast, inositol, bone strength.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1.1 Importância do cálcio e fósforo para frangos de corte

Os minerais possuem papel importante na nutrição de frangos de corte, e a deficiência ou excesso dietético impossibilita a expressão do máximo desempenho na fase de crescimento¹. O cálcio destaca-se por ser o nutriente mineral mais abundante no corpo animal e é um elemento chave, pois no meio intracelular é o segundo mensageiro e regulador de processo celulares e no meio extracelular regula a excitabilidade neural e compõe a porção mineral do osso².

O cálcio é disponibilizado para frangos por meio da suplementação alimentar e pode ser encontrado em fontes orgânicas e inorgânicas. Existem, ainda, inúmeras funções biológicas dos quais participa, o que torna o Ca^{2+} dietético extremamente importante^{2,3,4}.

Os nutricionistas normalmente não se preocupam com o excesso de cálcio na ração visto a baixa toxicidade e o baixo custo que representa. No entanto, vários estudos mostraram que o desempenho de frangos de corte é afetado pelo excesso de cálcio na ração, pois provoca desequilíbrio de outros minerais da ração como, ferro, cobre, zinco, magnésio, sódio, potássio e, principalmente, o fósforo⁵.

A deposição de cálcio no esqueleto das aves é maior na fase de crescimento. Assim, o conteúdo de cálcio no organismo dos pintos aumenta de maneira rápida na fase inicial, chegando ao final do primeiro mês de vida a 80% do total de cálcio da ave adulta. A suplementação de cálcio inadequada na fase de crescimento terá como consequência o desequilíbrio na homeostase mineral e desenvolvimento inapropriado dos ossos das aves^{2,6}.

O cálcio ocorre abundantemente na natureza e as fontes minerais mais utilizadas são calcários calcítico ou dolomítico, carbonato, sulfato e fluoreto de cálcio, tendo estas fontes valores de biodisponibilidade variáveis¹. Esta grande variação da disponibilidade do cálcio nos alimentos deve-se principalmente à composição química e associação física do cálcio com outros componentes, formando em alguns casos compostos de baixa solubilidade e disponibilidade^{6,7}, sendo a disponibilidade relativa de cálcio para fosfato bicálcico em 99%, calcário calcítico em 84%⁸. Segundo o NRC⁹, a biodisponibilidade de cálcio no calcário dolomítico varia de 50 a 75 %, enquanto para o calcário calcítico esta situa-se próximo de 90%. Tais variações devem-se ao fato do calcário calcítico possuir cristais com alternadas camadas de íons cálcio e carbonato (calcita), enquanto, no calcário

dolomítico o magnésio substitui parte do cálcio, resultando em cristais mais densos e menos solúveis, além do magnésio também ser antagonico ao cálcio, podendo influenciar o mecanismo de absorção intestinal.

O fósforo (P) é um mineral estrutural muito importante para garantir o crescimento e saúde dos animais participando tanto da estrutura quanto das diversas funções bioquímicas e fisiológicas das células. Sua principal função no organismo é de formação da estrutura óssea na construção e manutenção do esqueleto animal dando suporte aos órgãos e músculos^{10,11}.

No osso, o fósforo está combinado com o cálcio na forma de hidroxiapatita. Age no equilíbrio acidobásico dos fluidos pelo sistema-tampão fosfato. Atua como constituinte de fosfolipídios estruturais nas membranas celulares tornando-se necessário para absorção, movimentação, deposição e utilização das gorduras no organismo^{2,12,13}.

Também é essencial para que ocorra a absorção de glicídios, é fonte de energia para processos metabólicos como contração muscular, condução de impulso neural e transporte epitelial, sendo armazenado em ligações de fosfato de alta energia na adenosina trifosfato (ATP). Também participa do metabolismo de proteínas, de outros minerais e sua deficiência causa percas econômicos, por afetar principalmente o desenvolvimento ósseo^{11,12}.

No processo de absorção do P existe a necessidade do equilíbrio entre os íons cálcio e fósforo no trato intestinal, para que a absorção se processe normalmente, equilíbrio que se convencionou chamar de relação cálcio fósforo que em seus termos gerais se situa entre 2:1^{12,15,16}.

Em virtude da natureza estática da razão Ca:P encontrada nos ossos, os efeitos do metabolismo do cálcio relacionados com a absorção e reabsorção óssea podem refletir nas concentrações de fósforo no sangue^{12,16}. Em animais jovens, a mineralização e crescimento ósseo ocorrem de forma independente do fósforo dietético, enquanto nos animais adultos, a utilização de reservas desse mineral é menos eficiente que a utilização do cálcio².

O fósforo exerce suas funções por meio de interações com o cálcio. Segundo Vargas et al.¹⁷ e Pinto et al.¹⁸, o fósforo exerce ação significativa no metabolismo do cálcio e nas reações do equilíbrio ácido-básico. Nos ossos realiza papéis decisivos na performance das atividades osteoblásticas (construção óssea) e osteoclásticas (destruição óssea) sendo o segundo mineral mais abundante no corpo onde 80% do seu total encontra-se no esqueleto.

1.2 Ácido fítico e efeitos antinutricionais

As rações para aves são compostas basicamente com ingredientes vegetais, entretanto, as plantas armazenam a maior parte do fósforo na forma de fitato¹⁴. O fósforo se encontra em média com apenas 34% na forma disponível e aproximadamente 66% sob a forma de ácido fítico, sendo seus sinônimos fitato, hexafosfato de mioinositol hexafosfato, IP6, InP6 ou seus ésteres menores Ins (1,2,3,4,5,6) nos ingredientes vegetais^{10,19,20}, diferindo apenas se está na forma livre ou complexada²¹.

O ácido fítico é uma forma orgânica de apresentação de fósforo nas plantas, (C₆H₁₈O₂₄P₆)²² e pode ser encontrado principalmente nas sementes das plantas em concentrações variáveis sendo composto por seis grupos de fosfato ligados negativamente a 12 átomos de hidrogênio em um anel de inositol^{22,23,24}. Nas células vegetais, a função do ácido fítico está relacionada com a sinalização da transmembrana e a mobilização de minerais para as reservas intracelulares^{25,26}.

O ácido fítico apresenta alto poder de quelatação e com isso pode interagir e quelar com vários componentes alimentares no trato digestório dos animais monogástricos. Estas interações podem estar sujeitas a alguns fatores tais como o pH do aparelho digestório, presença de outros alimentos que competem com o ácido fítico e as ligações minerais²⁷.

Em geral, os quelatos de fitato com minerais são solúveis em pH menor que 3,5. O intestino delgado das aves possui um ambiente próximo a neutralidade²⁸ e isso favorece a formação de quelatos de fitato com minerais como, cálcio, ferro, zinco, cobre, potássio e manganês da dieta, diminuindo assim a disponibilidade e aumentando a excreção desses nutrientes^{26,29,30,31,32}.

Em pH baixo, o fitato forma ligações eletrostáticas com resíduos básicos como a arginina, lisina e histidina resultando num complexo insolúvel e inibe a ação de enzimas proteolíticas (pepsina e tripsina) no trato gastrointestinal, assim os complexos fitato-proteína/aminoácido e fitato-mineral-proteína se tornam de difícil digestão, reduzindo a utilização de proteínas, principalmente na porção inicial do trato gastrointestinal^{11,33,34}.

Cowieson et al.³⁰ afirmaram que o fitato tem capacidade de alterar o *turnover* das células intestinais, e aumentar a produção de mucinas e conseqüentemente a perda de nitrogênio endógeno. Isto ocorre porque o organismo secreta mais ácido clorídrico (HCl) para a ativação da pepsina, uma vez que o fitato diminui a hidrólise das proteínas e o metabolismo dos animais tenta compensar essas perdas de digestibilidade.

De acordo com Liu et al.²⁶ o fitato presente no farelo de arroz e gérmen de milho foi capaz de reduzir a atividade de pepsina na moela, a tripsina no duodeno, e alanil-aminopeptidases no jejuno em frangos com 21 dias de idade.

De acordo com Dersjant-Li et al.³³ o ácido fítico pode aumentar a perda endógena de minerais, como o sódio, interferindo assim na atividade da Na-K-ATPase no trato gastrointestinal das aves, que está envolvida na absorção de nutrientes.

Em virtude da reduzida disponibilidade de fósforo nos ingredientes de origem vegetal e da produção insuficiente de fitase endógena pelas aves para hidrolisar o fitato e liberar fósforo, maior quantidade de fósforo de origem inorgânicas e farinhas de origem animal são adicionadas nas dietas das aves, o que ocasiona maior custo de produção e maior excreção de fósforo orgânico para o meio ambiente²².

Visto as propriedades antinutricionais do fitato, a biodisponibilidade dos nutrientes da dieta é reduzida, parcela que se torna indisponível para o aproveitamento do organismo das aves e é eliminada nas excretas. Esse material se acumula na cama do frango, que pode causar aumento do crescimento da população de bactérias patogênicas e prejudicar o desempenho das aves³⁵.

Além de reduzir a disponibilidade do fósforo e contribuir para a poluição do meio ambiente através das excretas com alto teor desse oneroso nutriente, o fitato é capaz de reduzir a disponibilidade de outros minerais e proteínas³⁶.

Nesse sentido, algumas enzimas exógenas podem ser utilizadas na nutrição animal objetivando principalmente inibir os fatores antinutricionais dos ingredientes, proporcionando melhor aproveitamento dos nutrientes e conseqüentemente redução na excreção dos mesmos²⁹.

1.3 Enzima fitase

As fitases pertencem à classe de fosfatases que catalisam a degradação do ácido fítico em fosfato inorgânico e derivados de fosfato de mio-inositol³⁷. É uma estratégia nutricional que aumenta a eficiência na absorção dos nutrientes, melhora o desempenho animal e reduz o impacto ambiental causado pelos excrementos eliminados.

As fitases são enzimas exógenas usadas na alimentação de aves e são capazes de catalisar a degradação de fitato (mio-inositol hexafosfato) liberando o ortofosfato e fosfatos de inositol para serem absorvidos²⁹. A fitase catalisa a remoção gradual do fosfato do ácido fítico ou de seus fitato de sal. A hidrólise do grupo fosfato começa com

um ácido fítico totalmente fosforilado (IP6), seguido de penta- (IP5), tetra- (IP4), tri- (IP3), di e monoésteres do inositol em descendentes ordem de preferência. A hidrólise completa do ácido fítico resultará em um mio-inositol e fosfato (mais aminoácidos, minerais e outros nutrientes ligados ao ácido fítico)³⁸.

Ao hidrolisar o fitato, a enzima libera o fósforo, a fitase melhora a assimilação pelo animal e reduz os impactos negativos da excreção de minerais para o meio ambiente^{29,33,39}.

As fitases exógenas têm sido usadas comercialmente como ferramenta para reduzir o impacto ambiental da produção e melhorar a rentabilidade da cadeia produtiva de aves e suínos desde a década de 90²⁸. A fitase microbiana é a enzima exógena mais utilizada na alimentação de animais monogástricos³³. Essa enzima é capaz de auxiliar a absorção de fósforo fítico e aproximadamente dois terços do fósforo presente na dieta dos animais monogástricos é eliminado nas excretas⁴⁰.

Além da capacidade de liberar fósforo e reduzir os efeitos anti-nutricionais do fitato, as adições de fitase microbiana nas dietas avícolas melhoram a utilização de outros nutrientes, incluindo minerais e proteínas (aminoácidos)^{28,30,32}. Com a inclusão de fitase é possível reduzir os níveis de minerais, proteína e/ou aminoácidos e energia nas dietas, mantendo satisfatoriamente o desempenho⁴¹.

A membrana intestinal da mucosa no trato digestório da ave pode produzir fitase, porém, em quantidades insuficientes para que tenha hidrólise eficaz de fitatos dietéticos^{30,42,43}, sendo crucial a suplementação exógena dessa enzima nas dietas de frangos de corte. Fitases ativas foram observadas na membrana borda em escova do intestino delgado de frangos de corte^{44,45}. Além da produção endógena de fitase ser insuficiente, seu efeito pode ser influenciado por diversos fatores, como número de cargas iônicas no fosfato de mio-inositol, pH intestinal e características da dieta^{21,44,46}.

1.4 Interação cálcio, fósforo e fitase

O excesso ou a redução de cálcio na dieta pode interferir na disponibilidade de outros minerais como fósforo, magnésio, manganês e zinco, causando deficiência secundária. Normalmente, a relação Ca:P disponível é de 2:1 na alimentação de frangos de corte, porém, esta relação pode ser alterada pela influência da atividade de enzima fitase^{32,47}.

O excesso de cálcio na ração pode prejudicar a disponibilidade de outros minerais, por elevar o pH no conteúdo do inglúvio, do íleo, diminuir a solubilidade dos minerais e afetar negativamente a fitase, podendo anulá-la e, em consequência, causar deficiência de fósforo em rações suplementadas com fitase^{32,48}.

A elevação da proporção Ca: P disponível piora o desempenho de frangos alimentados com rações à base de milho e farelo de soja suplementados com enzima fitase⁴⁹, provavelmente por causa da formação do fitato de cálcio, que precipita e não pode ser hidrolizado pela fitase.

A interação de cálcio e fitase foi questionada por Selle et al.³², pois altas concentrações de cálcio podem se precipitar na forma de fitato de cálcio, complexo insolúvel no intestino que impede a atuação da fitase por causa da competição do cálcio com os sítios ativos da enzima.

Walk et al.⁴⁹ afirmaram que a suplementação com fitase reduziu a influência negativa da ampla relação Ca:P, que resultou em melhoria nas características de desempenho, digestibilidade do fósforo, cálcio, Nitrogênio e energia digestível. Esses autores ainda observaram que, os níveis de 0,90 e 0,75% de cálcio apresentam menor energia digestível e digestibilidade de nitrogênio, quando comparado aos demais níveis. Isto ocorreu provavelmente pela capacidade tampão do incremento nos níveis de inclusão de cálcio, o que pode ter reduzido a eficácia da pepsina que tem atividade ótima em pH 2,8 e assim, reduziu a digestibilidade de nitrogênio.

O o impacto do cálcio e fitase microbiana afetam a utilização de fósforo em frangos de corte. O papel do cálcio é contrastado, pois possui efeito digestivo deletério na utilização de fósforo, mas permanece essencial para sua deposição nos ossos. O efeito da fitase na liberação de fósforo disponível é um conceito consolidado e existe um consenso de que a menor relação Ca: P deve ser utilizada para otimizar a eficiência da enzima²⁸.

Níveis elevados de cálcio na ração reduzem a absorção de cálcio, fósforo, zinco (Zn) e manganês (Mn), mesmo com a adição da enzima fitase na dieta e com o baixo teor de fósforo total. Assim, além da redução de suplementação de fósforo inorgânico nas rações, há também necessidade de reduzir a suplementação de cálcio, de acordo com Fukayama et al.⁵⁰.

A ligação do fitato ao cálcio está relacionada à composição do éster de fitato, com uma diminuição desproporcional na capacidade de fitato para ligar cálcio. Por exemplo, o IP₃ possui aproximadamente 11% da afinidade de ligação ao cálcio⁵¹. Assim, a rápida

remoção de IP_6 e IP_5 no estômago reduzirá significativamente a ligação de cálcio no intestino delgado das aves.

A razão Ca: P e o teor de fósforo inorgânico na dieta pode ter impacto na taxa de liberação de P inorgânico do fitato pela fitase. Como discutido acima, o fitato pode se ligar a cátions bivalente Zn^{2+} como Fe^{3+} e Ca^{2+} no intestino delgado e reduzir a solubilidade do fitato e sua acessibilidade pela fitase. Em geral, por margem de segurança ou pelo custo da fonte de cálcio nas dietas das aves, a ração animal contém grandes quantidades de cálcio. Por esse motivo, o teor de cálcio na dieta pode ter grande impacto na utilização de fósforo e eficácia da fitase⁵².

De acordo com Woyengo e Nyachoti⁵³, as fitases hidrolisam eficientemente o fitato na região proximal trato intestinal sendo menos propenso a inibição em dietas com altos níveis de cálcio, pois a formação do fitato de cálcio ocorre principalmente no intestino delgado que é a região onde o pH está acima de 5. Portanto, o efeito negativo de cálcio de degradação do fitato pode ser reduzida usando a fitase que é altamente eficiente em pH baixo e com alta dosagem.

O cálcio parece ser o fator-chave que influencia a atividade da fitase na mucosa intestinal de frangos. O efeito mais provável é a repressão direta da atividade da fitase, pela competição do cálcio pelos sítios ativos da enzima⁵⁴. Tanto o nível de cálcio quanto o nível de fósforo podem influenciar a utilização do fósforo fítico, pois aves que consomem dietas com baixos níveis de fósforo e cálcio possuem maior capacidade para hidrolisar o fitato^{55,56}.

1.5 Superdosagem de fitase

A fitase exógena tem sido utilizada com sucesso para liberar fósforo e outros nutrientes presentes nas dietas dos frangos de corte. A dose de fitase que é utilizada na nutrição convencional de aves é de 500 FTU/kg^{33,57,58}. Por todo efeito antinutricional do fitato e seus efeitos na utilização dos nutrientes pelos animais, conforme discutido anteriormente, estudos com maiores níveis de fitase têm sido realizados e colaborado com resultados diversos na literatura^{46,55,59,60,61}.

A inclusão de 500FTU/kg de fitase microbiana é capaz de degradar aproximadamente 45-60% do fitato das dietas de frangos de corte. Dessa forma, o uso de doses maiores dosagens de fitase (1000 – 2000 FTU/kg) tem sido estudada para que ocorra hidrólise acima de 60% do fitato³³.

O preço da enzima, pode permitir sua maior inclusão na dieta de frangos de corte como estratégia nutricional para reduzir a inclusão de certos ingredientes, diminuir o custo de formulação e, por conseguinte, reduzir a excreção de poluentes ao ambiente⁶².

Muito se tem discutido que é possível que grande parte do benefício dessa superdosagem da fitase esteja relacionada à produção do inositol, que por meio da cascata enzimática iniciada pela fitase resulta na completa desfosforilação do fitato e produção do inositol^{55,63,64}.

A inclusão de fitase em altas doses resulta em forte redução do IP6, aumenta as concentrações de inositol na moela e pode melhorar o ganho de peso e a conversão alimentar de frangos. Assim, com a hidrólise completa dos grupos fosfatos, as fitases podem liberar o fósforo, reduzir os efeitos antinutricionais do fitato e disponibilizar outros minerais, proteínas e a energia das dietas^{30,48}.

Muito se tem discutido a respeito do modo de ação do mio-inositol e dos derivados que são liberados com a utilização da superdose de fitase⁴⁶. O inositol é um poliálcool cíclico contendo um anel de seis átomos de carbono e seis grupos OH (cicloexanopoliol), é classificado como um nutriente essencialmente condicional, sendo necessário para o funcionamento dos nervos, cérebro e músculos⁶⁴. Suas propriedades, funções e sua importância nutricional para produção animal ainda não está muito clara, porém seu papel fisiológico está relacionado à sua presença no fosfatidilinositol e, portanto, à função dos fosfolipídios nas membranas celulares⁶⁵.

Ele também age no controle da concentração de cálcio intracelular, na manutenção do potencial de membrana das células, na modulação da atividade dos neurotransmissores serotonina e acetilcolina, na hidrólise dos lipídios e na redução do colesterol sanguíneo⁶⁴. O *mio*-inositol 1,4,5-trifosfato age ativando a abertura do canal de cálcio do retículo endoplasmático, mediando a liberação do cálcio para o citoplasma e mantendo a homeostasia de cálcio na célula^{66,67}.

O *mio*-inositol é transportado no sangue predominantemente na forma livre. Além de estar presente no sangue, uma pequena, mas significativa quantidade de fosfatidilinositol é encontrada em associação com as lipoproteínas circulantes. O processo de transporte ativo requer Na⁺ e energia, sendo inibido pelos altos níveis de glucose⁶⁸. Já o inositol do ácido fítico depende da quantidade ingerida, da presença de cátions divalentes na dieta. Sua absorção envolve a hidrólise dos fosfolipídios de inositol pela fosfolipase pancreática para produzir lisofosfatidilinositol que aumenta a atividade absorptiva do enterócito⁶⁹.

Durante o metabolismo do mio-inositol livre, ele é convertido a fosfatidilinositol (PI) no interior das células e após reage com o liponucleotídeo citidina-difosfato (CDP)-diacilglicerol ou com o PI endógeno. O fosfatidilinositol pode ser sequencialmente fosforilado às formas monofosfato (PIP) e difosfato (PIP2) pelas enzimas quinases localizadas na superfície citosólica da membrana do enterócito. As formas PI, PIP e PIP2 atuam como estruturas básicas para os mensageiros secundários das células eucarióticas⁶⁵. O metabolismo do PI é ativado nos tecidos por estímulos rápidos, ou por respostas fisiológicas intermediárias, sendo o PI mediador de tais respostas. Este papel conferido ao PI envolve a conversão de formas de inositol que são menos abundantes, entre elas estão o PIP2, metabólico solúvel em água e o inositol 1,4,5-trifosfato (IP3), sendo mensageiro para ativar e liberar o Ca^{2+} intracelular⁶⁸.

Benefícios obtidos com maiores doses de fitase (>1500 FTU/kg) e liberação de inositol vão além da capacidade da fitase de simplesmente liberar fósforo e remover os efeitos antinutritivos do fitato, pois resultam em melhorias na eficiência alimentar^{70,71}, menor teor de umidade nas excretas e cama e expressão de gênis associada ao crescimento^{72,73}. O efeito promotor de crescimento pode estar associado a diferentes vias bioquímicas, incluindo as que envolvem a insulina e IGF-1 e fosfatidil-inositol-3 (PI3K)^{46,74,75}. Os benefícios citados são associados a decomposição do ácido fítico em inositol^{76,77}.

Portanto, mediante ao exposto, objetivou-se avaliar os efeitos da redução dos níveis de cálcio e superdose de fitase em dietas para frangos durante o período de 1 a 42 dias de idade.

1.6 Referências

1. Muniz EB, Arruda MV, Fassani A, José E, Teixeira S, Pereira AS. Avaliação de fontes de cálcio para frangos de corte. R Caatinga. 2007; 1.
2. Arruda AB, Borges APC, Oliveira JC. Deformidades Ósseas causadas pela carência de cálcio em aves de corte. R Científica. 2015;2 (1).
3. Bar A, Shinder D, Yosef X, Vax E and Plavnik I. Metabolism and requirements for calcium and phosphorus in the fast-growing chicken as affected by age. B Journ of Nut.2003;90: 51-60.
4. Santos LM. Níveis de cálcio e fósforo disponível para frangos de corte recebendo rações com fitase em diferentes fases de criação. [Dissertação]. Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2008.
5. Waldroup PW. Bioassays remain necessary to estimate phosphorus, calcium bioavailability. Feedstuffs.1996; 68:13-20.
6. Muniz EB, Arruda MV, Fassani A, José E, Teixeira S, Pereira AS. Avaliação de fontes de cálcio para frangos de corte. R Caatinga. 2007; 1.
7. Rostagno HS, Albino, LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT, Euclides RF. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 4ª ed; 2017: p488.
8. Araujo JA, Silva JHV, Amâncio ALL, Lima CB, Oliveira ERA. Fontes de Minerais para Poedeiras. Acta Vet Brasilica. 2008; 2(3):53-60.
9. NRC - National Research Council, Nutrient requirements of poultry, Washington: National Academy Press. 9th revised ed:1994.
10. Vale FLP. Uso de fitase em dietas comerciais para frangos de corte contendo ou não ingrediente de origem animal. [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2010.
11. Ferreira AHC, Lopes JB. Uso da fitase na alimentação de frangos de corte – Revisão. R Eletrônica Nutritime. 2012;9(4):1854-1860.
12. Andrigetto JM, Perly L, Minardi I, Gemael A, Flemming JS, Souza GA, Bona AF. Os minerais na nutrição animal:Nutrição animal. 2002;1: 89-205.
13. Costa ACFM, Lima MG, Lima LHMA, Cordeiro VV, Viana KMS, Souza CV, Lira LH. Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. R Eletrônica de Materiais e Processos. 2009;4(3): 29-38.

14. Santos LM, Rodrigues PB, Alvarenga RA, Naves LP, Hespanhol R, Lima GFR, Lara MCC, Silva LR. Níveis de fósforo disponível e cálcio em rações suplementadas com fitase para frangos de corte nas fases de crescimento e final. *R Brasileira de Zootecnia*. 2011;40(1): 2486-2495.
15. Rama Rao SV, Raju MVLN, Reddy MR, Pavani P. Interaction between dietary calcium and non-phytate phosphorus levels on growth, bone mineralization and mineral excretion in commercial broilers. *A Feed Science and Technology*. 2006; 131:133-148.
16. Xie M, Wanga SX, Houa SS, Huanga W. Interaction between dietary calcium and non-phytate phosphorus on growth performance and bone ash in early White Pekin ducklings. *A Feed Science and Technology*. 2009; 151:61-166.
17. Vargas JGJR, Albino LFT, Rostagno HS, Gomes PC, Cupertino ES, Carvalho DCO, Nascimento AH. Níveis Nutricionais de Cálcio e Fósforo Disponível para Aves de Reposição Leves e Semipesadas de 0 a 6 Semanas de Idade. *R Brasileira de Zootecnia*. 2003; 32(6):1919-1926.
18. Pinto S, Barros CS, Slomp MN, Lázzaro R, Costa LF, Bruno LDG. Cálcio e fósforo na dieta de galinhas de postura: uma revisão. *S Agraria Paranaensis*. 2012;11(1): 5-18.
19. Lelis GR, Albino LFT, Silva, CR, Rostagno HS, Gomes PC, Borsatto CG. Suplementação dietética de fitase sobre o metabolismo de nutrientes de frangos de corte. *R Brasileira de Zootecnia*. 2010; 39 (8): 1768-1773.
20. Nardelli NBS, Naves LP, Oliveira DP, Garcia Junior AAP, Lima EMC, EC, Rodrigues PB. Supplementation of fungal and/or bacterial phytase in broiler diets formulated with reduced phosphorus level and different calcium contents. *R Brasileira de Zootecnia*. 2018; 47.
21. Sommerfeld V, Schollenberger M, Kuhn I, and Rodehutschord M. Interactive effects of phosphorus, calcium, and phytase supplements on products of phytate degradation in the digestive tract of broiler chickens. *Poul Science* 2018; 0:1–12.
22. Lelis GR, Albino LFT, Tavernari C, Rostagno HS. Suplementação dietética de fitase em dietas para frangos de corte. *R Eletrônica Nutritime*. 2009; 6(2): 875-889.
23. Angel R, Tamim NM, Applegate TJ, Dhandu AS, Ellestad LE. Phytic Acid Chemistry: Influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. *Journal Applied Poultry Research*. 2002; 11 (4): 471-480.
24. Cowieson AJ, Ruckebusch JP, Knap I, Guggenbuhl P, Fru-Nji F. Phytate-free nutrition: A new paradigm in monogastric animal production. *Animal Feed Science and Technology* 222 (2016) 180–189.
25. Xu Y, Liu X, Prestwich GD. Synthesis of phosphatase-resistant analogues of phytic acid (InsP6). *Tetrah. Letters*. 2005; 46 (48): 8311-8314.

26. Liu N, Ru YJ, Li FD, Wang, J, Lei X. Effect of dietary phytate and phytase on proteolytic digestion and growth regulation of broilers. *Archivos of Animal Nutritiv.* 2009; 63 (4): 292–303.
27. Konietzny U, Greiner, R. Molecular and catalytic properties of phytate-degrading enzymes (phytases). *International Journal of Food Science and Technology.* 2002; 37 (7): 791- 812.
28. Selle PH, Ravindran G. Microbial phytase in poultry nutrition. *Animal Feed Science and Technology.* 2007; 135 (1-2): 1-41.
29. Keshavarz, K. Por qué es necessário emplear la fitase em la dieta de las ponedoras? *Ind. Avícola.* 1999; 46 (1): 13-14.
30. Cowieson AJ, Acamovic T, Bedford MR. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. *Brist. Poultry Science.* 2004; 45 (1): 101-108.
31. Liu Z, Cheng F, Zhang G. Grain phytic acid content in japonica rice as affected by cultivar end environment and its relation to protein content. *Food Chemistry.* 2005; 89 (1): 49-52. 7.
32. Selle PH, Cowieson AJ, Ravindran V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. *Lives. Science,* 2009; 124 (1-3): 126–141.
33. Dersjant-Li Y, Awati A, Schulze H and Partridge G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. *J of the Science of Food and Agriculture.* 2015; 95: 878-896.
34. Oliveira MC, Gravena RA, Marques RH, Guandolini GC, Moraes VMB. Utilização de nutrientes em frangos alimentados com dietas suplementadas com fitase e níveis reduzidos de fósforo não-fítico. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.* 2008; 60(2): 436-441.
35. Mendes AA. Produção de frangos de corte. 2004; Campinas, p.356.
36. Guggenbuhl P, Waché Y, Nunes S and Fru F. Effects of a 6-phytase on the apparent ileal digestibility of minerals and amino acids in ileorectal anastomosed pigs fed on a corn–soybean meal–barley diet. *A Society of Animal Science.* 2012; 90: 182-184.
37. Singh B, Kunze G, Satyanarayana T. Developments in biochemical aspects and biotechnological applications of microbial phytases. *Biotechnology and Molecular Biology Review.* 2011; 6: 69-87.
38. Yu S, Cowieson A, Gilbert C, Plumstead P and Dalsgaard S. Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP1-5) including IP5 isomers with

- dietary protein and iron and inhibition of pepsin. *Journal Animal Science*. 2012 90:1824–1832.
39. Ravindran V, Morel PCH, Partridge, GG, Hruby M, Sands JS. Influence of an *Escherichia coli*-derived phytase on nutrient utilization in broiler starters fed diets containing varying concentrations of phytic acid. *Poultry Science*. 2006; 85 (1): 82-89.
 40. Rodrigues MM. Aprimoramento da formulação de ração para frangos de corte com fitase e equilíbrio eletrolítico. [Tese] Araçatuba; Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”: Câmpus de Araçatuba, 2018.
 41. Silva YL, Rodrigues PB, Freitas RTF, Zangeronimo MG, Fialho ET. Níveis de proteína e fósforo em rações com fitase para frangos de corte na fase de 14 a 21 dias de idade. 2. Valores energéticos e digestibilidade de nutrientes. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2008; 37 (3): 469-477.
 42. Cowieson AJ, Ravindran V, Selle PH. Influence of dietary phytic acid and source of microbial phytase on ileal endogenous amino acids flows in broilers chickens. *Poultry Science*. 2008; 87 (11): 2287–2299.
 43. Applegate TL, Angel R, Classen HL. Effect of dietary calcium, 25 hydroxycholecalciferol, or bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. *Poultry Science*. 2003; 82 (7) 1140-1148.
 44. Tamim NM, Angel R, Christman M. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolyses in broiler chickens. *Poult. Sci*. 2004; 83(8): 1358–1367.
 45. Wilkinson, S. J.; Selle, P. H.; Bedford, M. R.; e Cowieson, A. J. Separate feeding of calcium improves performance and ileal nutrient digestibility in broiler chicks. *Animal Production Science*. 2013; 54:172-178.
 46. Cowieson AJ, Wilcockp, and Bedford MR. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. *World's Poultry Science Journal*. 2011; 67.
 47. Shafey TM, McDonald MW, Dingle JG. Effects of dietary calcium and available phosphorus concentration on digesta pH and on availability of calcium, iron, magnesium and zinc from intestinal contents of meat chickens. *Brist. Poult. Scie*. 1991; 32 (1): 185-194.
 48. Wyatt CL, Miloud A, Bedford M. Current advances in feed enzymes for corn-soya based poultry and swine diets: emphasis on cell wall and phytate. 65th Minnesota Nutrit. Confer; 2004. 21-22p.
 49. Adeola O, Walk CL. Linking ileal digestible phosphorus and bone mineralization in roilers chickens fed diets supplemented with phytase and highly soluble calcium. *Poultry Science*. 2013; 92 (8).

50. Fukayama EH, Sakomura NK, Dourado LRB, Neme R, Fernandes JBK, Marcato SM. Efeito da suplementação de fitase e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2008; 37 (4): 629-635.
51. Adeola O and Cowieson AJ, Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. *Journal Animal Science*. 2011; 89: 3189–3218.
52. Manangi MK and Coon CN, The effect of calcium carbonate particle size and solubility on the utilization of phosphorus from phytase for broilers. *Journal Poultry Science*. 2007; 6: 85–90.
53. Woyengo TA and Nyachoti CM. Review: Supplementation of phytase and carbohydrases to diets for poultry. *Canbridge Journal Animal Science*. 2011; 91:177–192.
54. Wise A. Dietary factors determining the biological activities of phytase. *Nutrition Abstract Reviews*. 1953; 53 (9): 791-806.
55. Walk CL, Bedford MR, Santos TS, Paiva D, Bradley JR, Wladecki H, Honaker C, McElroy AP. Extra-phosphoric effects of superdoses of a microbial phytase. *Poultry Science*. 2013; 92 (3): 719-725.
56. Walk CL, Santos TS, Bedford, MR. Influence of superdoses of a microbial phytase on growth performance, tibia ash, and gizzard phytate and inositol in young broilers. *Poultry Science*. 2014; 93 (5): 1172-1177.
57. Bertechini AG. *Nutrição de monogástricos*. Lavras: ed. Universidade Federal de Lavras, 2006.
58. Oliveira DH, Naves LP, Nardelli NBS, Zangerônimo MG, Rodrigues PB. and Ca:available P ratios. *Pesquisa agropecuária brasileira*. 2018; 53 (11): 1222-1229.
59. Cowieson AJ, Ruckebusch JP, Wilson JW, Guggenbuhl P, Lu H, Ajuwon KM and Adeola O. A systematic view on the effect of phytase on ileal amino acid digestibility in broilers. *Animal Feed Science Technology*. 2017; 225: 182–194.
60. Farhadi A, Karimi, Sadeghi GH, RostamzadeH J and Bedford MR. Effects of a high dose of microbial phytase and myo-inositol supplementation on growth performance, tibia mineralization, nutrient digestibility, litter moisture content, and foot problems in broiler chickens fed phosphorus-deficient diets. *Poultry Science*. 2017; 96: 3664–3675.
61. Lee SA, Nagalakshmi D, Mantina V, Raju MVLN, Rama Rao SVR, Bedford MR. Effect of phytase superdosing, myo-inositol and available phosphorus concentrations on performance and bone mineralisation in broilers. *Animal Nutrition*. 2017: 247-251.

62. Meneghetti CAG, Bertechini PB, Rodrigues EJ, Fassani JAG, Brito MP, Reis AAP. Altos níveis de fitase em rações para frangos de corte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2011; 63 (3): 624-632.
63. Cowieson AJ, Ptak aP, Maćkowiak M, Sassek E, Pruszyńska- Oszma_ lek KZy_la, S. S'wi _ atkiewicz, S. Kaczmarek, and D. Jozefiak. The effect of microbial phytase and myo-inositol on performance and blood biochemistry of broiler chickens fed wheat/corn-based diets. *Poultry Science*. 2013; 92: 2124–2134.
64. D'Souza D e Frio A. Briding the post-weaning piglet growth gap: the NuPro® experience in the Asia Pacific region. In: *Alltech's Annual Symposium*, Nottingham University Press, Nottingham, 2007.p.41-48.
65. Camargo W. *As vitaminas do futuro: O poder do verde*. Rio de Janeiro, Nuad, p.140, 1997.
66. Mayrleitner M, Schafer R e Fleischeir S. IP3 receptor purified from liver plasma membrane is a (1,4,5) IP3 activated and (3,4,5) IP4 inhibited calcium permeable ion channel. *Cell calculation*. 1995; 17: 141-153.
67. McDowell LR. 2000. Vitamin-like substances. in *Vitamins in Animal and Human Nutrition.*, 2nd ed. L. R. Mc- Dowell, ed. Iowa State University Press, Ames. p660.
68. Combs Junior GF e McClung JP. *The Vitamins: Fundamental aspects in nutrition and health*. 2017; ed.5, p.628.
69. Silva CC. *Avaliação do uso de leveduras (Saccharomyces cerevisiae) inativas e hidrolisadas nas dietas iniciais de leitões*. [Dissertação]. Pirassununga: Universidade de São Paulo- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos; 2009.
70. Pirgozliev V, Bedford MR, Oduguwa O, Acamovic T, and Allymehr M. The effect of supplementary bacterial phytase on dietary metabolisable energy, nutrient retention and endogenous losses in precision fed broiler chickens. *J Animal Physiology Animal Nutrition*. 2012; 96: 52–57.
71. Dos Santos TT, Srinongkote S, Bedford MR and Walk CL. Effect of high phytase inclusion rates on performance of broilers fed diets not severely limited in available phosphorus. *Asian-Aust. Journal Animal Science*. 2013; 26: 227–232.
72. Liu N, Ru YJ, Li FD, and Cowieson AJ. Effect of dietary phytate and phytase on metabolic change of blood and intestinal mucosa in chickens. *J. Anim. Physiology Animal Nutrition*. 2010a; 94:368–374.
73. Liu N, Ru JY, Wang W, and Xu T. Effect of dietary sodium phytate and microbial phytase on the lipase activity and lipid metabolism of broiler chickens. *Brazilian Journal Nutrition*. 2010b; 103: 862–868.

74. Cowieson AJ, Aureli R, Guggenbuhl P and Fru-Nji P. Possible involvement of myo-inositol in the physiological response of broilers to high doses of microbial phytase *Anim. Prod. Sci.* 2014; 55: 710-719.
75. Schmeisser J, Seon AA, Aureli R, Friedel A, Guggenbuhl O, Duval APS, Cowieson AJ, and Fru-Nji1 F. Exploratory transcriptomic analysis in muscle tissue of broilers fed a phytase-supplemented diet. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition.* 2017; 101(3): 563-575.
76. Żyła K, Mika M, Stodolak B, Wikiera A, Koreleski J and S. Świątkiewicz. Towards complete dephosphorylation and total conversion of phytases in poultry feeds. *Poult. Sci.* 2004; 83:1175– 1186.
77. Żyła K, Mika M, Duliński R, Koreleski J, Świątkiewicz S, and Piironen J. Effects of inositol, inositol-generating phytase B applied alone, and in combination with 6-phytase A to phosphorus-deficient diets on laying performance, eggshell quality, yolk cholesterol, and fatty acid deposition in laying hens. *Poult. Sci.* 2012; 91:1915–1927.

CAPÍTULO 2 - DESEMPENHO, RENDIMENTO DE CARÇAÇA E PARÂMETROS SANGUÍNEOS EM FRANGOS ALIMENTADOS COM NÍVEIS DE CÁLCIO E FITASE

RESUMO: O experimento foi conduzido para avaliar a interação dos níveis de cálcio e níveis de fitase microbiana no desempenho, rendimento de carcaça e parâmetros sanguíneos de frangos de corte aos 42 dias de idade. Um total de 864 pintos de um dia, machos, Cobb 500®, foram alojados em boxes e distribuídos em delineamento inteiramente casualizado e em esquema fatorial, com seis tratamentos, oito repetições e 18 aves cada. Os tratamentos foram constituídos por duas inclusões de fitase (750 e 1500FTU fitase) e três níveis de cálcio (100, 82 e 64%) sendo considerado 100%, 1,011% fase pré-inicial, 0,907% fase inicial, 0,822% fase de crescimento e 0,661% fase final. A análise dos dados foi realizada utilizando o procedimento de análise de variância a 5% de probabilidade e comparadas pelo teste de Scott-Knott. Aos sete dias, frangos alimentados com redução de cálcio em suas dietas apresentaram maior ganho de peso. A superdosagem de fitase melhorou ganho de peso e consumo de ração. Aos 21 dias de idade houve interação do cálcio e fitase. A redução de 36% de cálcio e suplementação de 1500FTU de fitase proporcionaram maior peso final, ganho de peso e consumo de ração. Aos 35 dias, houve efeito da fitase apenas para consumo de ração e conversão alimentar. Aves alimentadas com 1500FTU de fitase apresentaram melhor desempenho quando comparado com 750FTU. Aos 42 dias, a suplementação de 1500FTU de fitase melhorou o peso final, ganho de peso e conversão alimentar. A redução da inclusão de cálcio melhorou a conversão alimentar. Houve interação do cálcio e da fitase, para consumo e conversão alimentar. A redução de 18 e 36% de cálcio, suplementada com 1500FTU proporcionou maior eficiência alimentar das aves aos 42 dias. Houve interação do cálcio e fitase para rendimento de carcaça de frango. Aves alimentadas com 1500FTU de fitase apresentaram maior rendimento de carcaça em relação as aves que receberam apenas 750FTU. Aves que receberam 1500FTU de fitase e redução de cálcio em 18%, apresentaram maior rendimento de carcaça. Observou-se efeito dos níveis de fitase para concentração de inositol no sangue para as aves que receberam a suplementação de 1500FTU de fitase. Houve interação da fitase e cálcio para concentração de albumina e proteína sérica. O uso de superdose de fitase e redução de cálcio na dieta proporciona melhor atividade da fitase, maior quebra de fitase e melhor aproveitamento dos nutrientes, o que proporciona melhores índices zootécnicos, rendimento de carcaça e proteína no sangue de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Palavras-chave: ácido fítico, superdose, mio-inositol

CHAPTER 2 - PERFORMANDE, CARCASS YIELS AND BLOOD PARAMETERS IN CALCIUM AND PHYTASE FED CHICKEN

ABSTRACT: An experiment was carried to evaluate the interaction of calcium levels and microbial levels on carcass performance, broiler carcass yield and blood parameters of boirlers at 42 days of age. A total of 864 male Cobb 500® day-old chicks were housed in boxes and randomly distributed in a completely randomized factorial design with 6 treatments, 8 replications and 18 broilers each. The treatments consisted of two phytase inclusions (750 and 1500FTU) and three calcium levels (100, 82 and 64%) and 1.011% pre-initial phase, 0.907% initial phase, 0.822 growth phase and 0.661 final phase were considered 100% based on Brazilian tables recommendations. At 7 days, broilers fed calcium reduced diets had higher weight gain ($P<0.05$). Phytase superdosing showed the best feed conversion. At 21 days of age there was interaction with calcium and phytase. The 36% reduced in calcium supplementation and 1500FTU Phytase provided higher final weight, weight gain and feed intake. At 35 days, there was phytase effect for feed intake and feed conversion. Broilers fed 1500FTU phytase diets showed better performance compared to 750FTU. At 42 days of age, diets supplemented with 1500FTU of phytase improved final weight, weight gain and feed conversion. Reducing calcium levels improved feed conversion. There was interaction of calcium and phytase for feed intake and feed conversion. A reduction of 15 and 35% of calcium supplemented with 1500FTU provided greater feed efficiency for birds at 42 days of age. Calcium and phytase were exchanged for chicken carcass yield 1500FTU phytase-fed broiers had higher carcass yield than broilers containing only 750FTU. Birds that received 1500FTU of phytase and calcium reduction 18% presented higher carcass yield. The effect of phytase levels on blood inositol concentration was observed for birds receiving 1500FTU phytase supplementation. Phytase and calcium interaction was observed for albumin and sérum protein concentration. The use of phytase superdosing and calcium reduction in the diet provides better phytase activity, higher phytase breakage and better nutrient use which provides better performance, carcass yield and blood protein of broilers at 42 days of age.

Keywords: phytic acid, superdosing, myo-inositol

2.1 Introdução

As dietas de frangos são formuladas principalmente com ingredientes vegetais (milho e farelo de soja) que apresentam fatores antinutricionais, que impedem que os nutrientes sejam utilizados de forma eficaz pelos animais¹. Aproximadamente 60% do fósforo (P) presente no milho e na soja se encontram na forma de ácido fítico ou fitato (InP6)². A função do fitato nas células vegetais está relacionada com a sinalização transmembrana e a mobilização do cálcio para as reservas intracelulares³.

O ácido fítico pode ter até 12 cargas negativas, o que favorece a complexação com cátions bivalentes, como o cálcio. A formação de complexos fitato-nutriente faz com que os nutrientes complexados se tornem indisponíveis para ser absorvidos no intestino^{4,5}. Com isso, maior quantidade de fósforo de origem inorgânicas e farinhas de origem animal são adicionadas nas dietas das aves, o que ocasiona maior custo de produção e maior excreção de fósforo orgânico para o meio ambiente⁶.

O sistema digestivo das aves produz fitases endógenas que são capazes de degradar o fitato e utilizar os nutrientes que se encontram complexados, porém o efeito desta fitase endógena pode ser influenciado por diversos fatores, como número de cargas iônicas no fosfato de mio-inositol, pH intestinal e características da dieta^{4,7,8}. Maez e Classen⁹ observaram fitases ativas na membrana borda em escova do duodeno de frangos de corte e que 80% da atividade da fitase endógena no intestino de frango foi alcançada com baixa concentração de cálcio^{8,10}.

As fitases microbianas têm sido utilizadas na alimentação das aves pois são capazes de potencializar a degradação e disponibilidade de fósforo¹¹ e reduzir a excreção de nutrientes ao meio ambiente em dietas a base de milho^{12,13,14}. Com o uso de fitase exógena e a degradação do fitato, o fósforo inorgânico ou farinhas de carne e ossos, podem ser substituídas em parte na dieta pelo fósforo fítico sem influenciar negativamente o desempenho das aves¹⁵.

Objetivou-se avaliar o efeito da redução dos níveis de cálcio e adição de níveis de fitase microbiana sobre o desempenho, rendimento de carcaça e parâmetros sanguíneos de frangos de corte aos 42 dias de idade.

2.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido no setor de avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, Brasil. O projeto de pesquisa vinculado ao presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para uso de animais de produção – CEUA da UFG, sob o protocolo nº 024/2017, e está de acordo com os princípios éticos na experimentação animal¹⁶.

As aves foram alojadas e criadas no aviário escola da UFG desde o primeiro dia de vida até os 42 dias de idade, com ração e água fornecidas à vontade durante todo o período experimental. Um total de 864 pintos de corte machos (peso médio de 46,9g \pm 0,2g) da linhagem Cobb500®, provenientes de um incubatório industrial foram utilizados para realização do experimento. Boxes móveis foram montados no galpão do aviário da UFG, forrados com cama nova de casca de arroz, sistema de aquecimento central a gás, bebedouro tipo *nipple* e comedouro tubular.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado e em esquema fatorial 3x2, com 3 níveis de cálcio, 2 níveis de fitase, totalizando seis tratamentos, oito repetições, obtendo um total de 48 unidades experimentais compostas por 18 aves.

As aves e as rações fornecidas foram pesadas no primeiro dia para a distribuição dos animais nas unidades experimentais, pesadas aos sete dias, 21 dias, 35 dias e 42 dias de idade para determinação do ganho de peso, consumo de ração e da conversão alimentar.

Os tratamentos foram constituídos por três níveis de Cálcio (100%, 82% e 64%) e duas inclusões de fitase 750FTU/kg e 1500FTU/kg de ração. Considerou-se os níveis de 1,011% como 100% das recomendações de Rostagno et al¹⁷ de cálcio para fase pré-inicial, 0,907% para a inicial, 0,822% para crescimento e 0,661% para a fase final. Para a exigência de fósforo (P) na dieta, foi considerada a valorização da matriz da fitase para liberação de fósforo e suplementação de fosfato para atendimento da exigência nutricional por fase. Os valores de fósforo recomendados por Rostagno et al¹⁷ para fase pré-inicial foram de 0,482%, para a fase inicial de 0,432%, na fase de crescimento foi de 0,384% e na fase final de 0,309%.

As dietas experimentais foram formuladas a base de milho e farelo de soja e as tabelas brasileiras de aves e suínos¹⁷ utilizadas como referência para atendimento nutricional para fase pré-inicial (Tabela 1), inicial (Tabela 2), crescimento (Tabela 3) e fase final (Tabela 4).

Em todo o período experimental foram registradas a mortalidade e o peso dos comedouros no dia da morte das aves, para correção do consumo de ração final. Os parâmetros de desempenho avaliados foram: peso final, ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar, e rendimento de carcaça, conforme a descrição abaixo:

- Ganho de peso (g): foi calculado pela diferença entre os pesos das aves obtidos nas pesagens.
- Consumo de ração (g): foi obtido pela diferença entre a quantidade de ração oferecida no início e as sobras ao final de cada fase avaliada, considerando o número de aves mortas no intervalo para correção dos valores de consumo.
- Conversão alimentar: foi obtida pela relação entre o ganho de peso e o consumo de ração, considerando o número de aves mortas no intervalo como critério para correção dos valores deste índice.

Ao final do período experimental (aos 42 dias de idade), três aves por unidade experimental foram identificadas, pesadas, separadas. Uma ave de cada unidade experimental foi submetida a coleta de sangue para análise da albumina, globulina, proteína, glicose, inositol, cálcio e fósforo sanguíneos. Duas aves de cada parcela experimental foram submetidas a um período de jejum de aproximadamente oito horas para esvaziamento do trato gastrintestinal, sendo novamente pesadas para obter o peso das aves em jejum, sendo então insensibilizadas e abatidas por sangria, de acordo com SBCAL¹⁶. Posteriormente as aves foram depenadas, retirada as vísceras, os pés e a cabeça, sendo em seguida pesados em balança de precisão. O RC foi obtido pela diferença do peso do frango vivo em jejum (kg) e peso da carcaça limpa (kg).

TABELA 1 - Composição das dietas experimentais fase pré-inicial (1- 7 dias)

Ingredientes	Ca 100+	Ca 82 +	Ca 64 +	Ca 100 +	Ca 82 +	Ca 64 +
	750FTU	750FTU	750FTU	1500FTU	1500FTU	1500FTU
Milho grão	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79
Farelo de soja, 46%	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95
Glúten de milho, 60%	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54
Sal comum	0,46	0,47	0,46	0,47	0,46	0,47
Calcário ¹	2,41	1,98	1,54	2,41	1,98	1,54
MAP, 61% ²	0,59	0,35	0,35	0,59	0,35	0,35
DL-metionina	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
L-lisina	0,21	0,213	0,21	0,213	0,21	0,213
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
L-valina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Premix Min e Vit ³	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bicarbonato	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Fitase	0,008	0,008	0,008	0,015	0,015	0,015
Inerte ⁴	0,007	0,690	1,122	0,000	0,680	1,114
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis Nutricionais						
Cálcio, %	1,011	0,829	0,647	1,011	0,929	0,647
Fosforo disp, %	0,482	0,482	0,482	0,482	0,482	0,482
Energia met, kcal/kg	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000
Proteína bruta, %	25,310	25,310	25,310	25,310	25,310	25,310
Met+cist diges, %	0,989	0,989	0,989	0,989	0,989	0,989
Lisina dig, %	1,364	1,364	1,364	1,364	1,364	1,364
Treonina dig, %	0,882	0,882	0,882	0,882	0,882	0,882
Triptofano dig, %	0,269	0,269	0,269	0,269	0,269	0,269
Valina dig, %	1,029	1,029	1,029	1,029	1,029	1,029

¹ Calcário calcítico 36%

² MAP - Fosfato monoamônio

³ Premix mineral e vitamínico (quantidade\kg produto): Vitamina A- 2.000.000,00UI; Vitamina D3- 600.000,00UI; Vitamina E- 5.000UI; Vitamina K- 450mg; Vitamina B1- 500mg; Vitamina B2- 1.500mg; Vitamina B6- 700mg; Vitamina B12- 2.500mcg; Ácido pantotênico- 3.500; Ácido Nicotínico- 9.000mg; Ácido fólico- 250mg; Biotina- 15mg; Colina- 80g; Cobre- 2.500mg; Ferro- 10g; Manganês- 20g; Iodo- 250 mg; Zinco- 18g; Selênio- 75mg; Virginiamicina- 4.125mg; Nicarbazina- 10g; Maduramicina 937,5mg.

⁴ Areia foi substituída por fitase comercialmente denominada de Quantum Blue® derivada de *E. Coli*.

TABELA 2 - Composição das dietas experimentais da fase inicial (8 – 21 dias)

Ingredientes	Ca100+	Ca 82 +	Ca 64 +	Ca 100 +	Ca 82 +	Ca 64 +
	750FTU	750FTU	750FTU	1500FTU	1500FTU	1500FTU
Milho grão	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79
Farelo de soja, 46%	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95
Glúten de milho,60%	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54
Sal comum	0,46	0,47	0,46	0,47	0,46	0,47
Calcário ¹	2,41	1,98	1,54	2,41	1,98	1,54
MAP, 61% ²	0,59	0,35	0,35	0,59	0,35	0,35
DL-metionina	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
L-lisina	0,21	0,213	0,21	0,213	0,21	0,213
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
L-valina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Premix Min e Vit ³	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bicarbonato	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Fitase	0,008	0,008	0,008	0,015	0,015	0,015
Inerte ⁴	0,007	0,690	1,122	0,000	0,680	1,114
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis Nutricionais						
Cálcio, %	0,907	0,744	0,580	0,907	0,744	0,580
Fosforo disp, %	0,432	0,432	0,432	0,432	0,432	0,432
Cloro, %	0,316	0,316	0,316	0,316	0,316	0,316
Sódio, %	0,221	0,221	0,221	0,221	0,221	0,221
Potássio, %	0,983	0,983	0,983	0,983	0,983	0,983
Energia met, kcal/kg	3100	3100	3100	3100	3100	3100
Proteína bruta, %	24,300	24,300	24,300	24,300	24,300	24,300
Met+cist diges, %	0,966	0,966	0,966	0,966	0,966	0,966
Lisina dig, %	1,306	1,3060	1,3060	1,3060	1,3060	1,3060
Treonina dig, %	0,862	0,862	0,862	0,862	0,862	0,862
Triptofano dig, %	0,265	0,2657	0,2657	0,2657	0,2657	0,2657
Valina dig, %	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006

¹ Calcário calcítico 36%

² MAP - Fosfato monoamônio

³ Premix mineral e vitamínico (quantidade\kg produto): Vitamina A- 2.000.000,00UI; Vitamina D3- 600.000,00UI; Vitamina E- 5.000UI; Vitamina K- 450mg; Vitamina B1- 500mg; Vitamina B2- 1.500mg; Vitamina B6- 700mg; Vitamina B12- 2.500mcg; Ácido pantotênico- 3.500; Ácido Nicotínico- 9.000mg; Ácido fólico- 250mg; Biotina- 15mg; Colina- 80g; Cobre- 2.500mg; Ferro- 10g; Manganês- 20g; Iodo- 250 mg; Zinco- 18g; Selênio- 75mg; Virginiamicina- 4.125mg; Nicarbazina- 10g; Maduramicina 937,5mg.

⁴ Areia foi substituída por fitase comercialmente denominada de Quantum Blue® derivada de *E. Coli*.

TABELA 3 - Composição das dietas experimentais da fase de crescimento (21-35 dias)

Ingredientes	Ca 100+	Ca 82 +	Ca 64 +	Ca 100 +	Ca 82 +	Ca 64 +
	750FTU	750FTU	750FTU	1500FTU	1500FTU	1500FTU
Milho grão	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79
Farelo de soja, 46%	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95
Glúten de milho,60%	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54
Sal comum	0,46	0,47	0,46	0,47	0,46	0,47
Calcário ¹	2,41	1,98	1,54	2,41	1,98	1,54
MAP, 61% ²	0,59	0,35	0,35	0,59	0,35	0,35
DL-metionina	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
L-lisina	0,21	0,213	0,21	0,213	0,21	0,213
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
L-valina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Premix Min e Vit ³	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bicarbonato	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Fitase	0,008	0,008	0,008	0,015	0,015	0,015
Inerte ⁴	0,007	0,690	1,122	0,000	0,680	1,114
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis Nutricionais						
Cálcio, %	0,822	0,674	0,526	0,822	0,674	0,526
Fosforo disp, %	0,384	0,384	0,384	0,384	0,384	0,384
Energia met, kcal/kg	3200	3200	3200	3200	3200	3200
Proteína bruta, %	22,62	22,62	22,62	22,62	22,62	22,62
Met+cist diges, %	0,914	0,914	0,914	0,914	0,914	0,914
Lisina dig, %	1,235	1,235	1,235	1,235	1,235	1,235
Treonina dig, %	0,815	0,815	0,815	0,815	0,815	0,815
Triptofano dig, %	0,237	0,237	0,237	0,237	0,237	0,237
Valina dig, %	0,951	0,951	0,951	0,951	0,951	0,951

¹ Calcário calcítico 36%

² MAP - Fosfato monoamônio

³ Premix mineral e vitamínico (quantidade\kg produto): Vitamina A- 1.750.000,00UI; Vitamina D3- 500.000,00UI; Vitamina E- 3.000UI; Vitamina K- 375mg; Vitamina B1- 400mg; Vitamina B2- 1.250mg; Vitamina B6- 750mg; Vitamina B12- 2.500mcg; Ácido pantotênico- 3.250; Ácido Nicotínico- 8.000mg; Ácido fólico- 250mg; Biotina- 15mg; Colina- 80g; Cobre- 2.500mg; Ferro- 10g; Manganês- 20g; Iodo- 250 mg; Zinco- 18g; Selênio- 75mg; Virginiamicina- 4.125mg; Salinomicina sódica- 16,5g.

⁴ Areia foi substituída por fitase comercialmente denominada de Quantum Blue® derivada de *E. Coli*.

TABELA 4 - Composição das dietas experimentais da fase final (35 – 42 dias)

Ingredientes	Ca100+	Ca 82 +	Ca 64 +	Ca 100 +	Ca 82 +	Ca 64 +
	750FTU	750FTU	750FTU	1500FTU	1500FTU	1500FTU
Milho grão	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79
Farelo de soja, 46%	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95
Glúten de milho, 60%	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54
Sal comum	0,46	0,47	0,46	0,47	0,46	0,47
Calcário ¹	2,41	1,98	1,54	2,41	1,98	1,54
MAP, 61% ²	0,59	0,35	0,35	0,59	0,35	0,35
DL-metionina	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
L-lisina	0,21	0,213	0,21	0,213	0,21	0,213
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
L-valina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Premix Min e Vit ³	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bicarbonato	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Fitase	0,008	0,008	0,008	0,015	0,015	0,015
Inerte ⁴	0,007	0,690	1,122	0,000	0,680	1,114
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis Nutricionais						
Cálcio, %	0,661	0,542	0,423	0,661	0,542	0,423
Fosforo disp, %	0,306	0,306	0,306	0,306	0,306	0,306
Energia met, kcal/kg	3250	3250	3250	3250	3250	3250
Proteína bruta, %	19,540	19,540	19,540	19,540	19,540	19,540
Met+cist diges, %	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790
Lisina dig, %	1,067	1,067	1,067	1,067	1,067	1,067
Treonina dig, %	0,704	0,704	0,704	0,704	0,704	0,704
Triptofano dig, %	0,199	0,199	0,199	0,199	0,199	0,199
Valina dig, %	0,822	0,822	0,822	0,822	0,822	0,822

¹ Calcário calcítico 36%

² MAP - Fosfato monoamônio

³ Premix mineral e vitamínico (quantidade\kg produto): Vitamina A- 1.500.000,00UI; Vitamina D3- 350.000,00UI; Vitamina E- 3.500UI; Vitamina K- 350mg; Vitamina B1- 250mg; Vitamina B2- 1.250mg; Vitamina B6- 250mg; Vitamina B12- 2.500mcg; Ácido pantotênico- 4.000; Ácido Nicotínico- 11g; Ácido fólico- 400mg; Biotina- 15mg; Colina- 150g; Cobre- 4.500mg; Ferro- 20g; Manganês- 30g; Iodo- 400 mg; Zinco- 25g; Selênio- 100mg.

⁴ Areia foi substituída por fitase comercialmente denominada de Quantum Blue® derivada de *E. Coli*.

A análise dos dados de desempenho, rendimento de carcaça e análises sanguíneas foram realizadas utilizando-se o procedimento de análise de variância (ANOVA) e os dados, quando estatisticamente diferentes a 5% de significância, foram comparadas pelo Teste de Scott-Knott. Foi utilizado o software de estatística *R Development Core Team*¹⁸. As variáveis foram analisadas segundo o modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + N_{elj} + FN_{elij} + e_{ijk},$$

em que:

Y_{ijk} = valor observação na dose de cálcio i ; dose de fitase j e repetição k ;

μ = constante geral;

F_i = efeito dos níveis de cálcio (100, 82 e 36%);

N_{elj} = efeito dos níveis de fitase (750 e 1500FTU);

FN_{elij} = efeito da interação dos níveis de cálcio \times níveis de fitase

e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

2.3 Resultados

Quanto ao desempenho avaliado aos sete dias (Tabela 5), observa-se que houve efeito do nível de cálcio no ganho de peso e peso final das aves ($P < 0,001$). As aves submetidas ao tratamento que receberam 100% da recomendação de cálcio obtiveram menor ganho de peso, peso final, menor consumo de ração e maior conversão alimentar. As aves que receberam 64% do atendimento da exigência de cálcio apresentaram maior ganho de peso e maior peso aos sete dias de idade, porém a conversão alimentar foi igual aos animais do tratamento com 100% de cálcio. Os melhores índices zootécnicos aos sete dias de vida foram obtidos pelos animais que receberam 82% de cálcio, pois apresentaram maior ganho de peso e menor conversão alimentar.

Houve efeito da enzima fitase no peso final, ganho de peso e consumo de ração (tabela 5). As aves suplementadas com 1500FTU de fitase/kg de ração na fase pré-inicial apresentaram maiores valores para estas variáveis.

TABELA 5 - Desempenho de frangos na fase pré-inicial (1-7 dias) alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase

	Peso Inicial (kg)	Peso Final (kg)	Ganho de Peso (kg)	Consumo Ração (kg)	CA (kg/kg) ¹
Inclusão de cálcio					
100% Cálcio	46,9	180,6 b	133,6 c	150,9	1,128 a
82% Cálcio	47,1	184,2 a	137,5 b	152,8	1,061 b
64% Cálcio	46,7	186,8 a	140,7 a	155,0	1,097 a
Inclusão de fitase					
750 FTU	46,9	180,0 b	133,1 b	150,0 b	1,103
1500FTU	46,8	187,6 a	141,4 a	155,8 a	1,089
Probabilidade estatística					
Cálcio	0,407	<0,001	<0,001	0,223	0,008
Fitase	0,714	<0,001	<0,001	0,005	0,386
Cálcio x fitase	0,789	0,146	0,228	0,564	0,806
CV (%)	1,67	2,28	2,90	3,81	4,21

^{a,b} Na coluna, as médias diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

¹ Conversão alimentar

Aos 21 dias de idade, houve interação do nível de cálcio e dose de fitase para consumo de ração, ganho de peso e peso final (Tabela 6). Maior ganho de peso ($P < 0,001$) foi observado para aves suplementadas com 64% da recomendação de cálcio (Tabela 6). A suplementação de fitase também influenciou o peso final ($P < 0,001$), conversão

alimentar ($P < 0,001$) e consumo de ração ($P < 0,002$) (Tabela 6). Aves suplementadas com 1500FTU de fitase/kg de ração apresentaram maiores valores para estas variáveis.

TABELA 6 - Desempenho de frangos aos 21 (1-21 dias) alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase

	Peso Final (g)	Ganho de Peso (g)	Consumo de Ração (g)	Conversão Alimentar (kg/kg)
Inclusão de cálcio				
100% Cálcio	939,9 a	893,0 b	1152,6	1,270 a
82% Cálcio	951,6 b	904,0 b	1140,7	1,272 a
64% Cálcio	937,3 a	926,0 a	1153,9	1,242 b
Inclusão de fitase				
750 FTU	933,4 b	886,0 b	1132,0 b	1,264
1500FTU	976,3 a	929,0 a	1166,3 a	1,259
Probabilidade estatística				
Cálcio	0,012	<0,001	0,381	0,655
Fitase	<0,001	0,012	<0,001	0,053
Cálcio x fitase	0,002	0,002	0,045	0,097
CV (%)	3,01	3,17	2,50	2,78

^{a,b} Na coluna, as médias diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

As aves apresentaram maior ganho de peso ($P < 0,05$) com 100 e 82% da exigência de cálcio quando suplementados com 1500FTU (Tabela 7). As aves alimentadas com 1500FTU de fitase apresentaram maiores ganho de peso, quando comparadas as aves suplementadas com 750FTU independentemente do nível de cálcio ($P < 0,05$).

As aves que receberam 100% do nível de cálcio e 750FTU de fitase apresentaram menor peso final ($P < 0,05$) (Tabela 7). Porém não houve efeito do nível de cálcio quando as mesmas foram suplementadas com 1500FTU ($P > 0,05$). Aves que receberam 64% do nível de cálcio, suplementadas com 750FTU de fitase, obtiveram maior consumo de ração ($P < 0,05$) (Tabela 7). Quando suplementadas com 1500FTU de fitase, as aves obtiveram maior consumo de ração ($P < 0,05$).

TABELA 7 - Desdobramento da interação para as variáveis ganho de peso, peso final e consumo de ração de frangos aos 21 dias de idade alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase

Ganho de Peso			
	100% cálcio	82% Cálcio	64% Cálcio
750 FTU	848 Cb	890 Ba	921 Aa
1500 FTU	938 Aa	919 Aa	931 Aa
Peso Final			
	100% cálcio	82% Cálcio	64% Cálcio
750 FTU	895,3 Bb	937,5 Aa	967,3 Aa
1500 FTU	984,5 Aa	965,6 Aa	978,6 Aa
Consumo de Ração			
	100% cálcio	82% Cálcio	64% Cálcio
750 FTU	1125,0 Bb	1118,5 Bb	1152,1 Aa
1500 FTU	1180,2 Aa	1163,0 Aa	1155,6 Aa

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma linha diferem entre si ($p < 0,05$).

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$).

Quanto ao desempenho realizado aos 35 dias (Tabela 8), observa-se que, houve efeito apenas da fitase ($P < 0,05$). Aves alimentadas com 1500FTU de fitase/kg de ração apresentaram maiores ganho de peso e peso final aos 35 dias de idade quando comparadas com as aves que receberam apenas 750FTU ($P < 0,05$). Avaliando os fatores de forma isolada, observa-se que, aves que receberam 100% da suplementação do nível de cálcio apresentaram maiores conversão alimentar ($P < 0,001$) (Tabela 8). A suplementação de 1500FTU de fitase melhorou o ganho de peso, peso final e conversão alimentar dos frangos (Tabela 8).

TABELA 8 - Desempenho de frangos aos 35 (1 a 35 dias) alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase

	Peso final (g)	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar (kg/kg)
Inclusão de Cálcio				
100% Cálcio	2522,3	2475,1	3526,1	1,428
82% Cálcio	2521,8	2501,5	3496,6	1,403
64% Cálcio	2531,4	2508,1	3531,4	1,405
Inclusão de Fitase				
750 FTU	2495,6 b	2448,7 b	3488,8	1,420
1500FTU	2568,0 a	2541,2 a	3547,2	1,405
Probabilidade estatística				
Cálcio	0,727	0,373	0,710	0,246
Fitase	<0,001	<0,001	0,124	0,208
Cálcio x fitase	0,185	0,632	0,072	0,162
CV (%)	2,63	2,74	3,62	2,77

^{a,b} Na coluna, as médias diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

No período total avaliado, houve interação entre o nível de cálcio e a dose de fitase sobre o consumo de ração e conversão alimentar (Tabela 9). Portanto, foi necessário realizar o desdobramento das interações do consumo de ração e conversão alimentar (Tabela 10).

TABELA 9 - Desempenho de frangos aos 42 (1 a 42 dias) alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase

	Peso final (g)	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar (kg/kg)
Inclusão de cálcio				
100% Cálcio	3289,6	3242,8	5065,4 a	1,564 a
82% Cálcio	3281,2	3234,0	4911,7 b	1,519 b
64% Cálcio	3274,3	3227,6	4936,3 b	1,527 b
Inclusão de fitase				
750 FTU	3229,8 b	3182,8 b	4975,9	1,563 a
1500FTU	3333,7 a	3286,7 a	4959,6	1,509 b
Probabilidade estatística				
Cálcio	0,855	0,856	0,015	0,011
Fitase	<0,001	<0,001	0,362	<0,001
Cálcio x fitase	0,793	0,792	<0,001	<0,001
CV (%)	2,36	2,39	3,01	2,64

^{a,b} Na coluna, as médias diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste scott-knott.

TABELA 10 - Desdobramento da interação do consumo de ração e conversão alimentar de frangos aos 42 dias de idade alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase

	Consumo de Ração		
	100% cálcio	82% Cálcio	64% Cálcio
750 FTU	4906,6 Ab	4966,0 Aa	5055,3 Aa
1500 FTU	5224,1 Ba	4857,4 Ba	4797,2 Bb
	Conversão Alimentar		
	100% cálcio	82% Cálcio	64% Cálcio
750 FTU	1,554 Aa	1,561 Aa	1,587 Aa
1500 FTU	1,574 Aa	1,477 Bb	1,467 Bb

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma linha diferem entre si ($p < 0,05$).

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$).

As aves alimentadas com 100% do nível de cálcio e com 750 FTU de fitase apresentaram menor consumo de ração ($P < 0,05$) (Tabela 10). Porém não houve efeito do nível de cálcio quando as aves foram suplementadas com 1500FTU ($P > 0,05$) para consumo de ração. Houve efeito do nível de cálcio quando as aves receberam 1500FTU de fitase/kg de ração para conversão alimentar ($P < 0,05$). A redução para 82 e 64% da recomendação do nível de cálcio influenciou positivamente a conversão alimentar quando

receberam 1500FTU de fitase, obtendo então os menores valores de conversão alimentar ($P<0,05$).

Houve interação dos níveis de cálcio e a dose de fitase sobre o rendimento de carcaça (RC%) de frangos aos 42 dias de idade ($P<0,05$) (Tabela 12). Portanto, foi necessário realizar o desdobramento das interações do consumo de ração e conversão alimentar (Tabela 12).

Verificou-se que o efeito do nível de cálcio sobre o rendimento de carcaça de frangos ($P<0,05$), quando associado com 1500FTU de fitase. A redução de 18% na suplementação de cálcio associado proporcionou maior rendimento de carcaça ($P<0,05$). A suplementação da fitase influenciou positivamente o RC% ($P<0,05$). Aves alimentadas com 1500FTU de fitase apresentaram maior rendimento de carcaça ($P<0,05$). Os tratamentos não influenciaram o rendimento de peito, rendimento de coxas e rendimento de asas ($P>0,05$) (Tabela 11).

TABELA 11- Rendimento de carcaça e cortes de frangos alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase aos 42 dias de idade

	Rendimento de carcaça (%)	Rendimento de peito (%)	Rendimento de coxas (%)	Rendimento de asas (%)
Inclusão de cálcio				
100% Cálcio	78,00 a	29,35	30,80	10,72
82% Cálcio	79,37 b	30,10	31,13	10,84
64% Cálcio	78,47 a	29,94	30,81	10,60
Inclusão de fitase				
750 FTU	78,09 b	29,40	30,95	10,72
1500FTU	79,14 a	30,20	30,87	10,72
Probabilidade estatística				
Cálcio	0,032	0,423	0,886	0,680
Fitase	0,016	0,106	0,905	0,970
Cálcio x fitase	<0,001	0,052	0,971	0,293
CV (%)	1,83	5,61	7,03	6,70

^{a,b} Na coluna, as médias diferem entre si ($P<0,05$) pelo teste Scott-Knott.

Avaliando o RC de forma isolada, observa-se que, aves submetidas ao tratamento com suplementação de fitase apresentaram maiores rendimentos que as aves que receberam apenas 750FTU de fitase (Tabela 15). O maior RC foi atribuído aos animais que foram suplementados com 1500FTU de fitase e 82% da exigência de cálcio em suas dietas. Não houve diferença no RC com a redução de cálcio para aves alimentadas com 750FTU de fitase.

TABELA 12 - Desdobramento da interação de rendimento de carcaça de frangos aos 42 dias de idade alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase

	Rendimento de carcaça		
	100% cálcio	82% Cálcio	64% Cálcio
750 FTU	77,14 Ab	77,77 Ab	77,64 Ab
1500 FTU	78,87Ca	80,97 Aa	79,30 Ba

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma linha diferem entre si ($p < 0,05$).

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$).

Em relação as análises sanguíneas, observou-se efeito dos níveis de fitase para albumina sérica, glicose e inositol em que, animais que receberam a suplementação de 1500FTU de fitase nas dietas apresentaram maiores concentrações destes componentes (Tabela 13). Os níveis de cálcio também influenciaram a concentração de glicose sanguínea. Aves que receberam redução da suplementação de cálcio em suas dietas apresentaram aumento na concentração de glicose circulantes no sangue. Aves alimentadas com redução de 18% de cálcio apresentaram maior concentração de glicose sanguínea. Observou-se interação dos níveis de cálcio e dosagem de enzima fitase sobre a albumina e proteína sérica (Tabela 13).

TABELA 13 - Parâmetros sanguíneos de frangos alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase

	Albumina mg/dL	Globulina mg/dL	Proteína mg/dL	Glicose mg/dL	Inositol mg/dL	Ca mg/dL	P mg/dL
Inclusão de cálcio							
100% Cálcio	1,47	1,83	3,30	1401 c	12432	8,51	4,90
82% Cálcio	1,59	1,87	3,69	1810 a	13562	8,41	5,37
64% Cálcio	1,53	1,78	3,57	1619 b	13091	9,12	4,83
Inclusão de fitase							
750 FTU	1,47 b	1,85	3,49	1524 b	12257 b	8,47	4,92
1500FTU	1,60 a	1,79	3,54	1695 a	13804 a	8,89	5,15
Probabilidade estatística							
Cálcio	0,282	0,734	0,089	<0,001	0,177	0,223	0,168
Fitase	0,041	0,491	0,748	0,029	0,003	0,249	0,331
Ca x fitase	<0,001	0,175	0,010	0,123	0,667	0,969	0,064
CV (%)	11,22	13,69	11,82	11,44	10,06	11,07	11,07

Ca= Cálcio; P=fósforo

^{a,b} Na coluna, as médias diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

No desdobramento das interações, verificou-se maior concentração de albumina sérica para os animais alimentados com 82% dos níveis de cálcio recomendado por Rostagno et al.¹⁷ e 1500FTU de fitase. Para proteína sérica, as aves que receberam 64%

das recomendações de cálcio e com 1500FTU de fitase, apresentaram menor concentração de proteína sanguínea (Tabela 14).

TABELA 14 -Desdobramento da interação da concentração de Albumina e Proteína sanguínea de frangos de corte aos 42 dias de idade alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase

	Albumina		
	100% cálcio	82% Cálcio	64% Cálcio
750 FTU	1,52 Aa	1,49 Ab	1,40 Aa
1500 FTU	1,43 Ba	1,79 Aa	1,58 Ba
	Proteína		
	100% cálcio	82% Cálcio	64% Cálcio
750 FTU	3,47 Aa	3,32 Ab	3,69 Aa
1500 FTU	3,13 Ba	4,06 Aa	3,44 Ba

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma linha diferem entre si ($p < 0,05$).

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$).

2.4 Discussão

As respostas obtidas no presente estudo estão de acordo com o autor citado acima, pois as melhorias de desempenho obtidas foram associadas aos animais que receberam redução de cálcio em suas dietas.

O fitato tem sido pesquisado como inibidor de consumo, pois os resultados de estudos utilizando superdosagem de fitase os animais apresentam maior consumo de ração. Cowieson et al.⁷ consideraram que o efeito da fitase na ingestão de nutrientes e consumo de ração parece permanecer constante, sugerindo que, a fitase ao liberar o fósforo, aumenta o consumo da ração em dietas deficientes em fósforo até que a exigência seja suprida. O aumento do consumo de ração está relacionado com melhores resultados de desempenho obtidos pelos animais alimentados com superdose de fitase. Essa melhoria só pode observada em dietas deficientes em cálcio.

Diferenças significativas encontradas com a redução de cálcio para ganho de peso e o consumo de ração entre os tratamentos podem indicar que o nível de cálcio de 100% é inadequado e limitante no ensaio. O cálcio em excesso pode se ligar ao fósforo inorgânico para formar fosfato de cálcio, que não só é pouco assimilado pelo intestino, mas também tem a capacidade de adsorver outros minerais e impedir sua absorção pelo trato gastrointestinal¹⁹.

O cálcio em excesso aumenta o pH intestinal e diminui a ação da fitase, pela formação de menos substratos catalíticos e devido as fitases microbianas possuírem maior atividade sob pH ácidos²⁰. Nos frangos, o principal local de atividade da fitase é na parte superior do sistema digestivo, que possuem menor pH¹³. O cálcio uma vez em excesso, pode aumentar o pH no proventrículo e prejudicar a ação da pepsina, podendo comprometer o processo de digestão de proteínas, e uso de aminoácidos²¹.

Em estudo de Sommerfeld et al.⁴ em que foram avaliados a taxa de degradação do InP6 e desaparecimento de fósforo, os autores concluíram que a taxa de desaparecimento do InP6 e fósforo reduziu em dietas nas quais tiveram aumento nos níveis de cálcio de 0,62% para 1,03%. Dietas deficientes em cálcio e fósforo apresentaram maior desaparecimento de cálcio no sistema digestivo²¹. O excesso de cálcio na ração também prejudica a disponibilidade de outros minerais por elevar o pH no conteúdo do papo, do íleo, reduzir a solubilidade dos minerais e afetar negativamente a fitase, podendo anulá-la e, em consequência, causar deficiência de fósforo em rações suplementadas com fitase^{23,24,25}.

Os resultados para ganho de peso e conversão alimentar obtidos são indicativos de o nível de 100% de cálcio estava em excesso e que comprometeu a utilização eficiente de proteínas e outros componentes da dieta que podem interagir com o fitato.

Walk et al.²⁵ avaliaram a influência da superdosagem de uma fitase microbiana na dieta sobre o desempenho de frangos em crescimento e observaram que frangos alimentados com redução dos níveis de cálcio e fósforo e com a inclusão de 1000 ou 1500 FTU de fitase apresentaram maiores consumo de ração e ganho de peso e, consequentemente, foram mais eficientes em relação as aves dos demais tratamentos.

A redução da inclusão de cálcio em 18 e 36% proporcionou melhorias no ganho de peso e conversão alimentar de frangos de corte com a utilização de superdose de fitase. A redução do suprimento do cálcio dietético aumenta a solubilidade do fitato no intestino, o que favorece a atuação da fitase endógena e exógena, resultando em maior degradação do fitato. A maior degradação do fitato resulta em melhor utilização do fósforo orgânico e resulta em maior liberação de inositol.

O incremento nas dosagens de fitase nas dietas proporcionou melhorias adicionais para ganho de peso e conversão alimentar em comparação com a menor dose. Muito se tem discutido que, é possível que grande parte do benefício dessa superdosagem da fitase esteja relacionada à produção do inositol, que por meio de uma cascata enzimática

iniciada pela fitase resulta na completa desfosforilação do fitato e produção do inositol^{2,27,28}

O papel do inositol ainda não está totalmente definido, embora seja considerado como metabólito essencial para síntese de fosfolípidos de membrana e lipoproteínas²⁹. O efeito promotor de crescimento pode estar associado a uma série de vias bioquímicas, incluindo vias envolvendo insulina e IGF-1 e fosfatidil-inositol-3 (PI3K)^{7,30,31,32,33}. A re-fosforilação específica do inositol dentro dos tecidos determina seu papel dentro do organismo, proporcionando muitos dos benefícios potenciais atribuídos à superdosagem²⁷.

Os resultados do presente estudo mostraram claro o aumento da concentração de inositol circulantes no sangue de frangos alimentados com 1500FTU de fitase (Tabela 16). De acordo com Schmeisser et al.³³, mais atenção deve ser dada às vantagens de incremento nos níveis de inositol liberados quando a molécula de fitato é totalmente degradada com a utilização de fitase em doses acima do usual. Nesse sentido, Zyla et al.^{34,35} observaram efeitos positivos do suprimento oral de mio-inositol para frangos de corte com suplementações similares aquelas que podem ser liberados pela fitase. Walk et al.² também observaram que a adição de fitase exógena às dietas de frangos de corte resultou em aumento na concentração de inositol na moela e que esses efeitos foram correlacionados com o desempenho das aves.

As melhorias de desempenho obtidas no presente estudo podem ser relacionadas com maior taxa de degradação do fitato e maior liberação de inositol (Tabela 16). Cowieson et al.³⁶ também observaram maior concentração de inositol sanguíneo e melhor desempenho com a utilização de superdosagem da fitase em dietas de suínos.

No presente estudo houve efeito da suplementação de fitase na concentração de glicose sanguínea. Esta observação pode se relacionar à informação proposta por Weigensberg et al.³⁷ de que a glicose e o inositol competem por transporte dependentes de sódio e que altas concentrações de glicose impedem a absorção do inositol. Cowieson et al.²⁷ observaram que a suplementação de fitase na dieta resultou em níveis elevados de insulina, glucagon e aumento concomitante de glicose sérica.

Relacionando os achados deste experimento com humanos, Greene e Lattimer³⁸ constataram que pacientes que sofrem de *diabetes mellitus* tem a atividade da Na-K-ATPase comprometida e a suplementação dietética de 1% de inositol foi eficiente para restabelecer a atividade da Na-K-ATPase e que o inositol via seu envolvimento nos fosfolípidos contendo inositol, pode corrigir a condução nervosa diabética através de

melhorias na atividade Na-K-ATPase. Assim, o aumento na concentração de glicose circulante no presente estudo pode estar associada a alterações induzidas pelo inositol na atividade da Na-K-ATPase, talvez mediada pelo papel do inositol nos fosfolípidios.

As melhorias de desempenho obtidas no presente estudo, como ganho de peso e conversão alimentar podem estar relacionadas com a menor interação do cálcio com o fitato, o que resultou em maior taxa de degradação do fitato, maior liberação de fósforo e maior liberação de inositol.

2.5 Conclusão

A utilização de 1500 FTU de fitase/kg de ração melhora a conversão alimentar e rendimento de carcaça de frangos de corte aos 42 dias de idade.

A suplementação de 1500 FTU de fitase/kg de ração proporcionou maior concentração de inositol sanguíneo em frangos de corte.

Frangos de corte alimentados com redução de 36% de cálcio e 1500 FTU de fitase apresentaram melhor conversão alimentar aos 42 dias de idade.

A suplementação de 100% das recomendações de cálcio com suplementação de fitase nas condições avaliadas está superestimada pois a redução da suplementação de cálcio em até 36% proporcionou melhores índices zootécnicos.

2.6 Referências

1. Oliveira EM. Diferentes inclusões de fitase em dietas de frangos de corte. [Tese]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2016.
2. Walk CL, Bedford MR, Santos TS, Paiva D, Bradley JR, Wlodecki H, Honaker C, McElroy AP. Extra-phosphoric effects of superdoses of a microbial phytase. *Poult. Sci.* 2013; 92 (3): 719-725.
3. Brunelli SR, Pinheiro JW, Bridi AM, Fonseca NAM, Silva CA, Oba A. Efeitos da fitase no desempenho e na qualidade da carne de frangos de corte. *Ciências Agrárias.* 2012; 33 (2): 3279-3286.
4. Sommerfeld V, Schollenberger M, Kuhn I, and Rodehutsord M. Interactive effects of phosphorus, calcium, and phytase supplements on products of phytate degradation in the digestive tract of broiler chickens. *Poult. Sci.* 2018; 0: 1–12.
5. Cowieson AJ, Aureli R, Guggenbuhl P, Fru-Nji F. Phytate-free nutrition: a new paradigm in monogastric animal production. *Journal Animal Feed Science.* 2016; 222, 180–189.
6. Lelis GR, Albino LFT, Tavernari FC, Rostagno HS. Suplementação dietética de fitase em dietas para frangos de corte. *R Eletrônica Nutritime.* 2009; 6 (2): 875-889.
7. Cowieson AJ, Wilcockp, and Bedford MR. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. *World's Poultry Science Journal.* 2011; 67.
8. Tamim NM, Angel R, Christman M. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolyses in broiler chickens. *Poult. Sci.* 2004; 83(8): 1358–1367.
9. Maenz, DD, Classen HL. Phytase activity in the small intestine brush border membrane of the chicken. *Poult. Sci.* 1998; 77, 557–563.
10. Nardelli NBS, Naves LP, Oliveira DP, Garcia Junior AAP, Lima EMC, EC, Rodrigues PB. Supplementation of fungal and/or bacterial phytase in broiler diets formulated with reduced phosphorus level and different calcium contents. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 2018; 47.
11. Olukosi OA, Kong C, Fru-nji F, Ajuwon KM, Adeola O. Assessment of a bacterial 6-phytase in the diets of broilers chickens. *Poultry Science.* 2013; 92 (8): 2101-2108.
12. Woyengo, T. A., and C. M. Nyachoti. Review: Supplementation of phytase and carbohydrases to diets for poultry. *Canadian Journal Animal Science.* 2011; 91:177–192.

13. Dersjant-Li Y., AwatiUMA., Schulze H., Perdiz G. Fitase na nutrição animal não ruminante: uma revisão crítica sobre as atividades da fitase no trato gastrointestinal e fatores de influência. *J Sci. Food Agriculae*. 2015; 95: 878-896.
14. Zeller, E., M. Schollenberger, M. Witzig, E. Shastak, I. K`uhn, L. Hoelzle, and M. Rodehutschord. Interactions between supplemented mineral phosphorus and phytase on phytate hydrolysis and inositol phosphates in the small intestine of broilers. *Poultry Science*. 2015; 94:1018–1029.
15. Ravindran V, Cowieson AJ, Selle PH. Influence of dietary electrolyte balance and microbial phytase on growth performance, nutrient utilization, and excreta quality of broiler chickens. *Poultry Science*. 2008; 87 (4): 677-688.
16. SBCAL- Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório. Guia Brasileiro de Boas Práticas em Eutanásia em Animais: Conceitos e Procedimentos Recomendados. 2012; 1: 62, 2012.
17. Rostagno HS, Albino, LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT, Euclides RF. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 4ª ed; 2017: p488.
18. MR Core Tean. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. 2019.
19. Rama Rao SV, Raju MVLN, Reddy MR, Pavani P. Interaction between dietary calcium and non-phytate phosphorus levels on growth, bone mineralization and mineral excretion in commercial broilers. *Animal Feed Science and Technology*. 2006; 131:133-148.
20. Selle PH, Cowieson AJ, Ravindran V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. *Lives. Science*. 2009; 124 (1-3): 126–141.
21. Walk CL, Addo-Chidie EK, Bedford MR, Adeola O. Evaluation of highly soluble calcium source and phytase in the diets of broilers chickens. *Poult. Scie*. 2012; 91 (9): 2255-2263.
22. Rodehutschord, M., and P. Rosenfelder. Update on phytate degradation pattern in the gastrointestinal tract of pigs and broiler chickens. In *Phytate Destruction*. C. L. Walk, I. K`uhn, H. H. Stein, M. T. Kidd, and M. Rodehutschord, eds., Wageningen Academic Publishers, Wageningen. 2016; p.15–32
23. Shafey TM, McDonald MW, Dingle JG. Effects of dietary calcium and available phosphorus concentration on digesta pH and on availability of calcium, iron, magnesium and zinc from intestinal contents of meat chickens. *Brit. Poultry Science*. 1991; 32 (1): 185-194.

24. Wyatt CL, Miloud A, Bedford M. Current advances in feed enzymes for corn-soya based poultry and swine diets: emphasis on cell wall and phytate. 65th Minnesota Nutrit. Confer; 2004. 21-22p.
25. Adeola O, Walk CL. Linking ileal digestible phosphorus and bone mineralization in broilers chickens fed diets supplemented with phytase and highly soluble calcium. Poul. Sci. 2013; 92 (8): 2109-2117.
26. Walk CL, Santos TT, and Bedford MR. 2014. Influence of superdoses of a novel microbial phytase on growth performance, tibia ash, and gizzard phytate and inositol in young broilers. Poultry Science. 2014; 93 :1172–1177.
27. Cowieson AJ, Ptak A, Mackowiak P, Sassek M, Oszmalek-Pruszyńska E, Zyla K, Swiatkiewicz S, Kaczmarek S, Jozefiak D. The effect of microbial phytase and myo-inositol on performance and blood biochemistry of broiler chickens fed wheat/corn-based diets. Poultry Science. 2013; 92 (8): 2124-2134.
28. Santos TT, O'Neill HVM, Gonzales-Ortiz G, Fernandes DC, Lopez-Coelho C. Xylanase, protease and superdosing phytase interactions in broiler performance, carcass yield and digesta transit time. Animal Nutrition. 2017; 3 (2), 121-126.
29. McDowell LR. Vitamin-like substances. In: Vitamins in Animal and Human Nutrition., 2ed. L. R. McDowell, ed. Iowa State University Press, Ames. 2000. P.660.
30. Michell RH. Inositol derivatives: Evolution and functions. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2008; 9:151–161.
31. Cowieson AJ, Aureli R, Guggenbuhl P, Fru-Nji F. Possible involvement of myo-inositol in the physiological response of broilers to high doses of microbial phytase. Journal Animal Feed Science. 2014; 55: 710–719.
32. Lee SA, and Bedford MR. Inositol - An effective growth promoter? World's Poultry Science. 2016; 72: 743–760.
33. Schmeisser J, Seon AA, Aureli R, Friedel A, Guggenbuhl O, Duval APS, Cowieson AJ, and Fru-Nji F. Exploratory transcriptomic analysis in muscle tissue of broilers fed a phytase-supplemented diet. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 2017; 101(3):563-575
34. Zyla K, Dulinski R, Pierzchalska M, Grabacka M, Józefiak D, Swiatkiewicz S. Phytases and myo-inositol modulate performance, bone mineralization and alter lipid fractions in the serum of broilers. Journal Animal Feed Science. 2013; 22: 56–62.
35. Cowieson AJ, Ruckebusch JP, Knap I, Guggenbuhl P, Fru-Nji F. Phytate-free nutrition: A new paradigm in monogastric animal production. Animal Feed Science and Technology. 2016; 222: 180–189.

36. Cowieson AJ, Ruckebusch JP, Wilson JW, Guggenbuhl P, Lu H, Ajuwon KM and Adeola O. A systematic view on the effect of phytase on ileal amino acid digestibility in broilers. *Animal Feed Science Technology*. 2017; 225: 182–194.
37. Weigensberg, M. J., F. J. Garcia-Palmer, and N. Freinkel. Uptake of *myo*-inositol by early-somite rat conceptus. *Diabetes*. 1990; 39:575–582.
38. Greene DA, and Lattimer SA. Impaired rat sciatic nerve sodium-potassium adenosine triphosphate in acute streptozocin diabetes and its correction by dietary. *The Journal of Clinical Investigation*. 1983; 72(3):1058-1063.

CAPÍTULO 3 - EFEITO DA REDUÇÃO DO CÁLCIO E NÍVEIS DE FITASE NA QUALIDADE DE CARNE DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO: Dois experimentos foram conduzidos para avaliar a interação dos níveis de cálcio e níveis de fitase microbiana sobre a qualidade da carne de frangos de corte aos 42 dias de idade. No primeiro experimento, 864 pintos de um dia, machos, Cobb500®, foram alojados em boxes e distribuídos aleatoriamente em delineamento inteiramente casualizado e esquema fatorial 2 x 3, com seis tratamentos, oito repetições e 18 aves cada. No segundo experimento, 360 pintos foram alojados e distribuídos aleatoriamente em delineamento inteiramente casualizado e em esquema fatorial 2 x 3, com seis tratamentos, seis repetições, 10 aves cada e foi coletado amostras do músculo peitoral para avaliação histológica semanalmente. Os tratamentos foram os mesmos para ambos os experimentos, sendo constituídos por duas inclusões de fitase (750 e 1500FTU fitase) e três níveis de cálcio (100, 82 e 64%) sendo considerados 100%, 1,011% fase pré-inicial, 0,907% fase inicial, 0,822% fase de crescimento e 0,661% fase final. No segundo experimento, foi coletado amostra de músculo para avaliação histológica do peito de frango semanalmente. A análise dos dados foi realizada utilizando análise de variância a 5% de probabilidade e comparadas pelo teste de Scott-Knott. A redução da inclusão de cálcio nas dietas reduziu a perda de líquido por cocção, e aumentou a força de cisalhamento da carne de peito de frango. A inclusão de 1500FTU de fitase proporcionou menor perda de líquido por descongelamento. A redução da inclusão de cálcio associada com a suplementação de fitase diminuiu a força de cisalhamento. Não houve efeito dos níveis de cálcio e suplementação de enzima fitase sobre a incidência de peito amadeirado aos 42 dias de idade. Houve efeito da redução do cálcio sobre a produção de lactato do músculo do peito . O nível de 1500FTU de fitase aumentou a produção de lactato do músculo peitoral dos frangos. Os tratamentos dietéticos não foram suficientes para detecção de alterações histológicas do peito de frango. A redução de cálcio com a suplementação de superdose de fitase proporciona melhorias nas características organolépticas da carne.

Palavras-chave: ácido fítico, força de cisalhamento, inositol, peito amadeirado

CHAPTER 3 - EFFECT OF REDUCING CALCIUM AND PHYTASE LEVELS ON CHICKEN MEAT QUALITY

ABSTRACT: Two experiments were conducted to evaluate the interaction of levels and levels of color microbial of quality meat of broilers at 42 days of age. In the first experiment, 864 male day-old Cobb500® chicks were housed in boxes and randomly distributed in a casually finished design with a 2 x 3 factorial scheme, with six treatments, eight repetitions and 18 birds each. In the second experiment, 360 chicks were housed and randomly distributed in a randomized design and a 2 x 3 factorial scheme, with six trials, six replications, 10 birds each and were collected by the pectoral muscle for weekly histological evaluation. The controls were the same for both experiments, consisting of two tape inclusions (750 and 1500FTU tapes) and three calcium levels (100, 82 and 64%) being considered 100%, 1,011% pre-initial phase, 0.907%. initial phase, 0.822% growth phase and 0.661% final phase. In the second experiment, a muscle sample was collected for histological evaluation of the chicken breast weekly. Data analysis was performed using the 5% probability variance analysis and compared by the Scott-Knott test. Reducing calcium inclusion in diets reduces cooking fluid loss and increases shear force of chicken breast meat. The inclusion of 1500FTU of tapes provided less liquid loss by thawing. Reduction in calcium inclusion associated with tape supplementation decreased shear strength. There was no effect of calcium levels and enzyme supplementation on the incidence of woody breast at 42 days of age. There was an effect of calcium reduction on breast muscle lactate production. The 1500FTU level of tapes increased lactate production of the pectoral muscle of the francs. Dietary controls were not allowed to detect histological changes in chicken breast. Calcium reduction with tape overdose supplementation provides improvements in the organoleptic characteristics of meat.

Keywords: inositol, phytic acid, shear force, woody breast

3.1 Introdução

O fósforo (P) presente nas plantas está como ácido fítico (mio-inositol 1,2,3,4,5,6-hexafosfato- InsP_6) e, nesta forma, encontra-se pouco disponível para animais não ruminantes^{1,2}. A quebra dos grupos fosfatos da molécula de fitato por fosfatases é necessária para torná-los disponíveis. Desta forma, a fitase exógena é utilizada na alimentação de frangos de corte com o objetivo de melhorar a utilização de fósforo presentes nas dietas.

O aumento nas dosagens de fitase na dieta tem proporcionado melhorias adicionais para ganho de peso e conversão alimentar³. Acredita-se que boa parte do benefício da superdosagem da fitase esteja relacionada à produção do inositol, que por meio de uma cascata enzimática iniciada pela fitase, resulta na completa desfosforilação do fitato e produção do inositol^{4,5}. Porém, ainda pouco se sabe a respeito de seus efeitos nas características de carcaça e nas principais características de qualidade e aceitação da carne pelo consumidor, como por exemplo, coloração, perda de exsudatos, maciez e oxidação de tecidos⁶.

Embora seja considerado como metabólito essencial na síntese de fosfolipídios de membrana e lipoproteínas, a função do inositol proveniente da dieta ainda não está completamente definida⁷. Os ésteres de inositol fosfato presentes no citoplasma de células animais servem como protetores osmóticos e atuam como segundos mensageiros intracelulares e em aves aumentam a difusão de oxigênio. O inositol hexafosfato apresenta potente ação antioxidante, atuando na quelação de cátions bivalentes, prevenindo a formação de substâncias reativas a oxigênio⁸.

A fitase tem sido investigada por seu possível efeito no desenvolvimento muscular e prevenção da oxidação de tecidos, devido sua ação na quebra do fitato e liberação do inositol. Schmeisser et al.⁵ avaliaram alguns genes envolvidos no desenvolvimento muscular e observaram que a expressão dos genes selecionados foi incrementada em aves que receberam fitase nas rações.

Objetivou-se avaliar a redução dos níveis de cálcio e adição de níveis de fitase microbiana e efeitos sobre a coloração, perda de líquido por descongelamento, perda de líquido por cocção, maciez, composição química, incidência de peito amadeirado do e desenvolvimento histológico do músculo peitoral de frangos de corte aos 42 dias de idade.

3.2 Material e Métodos

Dois experimentos foram conduzidos no setor de avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil. O projeto de pesquisa vinculado ao presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para uso de animais (CEUA) da UFG, sob o protocolo nº 024/2017, e está de acordo com os princípios éticos na experimentação animal⁹.

No primeiro experimento, as aves foram alojadas e criadas no galpão industrial da UFG do primeiro aos 42 dias de idade, com ração e água fornecidas à vontade em todo o período experimental. Um total de 864 pintos de corte machos (peso médio de 46,9g \pm 0,2g) da linhagem Cobb500®, provenientes de um incubatório industrial foram utilizados para realização do experimento. Boxes móveis foram montados no galpão industrial da UFG, forrados com cama nova de casca de arroz, sistema de aquecimento central a gás, bebedouro tipo *nipple* e comedouro tubular.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado e em esquema fatorial 3x2, com três níveis de cálcio e dois níveis de fitase, totalizando seis tratamentos, oito repetições, obtendo um total de 48 unidades experimentais compostas por 18 aves.

Os tratamentos foram constituídos por três níveis de cálcio (100%, 82% e 64%) e duas inclusões de fitase 750FTU/kg e 1500FTU/kg de ração. Considerou-se os níveis de 1,011% como 100% das recomendações de Rostagno et al.¹⁰ de cálcio para fase pré-inicial, 0,907% para a inicial, 0,822% para crescimento e 0,661% para a fase final. Para a exigência de fósforo (P) na dieta, foi considerada a valorização da matriz da fitase para liberação de fósforo e suplementação de fosfato para atendimento da exigência nutricional por fase. Os valores de fósforo recomendados por Rostagno et al.¹⁰ para fase pré-inicial foram de 0,482%, para a fase inicial de 0,432%, na fase de crescimento foi de 0,384% e na fase final de 0,309%.

As dietas experimentais foram formuladas a base de milho e farelo de soja e as tabelas brasileiras de aves e suínos¹⁰ foi utilizada como referência para atendimento nutricional para fase pré-inicial (Tabela 1), inicial (Tabela 2), crescimento (Tabela 3) e fase final (Tabela 4).

TABELA 1 - Composição das dietas experimentais fase pré-inicial (1- 7 dias)

Ingredientes	Ca 100+	Ca 82 +	Ca 64 +	Ca 100 +	Ca 82 +	Ca 64 +
	750FTU	750FTU	750FTU	1500FTU	1500FTU	1500FTU
Milho grão	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79
Farelo de soja, 46%	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95
Glúten de milho, 60%	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54
Sal comum	0,46	0,47	0,46	0,47	0,46	0,47
Calcário ¹	2,41	1,98	1,54	2,41	1,98	1,54
MAP, 61% ²	0,59	0,35	0,35	0,59	0,35	0,35
DL-metionina	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
L-lisina	0,21	0,213	0,21	0,213	0,21	0,213
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
L-valina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Premix Min e Vit ³	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bicarbonato	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Fitase	0,008	0,008	0,008	0,015	0,015	0,015
Inerte ⁴	0,007	0,690	1,122	0,000	0,680	1,114
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis Nutricionais						
Cálcio, %	1,011	0,829	0,647	1,011	0,929	0,647
Fosforo disp, %	0,482	0,482	0,482	0,482	0,482	0,482
Energia met, kcal/kg	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000
Proteína bruta, %	25,310	25,310	25,310	25,310	25,310	25,310
Met+cist diges, %	0,989	0,989	0,989	0,989	0,989	0,989
Lisina dig, %	1,364	1,364	1,364	1,364	1,364	1,364
Treonina dig, %	0,882	0,882	0,882	0,882	0,882	0,882
Triptofano dig, %	0,269	0,269	0,269	0,269	0,269	0,269
Valina dig, %	1,029	1,029	1,029	1,029	1,029	1,029

¹ Calcário calcítico 36%

² MAP - Fosfato monoamônio

³ Premix mineral e vitamínico (quantidade\kg produto): Vitamina A- 2.000.000,00UI; Vitamina D3- 600.000,00UI; Vitamina E- 5.000UI; Vitamina K- 450mg; Vitamina B1- 500mg; Vitamina B2- 1.500mg; Vitamina B6- 700mg; Vitamina B12- 2.500mcg; Ácido pantotênico- 3.500; Ácido Nicotínico- 9.000mg; Ácido fólico- 250mg; Biotina- 15mg; Colina- 80g; Cobre- 2.500mg; Ferro- 10g; Manganês- 20g; Iodo- 250 mg; Zinco- 18g; Selênio- 75mg; Virginiamicina- 4.125mg; Nicarbazina- 10g; Maduramicina 937,5mg.

⁴ Areia foi substituída por fitase comercialmente denominada de Quantum Blue® derivada de *E. Coli*.

TABELA 2 - Composição das dietas experimentais da fase inicial (8 – 21 dias)

Ingredientes	Ca100+	Ca 82 +	Ca 64 +	Ca 100 +	Ca 82 +	Ca 64 +
	750FTU	750FTU	750FTU	1500FTU	1500FTU	1500FTU
Milho grão	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79
Farelo de soja, 46%	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95
Glúten de milho,60%	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54
Sal comum	0,46	0,47	0,46	0,47	0,46	0,47
Calcário ¹	2,41	1,98	1,54	2,41	1,98	1,54
MAP, 61% ²	0,59	0,35	0,35	0,59	0,35	0,35
DL-metionina	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
L-lisina	0,21	0,213	0,21	0,213	0,21	0,213
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
L-valina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Premix Min e Vit ³	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bicarbonato	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Fitase	0,008	0,008	0,008	0,015	0,015	0,015
Inerte ⁴	0,007	0,690	1,122	0,000	0,680	1,114
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis Nutricionais						
Cálcio, %	0,907	0,744	0,580	0,907	0,744	0,580
Fosforo disp, %	0,432	0,432	0,432	0,432	0,432	0,432
Cloro, %	0,316	0,316	0,316	0,316	0,316	0,316
Sódio, %	0,221	0,221	0,221	0,221	0,221	0,221
Potássio, %	0,983	0,983	0,983	0,983	0,983	0,983
Energia met, kcal/kg	3100	3100	3100	3100	3100	3100
Proteína bruta, %	24,300	24,300	24,300	24,300	24,300	24,300
Met+cist diges, %	0,966	0,966	0,966	0,966	0,966	0,966
Lisina dig, %	1,306	1,3060	1,3060	1,3060	1,3060	1,3060
Treonina dig, %	0,862	0,862	0,862	0,862	0,862	0,862
Triptofano dig, %	0,265	0,2657	0,2657	0,2657	0,2657	0,2657
Valina dig, %	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006

¹ Calcário calcítico 36%

² MAP - Fosfato monoamônio

³ Premix mineral e vitamínico (quantidade\kg produto): Vitamina A- 2.000.000,00UI; Vitamina D3- 600.000,00UI; Vitamina E- 5.000UI; Vitamina K- 450mg; Vitamina B1- 500mg; Vitamina B2- 1.500mg; Vitamina B6- 700mg; Vitamina B12- 2.500mcg; Ácido pantotênico- 3.500; Ácido Nicotínico- 9.000mg; Ácido fólico- 250mg; Biotina- 15mg; Colina- 80g; Cobre- 2.500mg; Ferro- 10g; Manganês- 20g; Iodo- 250 mg; Zinco- 18g; Selênio- 75mg; Virginiamicina- 4.125mg; Nicarbazina- 10g; Maduramicina 937,5mg.

⁴ Areia foi substituída por fitase comercialmente denominada de Quantum Blue® derivada de *E. Coli*.

TABELA 3 - Composição das dietas experimentais da fase de crescimento (21-35 dias)

Ingredientes	Ca 100+	Ca 82 +	Ca 64 +	Ca 100 +	Ca 82 +	Ca 64 +
	750FTU	750FTU	750FTU	1500FTU	1500FTU	1500FTU
Milho grão	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79
Farelo de soja, 46%	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95
Glúten de milho,60%	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54
Sal comum	0,46	0,47	0,46	0,47	0,46	0,47
Calcário ¹	2,41	1,98	1,54	2,41	1,98	1,54
MAP, 61% ²	0,59	0,35	0,35	0,59	0,35	0,35
DL-metionina	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
L-lisina	0,21	0,213	0,21	0,213	0,21	0,213
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
L-valina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Premix Min e Vit ³	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bicarbonato	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Fitase	0,008	0,008	0,008	0,015	0,015	0,015
Inerte ⁴	0,007	0,690	1,122	0,000	0,680	1,114
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis Nutricionais						
Cálcio, %	0,822	0,674	0,526	0,822	0,674	0,526
Fosforo disp, %	0,384	0,384	0,384	0,384	0,384	0,384
Energia met, kcal/kg	3200	3200	3200	3200	3200	3200
Proteína bruta, %	22,62	22,62	22,62	22,62	22,62	22,62
Met+cist diges, %	0,914	0,914	0,914	0,914	0,914	0,914
Lisina dig, %	1,235	1,235	1,235	1,235	1,235	1,235
Treonina dig, %	0,815	0,815	0,815	0,815	0,815	0,815
Triptofano dig, %	0,237	0,237	0,237	0,237	0,237	0,237
Valina dig, %	0,951	0,951	0,951	0,951	0,951	0,951

¹ Calcário calcítico 36%

² MAP - Fosfato monoamônio

³ Premix mineral e vitamínico (quantidade\kg produto): Vitamina A- 1.750.000,00UI; Vitamina D3- 500.000,00UI; Vitamina E- 3.000UI; Vitamina K- 375mg; Vitamina B1- 400mg; Vitamina B2- 1.250mg; Vitamina B6- 750mg; Vitamina B12- 2.500mcg; Ácido pantotênico- 3.250; Ácido Nicotínico- 8.000mg; Ácido fólico- 250mg; Biotina- 15mg; Colina- 80g; Cobre- 2.500mg; Ferro- 10g; Manganês- 20g; Iodo- 250 mg; Zinco- 18g; Selênio- 75mg; Virginiamicina- 4.125mg; Salinomicina sódica- 16,5g.

⁴ Areia foi substituída por fitase comercialmente denominada de Quantum Blue® derivada de *E. Coli*.

TABELA 4 - Composição das dietas experimentais da fase final (35 – 42 dias)

Ingredientes	Ca100+	Ca 82 +	Ca 64 +	Ca 100 +	Ca 82 +	Ca 64 +
	750FTU	750FTU	750FTU	1500FTU	1500FTU	1500FTU
Milho grão	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79
Farelo de soja, 46%	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95
Glúten de milho, 60%	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54
Sal comum	0,46	0,47	0,46	0,47	0,46	0,47
Calcário ¹	2,41	1,98	1,54	2,41	1,98	1,54
MAP, 61% ²	0,59	0,35	0,35	0,59	0,35	0,35
DL-metionina	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
L-lisina	0,21	0,213	0,21	0,213	0,21	0,213
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
L-valina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Premix Min e Vit ³	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bicarbonato	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Fitase	0,008	0,008	0,008	0,015	0,015	0,015
Inerte ⁴	0,007	0,690	1,122	0,000	0,680	1,114
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis Nutricionais						
Cálcio, %	0,661	0,542	0,423	0,661	0,542	0,423
Fosforo disp, %	0,306	0,306	0,306	0,306	0,306	0,306
Energia met, kcal/kg	3250	3250	3250	3250	3250	3250
Proteína bruta, %	19,540	19,540	19,540	19,540	19,540	19,540
Met+cist diges, %	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790
Lisina dig, %	1,067	1,067	1,067	1,067	1,067	1,067
Treonina dig, %	0,704	0,704	0,704	0,704	0,704	0,704
Triptofano dig, %	0,199	0,199	0,199	0,199	0,199	0,199
Valina dig, %	0,822	0,822	0,822	0,822	0,822	0,822

¹ Calcário calcítico 36%

² MAP - Fosfato monoamônio

³ Premix mineral e vitamínico (quantidade\kg produto): Vitamina A- 1.500.000,00UI; Vitamina D3- 350.000,00UI; Vitamina E- 3.500UI; Vitamina K- 350mg; Vitamina B1- 250mg; Vitamina B2- 1.250mg; Vitamina B6- 250mg; Vitamina B12- 2.500mcg; Ácido pantotênico- 4.000; Ácido Nicotínico- 11g; Ácido fólico- 400mg; Biotina- 15mg; Colina- 150g; Cobre- 4.500mg; Ferro- 20g; Manganês- 30g; Iodo- 400 mg; Zinco- 25g; Selênio- 100mg.

⁴ Areia foi substituída por fitase comercialmente denominada de Quantum Blue® derivada de *E. Coli*.

Ao final do período experimental (aos 42 dias de idade), três aves por unidade experimental foram identificadas, pesadas e separadas. Duas aves de cada parcela experimental foram submetidas a aproximadamente oito horas de jejum para esvaziamento do trato gastrintestinal, sendo novamente pesadas para obter o peso das aves em jejum. Em seguida, as aves foram insensibilizadas e abatidas por sangria, foram depenadas, posteriormente evisceradas e coletadas amostras para avaliação da qualidade de carne⁹.

As amostras de peito coletadas foram cortadas e congeladas, sendo os lados direito e esquerdo separados em sacos plásticos devidamente identificados. As análises de qualidade de carne realizadas foram: coloração, perdas de líquido por descongelamento, perda de líquido por cocção, força de cisalhamento, composição química e score de incidência de peito amadeirado

Aos 42 dias de idade uma ave por repetição foi identificada e abatida para análise da ocorrência de peito amadeirado. A ocorrência foi avaliada de forma visual, por meio de toque quanto à dureza do músculo e foi atribuído escores da gravidade da miopatia, sendo: 0 = peito normal; 1 = lesão moderada para o músculo com até 30% comprometido e 2 = lesão severa para os músculo com 50% comprometido, conforme metodologia utilizada por Sihvo et al.¹¹ (Figura 1).



FIGURA 1 - Análise macroscópica da musculatura do peito de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Após o abate, amostras do peito direito foram resfriadas em câmara fria à 4°C e retiradas 24 horas após para realização das análises colorimétricas 'a fresco', sendo em seguida essas mesmas amostras congeladas em freezer à -20°C por um período de até 30 dias, para realização das análises subsequentes (perda de exsudados e maciez).

A análise de coloração, foi realizada 24 horas após o abate dos animais, utilizando colorímetro (CHROMA COLOR CR-400) e os parâmetros de cor (CIE L*a*b), sendo (L) luminosidade, (*a) teor de vermelho, (*b) teor de amarelo, determinados a partir de leitura direta sobre as amostras de carne, em cinco pontos do filé¹².

A mensuração das perdas de líquido por descongelamento (PLD), as amostras de carne de peito congeladas de um dos antímeros foram pesadas, identificadas e colocadas na grade de refrigerador doméstico por 24 horas, à 4°C, para descongelamento a frio. Após esse período, a amostra foi retirada da geladeira, enxugada levemente com papel toalha e pesada novamente¹³. Para cálculo, a fórmula utilizada foi:

$$PLD = \frac{\text{Peso amostra congelada} - \text{Peso da amostra descongelada}}{\text{Peso da amostra congelada}} \times 100$$

A perda de líquido por cocção (PLC), foi determinada utilizando a mesma amostra utilizada para determinação da PLD. A amostra permaneceu por 30 minutos à temperatura ambiente e, em seguida, assada em forma com grelha, com forno previamente aquecido por 20 minutos a 150°C, padronizando-se o mesmo número de amostras por fornalha¹³. As amostras foram assadas sem adição de qualquer condimento até atingirem a temperatura interna de 70°C. O monitoramento da temperatura interna dos bifes foi acompanhado com termômetros tipo K, cuja sonda foi inserida no centro geométrico de um dos bifes. Após atingir a temperatura interna de 35°C, os cortes de peito foram virados na grelha de cozimento onde permaneceram até atingir a temperatura interna desejada (70°C). Ao atingir temperatura de 70°C, as amostras foram retiradas do forno, colocadas sobre a bancada e mantidas à temperatura ambiente por 30 minutos para resfriarem e posteriormente foram pesadas para que fosse calculada a perda de líquido (Bafa, 2014). A fórmula utilizada para cálculo foi:

$$PLC = \frac{\text{Peso amostra descongelada} - \text{Peso da amostra assada}}{\text{Peso da amostra descongelada}} \times 100$$

As mesmas amostras (bifes assados) utilizadas anteriormente para determinação de PLC foram usadas para mensuração da força de cisalhamento. Quatro sub-amostras

retangulares, de 1 cm x 1 cm x 2cm foram removidas de cada bife, de forma paralela à orientação das fibras musculares iniciando os cortes 2cm abaixo da porção cranial do peito, sendo o corte realizado por bisturi com auxílio de um paquímetro. As sub-amostras foram cisalhadas perpendicularmente à orientação das fibras musculares, utilizando-se lâmina de corte em “V” invertido, com angulação de 60° e espessura de 1,06 mm de espessura e velocidade de 25 mm/segundo, acoplada ao aparelho de Warner-Bratzler¹³.

Para composição química, as amostras do peito esquerdo foram utilizadas para determinar a composição química do músculo. Os espectros de RMN de ¹H foram realizados utilizando um espectrômetro Bruker Avance III 500. Para as análises 0,2 g de carne foram homogeneizadas em um equipamento Fast-Prep (7,5 msec/sec; 15 segundos) com 1,2 mL de água destilada. Transferiu-se 1 mL da solução para um tubo que foi centrifugado (8 minutos, 10.000 rpm). Posteriormente, 500 µL do sobrenadante foi transferido para um novo tubo e foram adicionados 571 µL de clorofórmio. As amostras foram homogeneizadas manualmente e então centrifugadas (2 minutos, 10.000 rpm). Uma alíquota do sobrenadante (357 µL) foi transferida para o tubo de RMN e foram adicionados 200 µL de solução D₂O / DSS / Azida de sódio. Os espectros foram adquiridos usando a sequência de pulsos *noesygppr1d_d1_split* com supressão do sinal dos hidrogênios do solvente, usando os seguintes parâmetros: tamanho do FID de 32 k, número de espectros (*scans*) de 16, número de *dummy scans* de 16, tamanho da janela espectral de 12 ppm, tempo de aquisição de 2,28 segundos e tempo de espera (d1) de 5 segundos. Os espectros de RMN foram processados, ajustados e quantificados usando o software Topspin 3.1, e para quantificação e calibração do espectro foi utilizado o sinal do DSS (δ 0.00). Os aminoácidos determinados foram, niacinamida, carnosina, hipoxantina, fenilalanina, fumarato, inosina, lactato, creatina, guanidoacetato, glicina e N,N-dimetilglicina, glutamina, acetato, alanina, isoleucina, valina e leucina.

No segundo experimento, as aves foram alojadas e criadas no galpão industrial da UFG do primeiro aos sete dias de idade, com ração e água fornecidas à vontade em todo o período experimental. Um total de 360 pintos de corte machos, da linhagem Cobb500®, provenientes de um incubatório industrial foram utilizados para realização do experimento. Boxes moveis foram montados no galpão industrial da UFG, forrados com cama nova de casca de arroz, sistema de aquecimento central a gás, bebedouro tipo *nipple* e comedouro tubular.

Aos sete dias de idade, as aves foram transferidas para o galpão com gaiolas metabólicas. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado e em

esquema fatorial 3x2, com seis tratamentos e seis repetições, obtendo um total de 36 unidades experimentais compostas por 10 aves. As dietas, assim como os tratamentos e fases, foram as mesmas utilizadas para condução do experimento 1.

Aos sete, 14, 21, 28, 35 e 42 dias, uma ave por unidade experimental foi abatida por deslocamento cervical e posteriormente foram coletados fragmentos de músculo *Pectoralis major* por meio de bisturi. As amostras colhidas foram lavadas em solução fisiológica e fixados em tubos identificados com formol tamponado a 10% por 24 horas, sendo em seguida encaminhadas ao laboratório para preparo e confecção das lâminas histológicas, conforme metodologia descrita por Sihvo et al.¹¹.

Nas lâminas confeccionadas foram observadas alterações ocorridas na célula muscular do peito, como, DEG= degeneração; NEC= Necrose; IMON= Infiltrado Inflamatório Mononuclear; IMAC= Infiltrado Inflamatório Macrofágico; IPOL= Infiltrado Inflamatório Polimorfonuclear; HIP= Hiperemia/Congestão; HEM= Hemorragia; FIB= Fibrose; EDE= Edema.

A análise dos dados de coloração, perda de líquido por descongelamento, perda de líquido por cocção e força de cisalhamento foram realizados utilizando-se análise de variância (ANOVA). As médias quando estatisticamente diferentes a 5% de significância, foram comparadas pelo Teste de Scott-Knott.

Os escores obtidos para incidência de peito amadeirado foram submetidos aos testes de Kruskal-Wallis e com ajuste de Bonferroni ($P < 0,05$).

Os escores obtidos com as análises histológicas dos peitos de frangos foram submetidas ao teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).

Foi utilizado o software de estatística *R Development Core Team*¹⁴.

As variáveis foram analisadas segundo o modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + N_{lj} + FN_{lij} + e_{ijk},$$

em que:

Y_{ijk} = observação k da unidade experimental submetida aos tratamentos F_i e N_{lj} ;

μ = constante geral;

F_i = efeito dos níveis de cálcio (100, 82 e 36%);

N_{lj} = efeito dos níveis de fitase (750 e 1500FTU);

FN_{lij} = efeito da interação dos níveis de cálcio \times níveis de fitase

e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

3.3 Resultados

Houve efeito da inclusão de fitase na perda de líquido por descongelamento ($P<0,05$). A inclusão de fitase em 1500FTU/Kg de ração proporcionou redução na perda de líquido por descongelamento na carne de frango com 42 dias de idade (tabela 5).

Quanto as características de qualidade de carne analisadas, observou-se que houve efeito da redução dos níveis de cálcio no teor de amarelo da carne ($P<0,05$). Aves alimentadas com 18 e 36% de redução da inclusão de cálcio apresentaram menor concentração da coloração amarela do músculo peitoral aos 42 dias de idade ($P<0,05$) (tabela 5).

Houve interação dos níveis de cálcio e dose de fitase na perda de líquido por cocção e força de cisalhamento da carne de frangos aos 42 dias de idade (Tabela 5). Portanto foi necessário realizar o desdobramento das interações (Tabela 6).

TABELA 5 - Qualidade da carne de frangos alimentados com redução de cálcio e suplementados com níveis de fitase aos 42 de idade

	L*	a*	b*	PLD %	PLC%	FC (kg/f)
Inclusão de cálcio						
100% Cálcio	51,50	4,22	15,26 a	7,51	27,24 a	9,21b
82% Cálcio	51,00	3,91	14,14 b	8,06	27,82 a	10,30 a
64% Cálcio	51,64	3,84	13,13 b	7,56	26,74 b	11,04 a
Inclusão de fitase						
750 FTU	51,32	3,89	14,30	8,59 a	26,84	9,78
1500 FTU	51,44	4,08	14,05	6,73 b	27,76	10,59
Probabilidade estatística						
Cálcio	0,812	0,311	0,002	0,589	0,035	0,025
Fitase	0,887	0,371	0,597	<0,001	0,284	0,121
Cálcio x fitase	0,087	0,128	0,863	0,1336	0,030	<0,001
CV (%)	6,81	20,56	11,79	22,8	12,26	19,20

L*=luminosidade, a*=teor de vermelho, b*=teor de amarelo, PLD=perda de líquido por descongelamento, PLC=perda de líquido por cocção e FC=força de cisalhamento.

^{a,b} Na coluna, as médias diferem entre si ($P<0,05$) pelo teste Scott_Knott.

Observou-se que o músculo peitoral de aves que receberam 64% do atendimento da exigência de cálcio associado a 1500FTU de fitase apresentaram menor perda de líquido por cocção ($P<0,05$) (Tabela 6). Aves alimentadas com 64% do nível de cálcio e com 750FTU de fitase apresentaram maior maciez da carne ($P<0,05$) (Tabela 6). A

redução para 82 e 64% da recomendação do nível de cálcio influenciou positivamente a força de cisalhamento quando receberam 1500FTU de fitase, obtendo então os melhores valores de maciez da carne ($P < 0,05$).

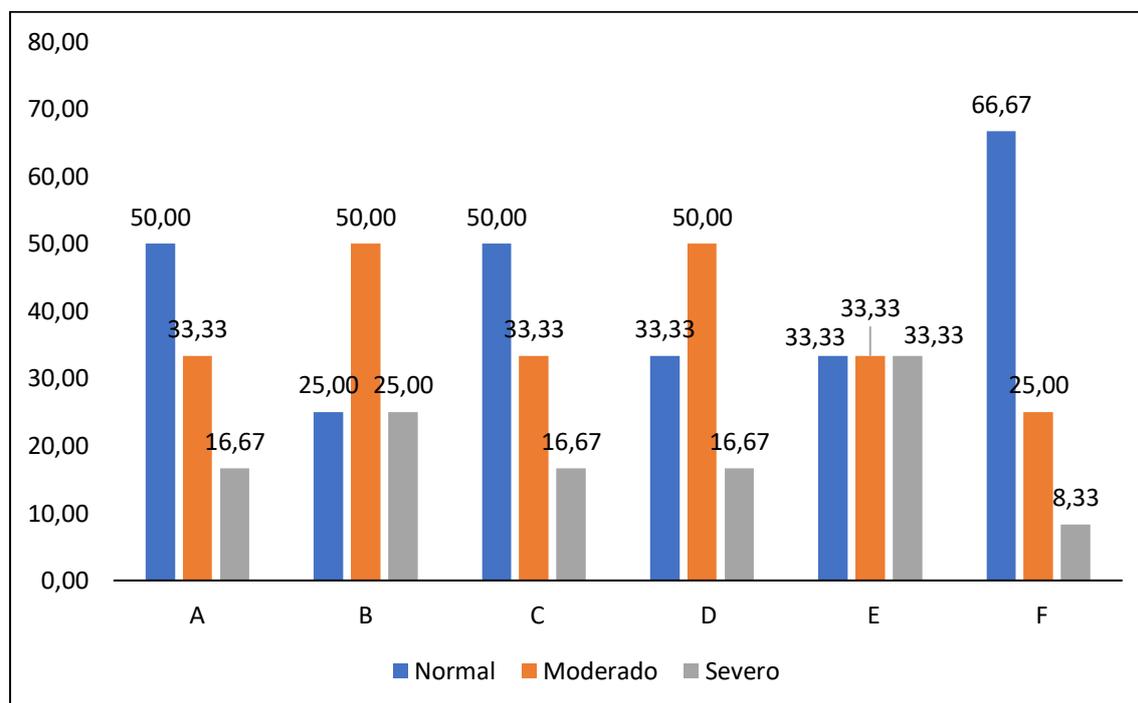
TABELA 6 - Desdobramento da interação da Perda de Líquido por Cocção e Maciez da carne de frangos 42 dias de idade alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase

	100% cálcio	82% Cálcio	64% Cálcio
Perda de Líquido por Cocção			
750 FTU	26,14 Aa	26,46 Aa	27,91 Aa
1500 FTU	28,14 Aa	29,18 Aa	25,57 Ba
Força de cisalhamento			
750 FTU	12,16 Aa	12,50 Aa	9,59 Ba
1500 FTU	9,93Ba	8,36 Bb	8,82 Bb

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma linha diferem entre si ($p < 0,05$)

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$)

Em relação às análises de escore de lesões de peito amadeirado, não se observou diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$) (Figura 2).



A= 100% Ca + 750FTU; B=82% Ca + 750FTU; C= 64% Ca + 750FTU; D= 100% Ca + 1500FTU; E= 82% Ca + 1500FTU; F=64% Ca + 1500FTU

FIGURA 2 -Incidência de peito amadeirado (%) em frangos aos 42 dias de idade alimentados com redução do relações cálcio e suplementados com níveis de fitase.

Quando os níveis de fitase foram considerados separadamente, a ocorrência de peito amadeirado do escore 0 foi de 52,28% e 47,22%, escore 1, 38,89% e 36,11% e 2, 8,33% e 16,67% para 750 e 1500 FTU, respectivamente (Figura 3). Já para os níveis de cálcio, verificou-se que a ocorrência do escore 0 foi de 66,67%, 41,67% e 41,67%, escore 1, 29,17%, 41,67% e 41,67% e escore 2, 4,17%, 16,67% e 16,67% para 64, 82 e 100% dos níveis de cálcio recomendados pelas tabelas brasileiras, respectivamente (Figura 4).

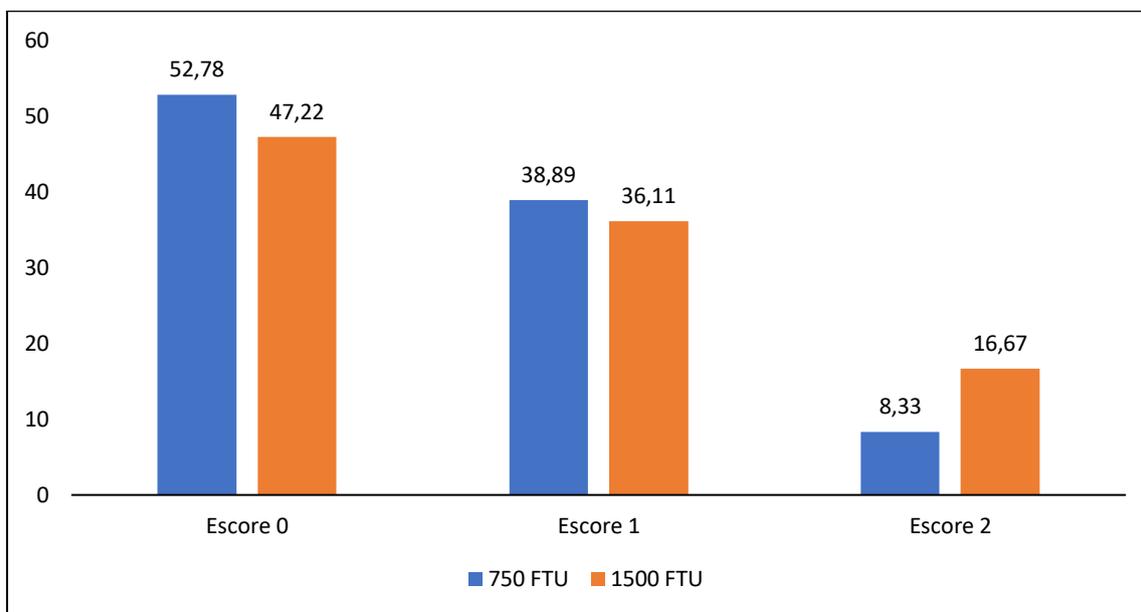


FIGURA 3 – Efeito da fitase na incidência de peito amadeirado (%) em frangos aos 42 dias de idade.

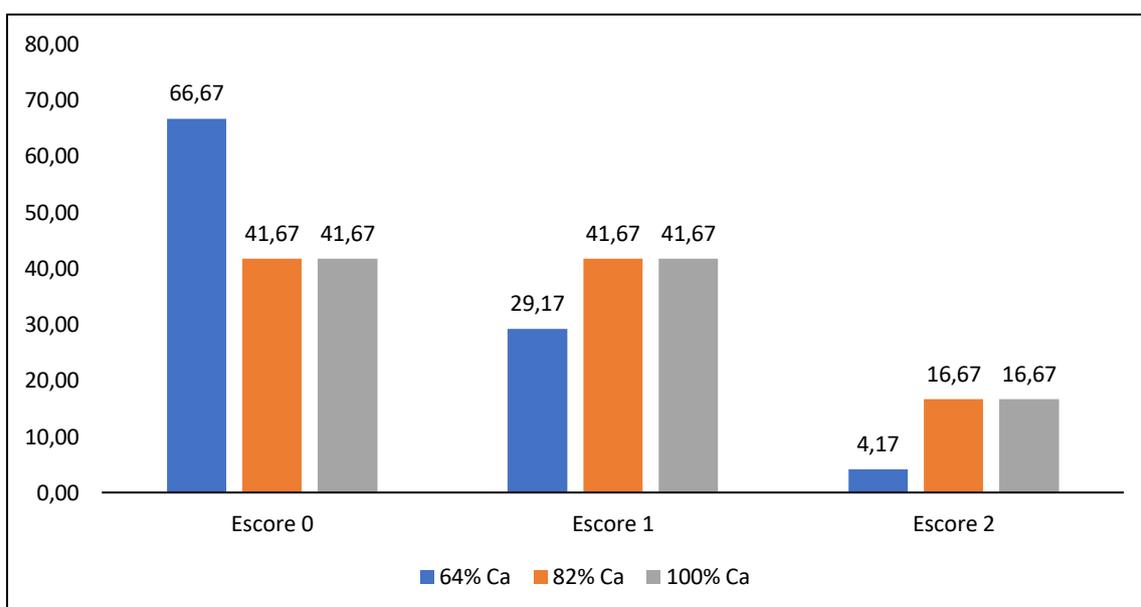


FIGURA 4 - Redução dos níveis de cálcio e incidência de peito amadeirado (%) em frangos aos 42 dias de idade.

Os resultados obtidos para os tratamentos não foram estatisticamente diferentes quando os efeitos do cálcio e da fitase foram considerados separadamente. A redução dos níveis de cálcio não foi eficaz para reduzir a incidência de peito amadeirado, mesmo quando são utilizados 750 ou 1500 FTU de fitase.

Em relação aos resultados dos scores histopatológicos, observou-se que, houve redução na formação de edema no músculo peitoral dos frangos aos 14 dias de idade ($P < 0,05$), com redução de 36% de cálcio e suplementados com 1500FTU de fitase (Tabela 7). Observou-se que o efeito não se repetiu e com isso pode-se dizer que, os tratamentos não influenciaram a qualidade da carne.

TABELA 7 - Análise histopatológica do músculo de frangos de corte alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase.

TRAT	DEG	NEC	IMON	IMAC	IPOL	HIP	HEM	FIB	EDE
7 dias									
Ca100+ 750FTU	3	3	3	1	1	3	1	2	3
Ca82+ 750FTU	3	2	2	1	1	3	1	2	3
Ca64+ 750FTU	3	3	3	1	1	3	1	2	4
Ca100+ 1500FTU	3	3	3	1	1	3	1	2	4
Ca82+ 1500FTU	3	3	3	1	1	3	1	2	3
Ca64+ 1500FTU	3	2	3	1	1	3	1	2	3
P-value	0,752	0,861	0,161	0,298	0,298	0,388	0,142	0,948	0,524
14 dias									
Ca100+ 750FTU	3	3	3	1	1	3	2	2	4 a
Ca82+ 750FTU	3	3	3	1	1	3	2	2	3 ab
Ca64+ 750FTU	3	3	2	1	1	3	2	2	3 ab
Ca100+ 1500FTU	3	3	4	1	1	3	2	2	4 a
Ca82+ 1500FTU	3	3	3	1	1	3	1	2	3 ab
Ca64+ 1500FTU	3	2	3	1	1	3	1	2	2 b
P-value	0,464	0,244	0,283	0,298	0,319	0,458	0,192	0,461	0,036
21 dias									
Ca100+ 750FTU	4	3	4	1	1	3	1	3	1
Ca82+ 750FTU	3	2	2	1	1	3	1	3	2
Ca64+ 750FTU	3	3	2	1	1	2	1	2	3
Ca100+ 1500FTU	3	3	3	1	1	2	1	2	2
Ca82+ 1500FTU	4	3	3	1	1	2	1	2	2
Ca64+ 1500FTU	4	4	3	1	1	3	1	2	2
P-value	0,654	0,056	0,126	0,298	0,711	0,086	0,714	0,339	0,513

TABELA 7 - Análise histopatológica do músculo de frangos de corte alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase.

28 dias									
Ca100+ 750FTU	4	3	3	1	1	3	1	2	2
Ca82+ 750FTU	4	3	3	1	1	2	1	2	3
Ca64+ 750FTU	4	3	3	1	1	2	1	2	3
Ca100+ 1500FTU	4	3	3	1	1	3	1	2	3
Ca82+ 1500FTU	3	2	2	1	1	2	1	2	2
Ca64+ 1500FTU	4	3	2	1	1	3	1	2	4
P-value	0,182	0,065	0,130	0,298	0,181	0,431	0,396	0,402	0,131
35 dias									
Ca100+ 750FTU	4	4	3	1	1	2	1	3	4
Ca82+ 750FTU	3	3	3	1	1	2	1	3	3
Ca64+ 750FTU	4	4	3	1	1	3	1	3	4
Ca100+ 1500FTU	4	3	3	1	1	2	1	3	4
Ca82+ 1500FTU	4	3	3	1	1	2	1	3	4
Ca64+ 1500FTU	4	3	3	1	1	3	1	4	4
P-value	0,438	0,264	0,366	0,298	0,181	0,292	0,776	0,491	0,188
42 dias									
Ca100+ 750FTU	3	3	3	1	1	2	1	2	3
Ca82+ 750FTU	3	3	2	1	1	1	1	3	2
Ca64+ 750FTU	2	2	1	1	1	1	1	1	1
Ca100+ 1500FTU	3	3	3	1	1	2	1	2	3
Ca82+ 1500FTU	3	3	3	1	2	3	1	2	2
Ca64+ 1500FTU	3	3	2	1	1	2	1	1	2
P-value	0,465	0,357	0,079	0,416	0,350	0,279	0,416	0,379	0,629

DEG= Degeneração; NEC= Necrose; IMON=Infiltrado Inflamatório Mononuclear; IMAC=Infiltrado Inflamatório Macrofágico; IPOL= Infiltrado Inflamatório Polimorfonuclear; HIP= Hiperemia /Congestão; HEM= Hemorragia; FIB=Fibrose (Proliferação de Tec. Conjuntivo); EDE=Edema.

Scores, 1= ausente, 2= Moderado, 3= Severo, 4= crítico

*Medianas seguidas por letras diferentes diferem entre si ($p < 0,07$) pelo teste Kruskal-Wallis com ajuste de Bonferroni.

Em relação aos resultados composição química, observou-se que, houve redução na concentração de lactato no músculo peitoral dos frangos alimentados com redução de cálcio nas dietas ($P < 0,05$) (Tabela 8). Observou-se aumento na concentração de lactato no músculo de aves alimentados com 1500FTU de fitase ($P < 0,05$) (Tabela 8).

TABELA 8 - Composição química do músculo peitoral de frangos alimentados com redução do cálcio e níveis de fitase

	Niacinamida	Anserina	Carnosina	Hipoxantina	Fenilalanina	IMP	Lactato	Creatina
Inclusão de cálcio								
100% Ca	19,41	316,50	298,25	128,71	186,18	303,32	2203,42a	996,05
82% Ca	17,53	239,85	263,83	129,28	170,04	269,10	1925,79b	971,67
64% Ca	16,37	279,92	291,70	128,57	170,25	298,08	2031,42b	975,42
Inclusão de fitase								
750 FTU	16,94	286,06	281,30	122,76	181,94	292,22	1966,25a	1002,60
1500FTU	18,60	280,43	287,89	134,76	170,37	288,10	2140,83b	959,50
Probabilidade estatística								
Cálcio	0,082	0,267	0,339	0,995	0,326	0,612	0,032	0,603
Fitase	0,129	0,855	0,747	0,059	0,242	0,893	0,042	0,344
Cálcio x fitase	0,849	0,244	0,746	0,998	0,186	0,955	0,639	0,892
CV (%)	18,50	31,69	21,54	15,40	16,44	30,82	12,26	14,38

TABELA 8 - Composição química do músculo peitoral de frangos alimentados com redução do cálcio e níveis de fitase

	Guanidoacetato	Glicina	N, N-dimetilglicina	Glutamina	Acetato	Alanina	Isoleucina	Valina	Leucina
Inclusão de cálcio									
100% Ca	745,58	137,33	447,06	158,67	21,43	247,07	75,75	124,45	143,64
82% Ca	684,57	122,89	402,50	153,21	19,31	218,46	67,75	106,25	130,69
64% Ca	709,57	137,64	416,50	156,41	20,74	250,17	67,67	125,08	138,32
Inclusão de fitase									
750 FTU	716,89	133,06	408,14	153,69	21,07	249,49	70,29	120,33	139,38
1500FTU	709,77	132,18	435,89	158,51	19,92	227,64	69,82	116,86	135,72
Probabilidade estatística									
Cálcio	0,093	0,388	0,111	0,925	0,385	0,188	0,172	0,096	0,437
Fitase	0,900	0,930	0,120	0,680	0,369	0,162	0,910	0,669	0,673
Cálcio x fitase	0,655	0,579	0,786	0,668	0,645	0,936	0,345	0,411	0,521
CV (%)	22,75	23,63	12,86	22,75	21,08	19,69	18,67	22,29	19,56

^{a,b} Na coluna, as médias diferem entre si (P<0,05) pelo teste Scott_Knott.

3.4 Discussão

Vários fatores podem influenciar a qualidade da carne, como, manejos pré e pós abate, idade das aves, a espécie, o sexo, o ambiente e a alimentação¹⁵. As principais características de qualidade da carne são aparência, textura, cor e a capacidade de retenção de água^{16,17}.

O potencial antioxidante da molécula de ácido fítico em quelatar o ferro nos sistemas alimentares para frangos de corte tem sido investigado^{18,19}. Porém, os estudos ainda são escassos, necessitando confirmações de sua efetividade. A inclusão da enzima sugere que a fitase, ao romper a molécula de ácido fítico, libera íons metálicos (ferro total) que catalisam peroxidação, fazendo com que o ácido fítico perca a sua função antioxidante.

Porém, novos conceitos a respeito do efeito da fitase sobre as características de qualidade de carne tem sido muito discutido nos últimos anos. Relatos existem a respeito do possível efeito da fitase no desenvolvimento muscular e prevenção da oxidação de tecidos, devido sua ação na quebra do fitato e liberação do inositol^{4,20}.

A hidrólise do grupo fosfato pela ação da fitase começa com um ácido fítico totalmente fosforilado (IP6), seguido de penta- (IP5), tetra- (IP4), tri- (IP3), di e monoésteres do inositol em descendentes ordem de preferência. A hidrólise completa do ácido fítico resultará em em um mio-inositol e fosfato (Yu et al., 2012). O papel do inositol não está totalmente definido, embora sua funcionalidade bioquímica provenha de seu envolvimento na estrutura dos fosfolipídios e lipoproteínas⁷. O fosfatidilinositol é mediador celular da transdução de sinal e regula metabolismo e crescimento^{21,22}.

Conforme resultados obtidos, a suplementação de 1500FTU de fitase reduziu a perda de líquido por descongelamento. A redução nos níveis de cálcio piorou a qualidade da carne pois aumentaram a força de cisalhamento. Porém, a suplementação de apenas 64% de cálcio em relação aos níveis recomendado por Rostagno et al.¹⁰, associado com 1500FTU de fitase, reduziu a perda de líquido por cocção da carne de frango e força de cisalhamento da carne de frango aos 42 dias de idade. Esses resultados colaboram com a hipótese de que a supersosagem de fitase promove maior liberação de inositol e ésteres de fitato e que esses atuam na manutenção da integridade da membrana celular^{4,20,23}.

Anadón²⁴ afirmou que a textura está intimamente relacionada estabilidade de membrana, à quantidade de água intramuscular e, portanto, à capacidade de retenção de

água da carne, de modo que quanto maior o conteúdo de água fixada no músculo, maior a maciez da carne. Os resultados obtidos estão de acordo com Andón²⁴, pois observa-se que houve redução da PLD com 1500FTU de fitase e redução da PLC com a redução nos níveis de cálcio e a interação dos fatores melhorou a maciez da carne.

Driver et al.²⁵ ao avaliarem frangos alimentados com dietas contendo níveis reduzidos de cálcio e fósforo adicionados com 1.000 FTU/kg e 5 µg/kg de 1α-hidroxicolecalciferol, concluíram que a fitase colaborou para melhor qualidade da carcaça.

Omojola et al.²⁶ observaram efeito negativo da fitase sobre a qualidade da carne de frangos aos 42 dias. De acordo com os autores, a perda de líquido por cozimento aumentou à medida que aumentou a inclusão de fitase na dieta, indicando menor rendimento após cozimento. Contrariando os achados dos autores citados acima, no presente estudo observou menor perda de líquido por descongelamento. A maior perda de líquido está associada a menor estabilidade e integridade de membrana com perda de fluidos. A superdose de fitase aumenta a degradação do fitato e gera maior liberação de ésteres e inositol. O éster, inositol trifosfato influencia a liberação de Ca intracelular, ajuda a manter a integridade intracelular homeostase durante o estresse osmótico²³, o que pode ter proporcionado menor perda de flúidos²⁷. Jiang et al.²⁸ demonstraram que como mio-inositol é um ciclitol, por doação de hidrogênio ou via quelação, ele pode inibir a geração de radicais livres e prevenir danos oxidativos em peixes.

Diferentemente, Oko et al.²⁹ verificaram que as propriedades organolépticas do músculo do peito de frango foram influenciadas pelos tratamentos dietéticos, pois a perda por cozimento e número de mastigação foram mais altos em aves alimentadas com 250FTU de fitase. Os mesmos autores concluíram que, para maior crescimento e qualidade da carne de frangos, pelo menos 750FTU de fitase deve ser suplementada na ração.

Brunelli et al.⁶ concluíram que a inclusão de 750 e 1500FTU de fitase/kg de ração piorou a qualidade de carne, pois verificaram maior quantidade de malonaldeído na carne de frangos aos 42 dias de idade. Hao et al.³⁰ concluíram que a fitase tem pouco efeito sobre a qualidade da carne de frangos de corte, pois foi observado efeito apenas para o valor de pH do músculo.

O efeito da suplementação de fitase em frangos de corte pode afetar o metabolismo muscular através de duas redes diferentes: O inositol livre gerado pela ação da fitase é captado e inserido nos fosfolipídeos específicos na membrana, na forma de

IP₃. O IP₃ tem vida curta no interior da célula e seu rápido metabolismo ocorre por duas vias: remoção do fosfato na posição 5 do anel inositol, que resulta na formação do IP₂ e um fosfato inativo. O IP₂ é posteriormente defosforilado para inositol monofosfato que pode ser reciclado para formar novos fosfatidilinositois (PI). A segunda via é a fosforilação do IP₃, pela enzima IP₃-quinase, resultando na formação de IP₄^{26,30}.

O conceito de que a fitase pode melhorar a qualidade da carne, se baseia na utilização da superdosagem de fitase, que permite maior liberação de inositol e ésteres de fitato que, ao serem absorvidos, são re-fosforilados e depositados nas membranas celulares. De acordo com Cowieson et al.⁴, a re-fosforilação do inositol dentro dos tecidos gera seu papel dentro do organismo, proporcionando muitos dos benefícios potenciais atribuídos à superdosagem.

Um estudo desenvolvido por Rezende et al.³² que avaliaram a combinação de enzimas em dietas de frangos e a incidência do peito amadeirado, observaram que, o uso de protease combinada com enzima fitase reduziu em 14% a ocorrência dessa miopatia. Os achados de Schemeisser et al.⁵ Rezende et al.³² e os achados do presente estudo, permitem dizer que a fitase pode fornecer novos caminhos sobre potenciais mecanismos extra fosfórico.

A seleção genética de frangos de corte tem sido para crescimento, a acúmulo de massa muscular, incluindo o músculo peitoral maior, que hoje são 10 vezes maiores que os dos frangos comercializados em 1955^{33,34}. Devido esse crescimento acelerado, surgiu a incidência de miopatias no músculo peitoral como, por exemplo, o peito amadeirado^{33,35}. Os músculos acometidos por essa miopatia apresentam degeneração ativa e regeneração das fibras musculares com infiltração de células imunes, aumento da deposição de tecidos adiposos e conectivos, indicando assim que o peito de madeira pode ser caracterizado como a micro-degeneração com fibrose e regeneração¹¹.

Muito se tem discutido a respeito da pressão por maior ganho de massa muscular das aves, aumento da incidência das miopatias como o peito amadeirado e como a nutrição pode atuar na redução dessa miopatia. Especula-se que a superdose pode ser uma ferramenta para redução do peito amadeirado, pois ajuda a suportar a capacidade antioxidante do frango e melhorar a taxa de oxigenação tecidual devido a re-fosforilação do inositol nas membranas celulares, maior liberação e solubilidade de minerais relacionados com características antioxidantes e o incremento de produção de hemoglobina que melhora a oxigenação tecidual³⁶. Porém não foi possível observar ação efetiva da superdose de fitase na redução do peito amadeirado de frangos aos 42 dias.

Estudos com maiores níveis de fitase devem ser conduzidos com o objetivo de maior investigação da fitase sobre a redução da miopatia do peito amadeirado em frango.

3.5 Conclusão

A redução da exigência de cálcio em até 36% piora as características organolépticas da carne de frango.

A redução do cálcio em associação com a suplementação de 1500FTU/kg fitase, diminui a perda de líquido por cocção e melhora a maciez da carne do peito de frangos de corte aos 42 dias de idade.

A redução dos níveis de cálcio não foi eficaz para reduzir a incidência de peito amadeirado, mesmo quando são utilizados 750 ou 1500FTU de fitase.

A redução dos níveis de cálcio e a suplementação de 750 ou 1500FTU de fitase não altera a composição química do musculo do peito de frangos de corte aos 42 dias de idade.

3.6 Referências

1. Rodehutsord M, and Rosenfelder P. Update on phytate degradation pattern in the gastrointestinal tract of pigs and broiler chickens. In: Phytate Destruction. Walk CL, Kuhn I, Stein HH, Kidd MT, and Rodehutsord M, eds., Wageningen Academic Publishers, Wageningen. 2016; p.15–32
2. Sommerfeld V, Schollenberger M, Kuhn MI. Rodehutsord Interactive effects of phosphorus, calcium, and phytase supplements on products of phytate degradation in the digestive tract of broiler chickens. Poultry Science. 2018; 0:1–12.
3. Cowieson AJ, P. Wilcock P, Bedford MR. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. World's Poultry Science Journal. 2011; 67.
4. Cowieson AJ, Ptak A, Maćkowiak P, Sassek M, Pruszyńska-Oszmałek E, Żyła K, Świątkiewicz S, Kaczmarek S and Jozefiak D. The effect of microbial phytase and *myo*-inositol on performance and blood biochemistry of broiler chickens fed wheat/corn-based diets Poultry Science. 2013; 92: 2124–2134.
5. Schmeisser J, Seon AA, Aureli R, Friedel A, Guggenbuhl O, Duval APS, Cowieson AJ, and Fru-Nji1 F. Exploratory transcriptomic analysis in muscle tissue of broilers fed a phytase-supplemented diet. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 2017; 101(3): 563-575.
6. Brunelli SR, Pinheiro JW, Bridi AM, Fonseca NAN, Silva CA, Oba A. Efeitos da fitase no desempenho e na qualidade da carne de frangos de corte. Semina: Ciências Agrárias, Londrina. 2012; 33 (2): 3279-3286.
7. McDowell LR. Vitamin-like substances. In: Vitamins in Animal and Human Nutrition., 2ed. L. R. Mc- Dowell, ed. Iowa State University Press, Ames. 2000. P.660.
8. Vucenic I, Podczasy IJ, Shamsuddin AM. Antiplatelet activity of inositol hexphosphate (IP6). Anticancer Res. 1999; 19 (5A): 3689-93.
9. SBCAL- Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório. Guia Brasileiro de Boas Práticas em Eutanásia em Animais: Conceitos e Procedimentos Recomendados. 2012; 1: 62.
10. Rostagno HS, Albino, LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT, Euclides RF. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 4ª ed; 2017: p488.
11. Sihvo HK, Immonen K, and Puolanne E. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers. Veterinary Pathology. 2014; 51: 619–623.

12. Milani LIG, Terra NN, Fries LLM, Rezer APS, Ferreira SF, Cichoski AJ, Valente CRF. Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) e submetida a tratamento térmico. *Brazilian Journal of Food Technology*. 2010; 13 (4): 242-250.
13. Bafa DF. Cromo levedura e ractopamina em dietas para suínos em terminação. [Dissertação]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2014.
14. MR Core Tean. R. A language and environment for statistical computing: R Foundation for Statistical Computing. 2019.
15. Olivo R, Guarnieri PD, Simokomaki M. Fatores que influenciam na cor de filés de peito de frango. *Revista Nacional da Carne*. 2001; 25 (289): 44-49.
16. Fletcher DL. Broiler breast meat color variation, pH and texture. *Poultry Science*, Savoy. 1999; 78: 1323-1327.
17. Gaya LG, Ferraz JBS. 2006. Aspectos genético-quantitativos da qualidade da carne em frangos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.36, n.1, p.349-356.
18. Soares AL. Ação de ácido fólico e vitamina E na oxidação lipídica e aroma de requentado em filés de peito de frango. [Dissertação]. Londrina: Universidade Estadual de Londrina; 1998.
19. Pillai PB, O'Connor-Dennie T, Owens CM, Emmert JL. Efficacy of an *Escherichia coli* phytase in broilers fed adequate or reduced phosphorus diets and it's effect on carcass characteristics. *Poultry Science*. 2006; 1737-1745.
20. Zampinga M, Flees J, Meluzzi A, Drid S and Sirri F. Application of omics technologies for a deeper insight into quali-quantitative production traits in broiler chickens: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2018; 9:61.
21. Fuller, M. F. The Encyclopedia of Farm Animal Nutrition. In: M. F. Fuller, ed. CAB International, Wallingford, UK. Fuller, M. F., and P. J. Reeds. Nitrogen cycling in the gut. *Annu. Rev. Nutr.* 1998; 18:385–411.
22. Michell RH. Inositol derivatives: Evolution and functions. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2008; 9:151–161.
23. Irvine RF and Schell JM. Back in the water: The return of the inositol phosphates. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2:327–338. Jiang WD, Feng L, Liu Y, Jiang XJQ. Zhou.2009.
24. Andón H LS. Biological, nutritional and processing factors affecting breast meat quality of broilers. [Tese]. Blacksburg: Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University; 2002.
25. Driver JP, Pesti GM, Bakalli RI, Edwards Jr HM. The effect of feeding calcium- and phosphorus-deficient diets to broiler chickens during the starting and growing-finishing phases on carcass quality. *Poult. Sci.* 2006; 85 (11): 1939–1946.

26. Omojola AB, Otunla TA, Olusola OO, Adebisi OA and Ologhobo AD. Performance and Carcass Characteristics of Broiler Chicken Fed Soybean and Sesame/Soybean Based Diets Supplemented With or Without Microbial Phytase. *American Journal of Experimental Agriculture*. 2014; 4(12): 1637-1648.
27. Irvine RF, Anggard EE, Letcher AJ, Downes SP. Metabolismo of inositol 1,4,4-trisphosphate and inositol 1,3,4-trisphosphate in rat parotid-glands. *Biochemical Journal*. 1985; 229 (2): 505-11.
28. Jiang, W. D., L. Feng, Y. Liu, J. Jiang, and X. Q. Zhou. *Myo*-inositol prevents oxidative damage, inhibits oxygen radical generation and increases antioxidant enzyme activities of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aqua. Res.* 2009b; 40:1770–1776.
29. Oko OOK, Ozung PO, Halilu A and Effiom EI. Growth and Carcass Characteristics of Broiler Chickens fed Acha-Based Diet Supplemented With Phytase® Enzyme. *Continental J. Agricultural Science*. 2018; 12 (2): 12-32.
30. Hao XZ, YOO JS and Kim IH. Effect of phytase supplementation on growth performance, nutrient digestibility, and meat quality in broilers. *Korean Journal of Agricultural Science*. 2018; 45(3).
31. Pattni K, Winter GM, Rogers WJ, Lam JC, Denison MS. Activation of the ah receptor signal transduction pathway by bilirubin and biliverdin. *Archivos Biochem Biophys*. 1998, 357 (1): 155-63.
32. Rezende PM, Costa MA, Sousa RF, Gomides LPS, Andrade TV, Santos TT, Stringhini JH. Occurrence of wooden breast in broilers fed diets with xylanase and protease in combination with increasing levels of phytase. XVIIth European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products; 2017: p.29.
33. Velleman SG, Clark DL. Histopathologic and Myogenic Gene Expression Changes Associated with Wooden Breast in Broiler Breast Muscles. *Avian Diseases*. 2015a; 59 (3): 410– 418.
34. Velleman SG, Clark DL, Tonniges JR. Fibrillar Collagen Organization Associated with Broiler Wooden Breast Fibrotic Myopathy. *Avian Diseases*. 2017; 61 (4): 481–490.
35. Velleman SG, Clark DL. Histopathologic and Myogenic Gene Expression Changes Associated with Wooden Breast in Broiler Breast Muscles. *Avian Diseases*. 2015a; 59 (3): 410– 418.
36. York TW, Walk CL e Bedford MR. Chapter 17 Trace minerals – what role should they play in today’s poultry industry with respect to fast growth rate and woody breast?. In: *Phytate destruction - consequences for precision animal nutrition*; 2016: p.251-266.

CAPÍTULO 4 - CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS DE FRANGOS ALIMENTADOS COM REDUÇÃO DE CÁLCIO E NÍVEIS DE FITASE

RESUMO: Um experimento foi conduzido para avaliar a interação dos níveis de cálcio e níveis de fitase microbiana sobre as características ósseas de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade. Um total de 864 pintos de um dia, machos, Cobb 500, foram alojados em boxes e distribuídos aleatoriamente em delineamento inteiramente casualizado e em esquema fatorial, com 6 tratamentos, 8 repetições e 18 aves cada. Os tratamentos foram constituídos por duas inclusões de fitase (750 e 1500FTU fitase) e três níveis de cálcio (100, 82 e 64%) sendo considerado 100%, 1,011% fase pré-inicial, 0,907% fase inicial, 0,822 fase de crescimento e 0,661 fase final. As variáveis de qualidade de ossos analisadas aos 21 e 42 dias de idade foram, peso, comprimento, diâmetro, índice seedor e resistência óssea. A análise dos dados foi realizada utilizando análise de variância a 5% de probabilidade e comparadas pelo teste de Scott-Knott. Houve efeito das doses de fitase utilizada sobre todas as características ósseas avaliadas. A superdosagem de fitase (1500FTU/kg de ração) proporcionou aumento no comprimento, diâmetro, peso e resistência óssea de frango com 21 dias de idade. Quanto à qualidade óssea dos frangos aos 42 dias de idade, houve efeito apenas do fator fitase para comprimento e diâmetro de ossos. Aves alimentadas com 1500FTU de fitase/kg de ração apresentaram maiores comprimento e diâmetros de tíbias aos 42 dias de idade quando comparadas com as aves que receberam apenas 750FTU. Quando as aves foram suplementadas com 1500FTU de fitase/kg de ração, não houve efeito dos níveis de cálcio em relação a resistência a quebra dos ossos. A suplementação de 1500FTU de fitase proporcionou maior concentração de fósforo na tíbia das aves aos 42 dias de idade. A redução da suplementação de cálcio associado com 1500FTU de fitase, melhora as características de qualidade óssea.

Palavras-chave: ácido fitico, índice Seedor e resistência óssea

CHAPTER 4 - BONE CHARACTERISTICS OF CALCIUM REDUCED FEED BROILERS AND PHYTASE LEVELS

ABSTRACT: An experiment was conducted to evaluate an interaction of calcium levels and microbial strips levels on 21- and 42-days old broiler bone characteristics. A total of 864 male day-old Cobb 500 chicks were housed in boxes and randomly distributed in a randomized factorial design with 6 treatments, 8 repetitions and 18 birds each. The controls consisted of two tape inclusions (750 and 1500FTU tapes) and three calcium levels (100, 82 and 64%) being considered 100%, 1,011% pre-initial phase, 0,907% initial phase, 0,822 growth phase and 0.661 final phase. The bone quality variables analyzed up to 21 and 42 days of age were weight, length, diameter, strength index and bone strength. There was an effect of tape doses used on all bone characteristics evaluated. Overdose of tapes (1500FTU / kg of feed) provided increase in length, diameter, weight and bone strength of 21-day-old chicken. As for bone quality of frans up to 42 days of age, there was only one factor of ribs for bone length and diameter. Birds fed 1500FTU of larger tibia length / diameter ratio tapes / kg at 42 days of age compared to birds receiving only 750FTU. When the birds were supplemented with 1500FTU of ribbons / kg of feed, there was no effect of calcium levels on bone breakdown and resistance ratio. The supplementation of 1500FTU of tapes provides higher phosphorus concentration in the tibia of broilers at 42 days of age. Reduction of calcium supplementation associated with 1500FTU tapes improves bone quality characteristics.

Keywords: phytic acid, Seedor index, bone strenght

4.1 Introdução

As genéticas tem selecionado aves para rápido ganho e deposição de massa muscular e com isso, vários problemas relacionados a formação óssea têm surgido, pois a formação do esqueleto muitas vezes não consegue acompanhar o ganho de tecido muscular e isso tem gerado problemas locomotivos e anormalidades ósseas que compromete o desempenho e eficiência produtiva das aves¹. Da mesma forma, dietas desbalanceadas podem comprometer o correto desenvolvimento ósseo dos animais.

Os minerais cálcio e fósforo são fundamentais para a formação e qualidade óssea dos animais. Sua disponibilidade em dietas, no entanto, está comprometido pois o fósforo nos ingredientes vegetais está na forma de ácido fítico e as aves não conseguem utilizar de forma eficiente. Porém, a fitase é uma enzima que é usada na alimentação dos animais monogástricos para degradar o fitato e o liberar o fósforo, melhorar a utilização pelo animal e reduzir os impactos negativos da excreção de minerais para o meio^{2,3}.

O conceito da fitase sobre a liberação de fósforo e cálcio são bem consistentes e são bem conhecidos por melhorar a qualidade óssea, pois aumenta o peso, concentração mineral e aumento da resistência a ruptura⁴. Por outro lado, o excesso de cálcio na ração pode prejudicar a eficácia da enzima fitase, pois altas concentração de cálcio podem se precipitar, eleva o pH no conteúdo do papo e íleo, formar o fitato de cálcio, um complexo insolúvel no intestino que impede a atuação da fitase por causa da competição do cálcio com os sítios ativos da enzima^{4,5}. Em contrapartida, baixos níveis de cálcio na dieta podem comprometer a mineralização óssea, aumentar o risco de fratura do fêmur/tíbia, e permitir a ruptura e a separação da cartilagem, lesões hemorrágicas na carne e consequente desclassificação da carcaça^{4,5,6}.

De acordo com Walk et al.⁴ a redução da suplementação de cálcio associado com uma superdose de fitase não compromete a mineralização e concentração de mineral dos ossos, pois a fitase tem maior atuação sobre o fitato proporcionando maior liberação de minerais que serão melhor aproveitados pelos animais.

Objetivou-se, com isso, avaliar a redução do cálcio e adição de níveis de fitase e efeitos sobre o comprimento, diâmetro, peso, índice seador, resistência óssea, concentração de cálcio e fósforo de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade.

4.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido no setor de avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil. O projeto de pesquisa vinculado ao presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para uso de animais de produção – CEUA-UFG, sob o protocolo nº 024/2017, e está de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, adotados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório⁷.

As aves foram alojadas e criadas no aviário escola da UFG do primeiro dia de vida até os 42 dias de idade, com ração e água fornecidas à vontade em todo o período experimental. Um total de 864 pintos de corte machos (peso médio de 46,9g \pm 0,2g) da linhagem Cobb500®, provenientes de incubatório industrial foram utilizados para realização do experimento. Boxes móveis foram montados no galpão industrial da UFG, forrados com cama nova de casca de arroz, sistema de aquecimento central a gás, bebedouro tipo *nipple* e comedouro tubular.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado e em esquema fatorial 3x2, com três níveis de cálcio, dois níveis de fitase, totalizando seis tratamentos, oito repetições, obtendo um total de 48 unidades experimentais compostas por 18 aves.

Os tratamentos foram constituídos por três níveis de Ca (100%, 82% e 64%) e duas inclusões de fitase 750FTU/kg e 1500FTU/kg de ração. Considerou-se os níveis de 1,011% como 100% das recomendações de cálcio para fase pré-inicial, 0,907% para a inicial, 0,822% para crescimento e 0,661% para a fase final. Para a exigência de fósforo (P) na dieta, foi considerada a valorização da matriz da fitase para liberação de fósforo e suplementação de fosfato para atendimento da exigência nutricional por fase. Os valores de fósforo recomendados por Rostagno et al.⁸ para fase pré-inicial foram de 0,482%, para a fase inicial de 0,432%, na fase de crescimento foi de 0,384% e na fase final de 0,309%.

No período de criação das aves, de um a 42 dias de idade as dietas foram formuladas a base de milho, farelo de soja e glúten de milho conforme as recomendações nutricionais preconizadas por Rostagno et al.⁸, para as fases, pré-inicial (1 a 7 dias), inicial (8 a 21 dias), crescimento (22 a 35 dias) e final (35 a 42 dias), exceto para o cálcio (Ca) que foi suplementado para fornecer 100%, 82% e 64% das recomendações do mesmo autor.

As dietas experimentais foram formuladas a base de milho e farelo de soja e as tabelas brasileiras de aves e suínos⁸ foi utilizada como referência para atendimento

nutricional para fase pré-inicial (Tabela 1), inicial (Tabela 2), crescimento (Tabela 3) e fase final (Tabela 4).

Aos 21 e aos 42 dias de idade, duas aves de cada unidade experimental foram identificadas, separadas e submetidas a um período de jejum de aproximadamente oito horas para esvaziamento do trato gastrintestinal, em seguida insensibilizadas e abatidas por sangria, de acordo com⁷.

Após o abate foram retiradas as tíbias de duas aves por unidade experimental, sendo descarnadas e acondicionadas em sacos plásticos identificados de acordo com os tratamentos e congeladas a -20°C. Depois de descongeladas, as tíbias foram lavadas em água fria para retirada dos resíduos de carne e cartilagem, para realização das análises subsequentes. As tíbias direitas foram utilizadas para determinar o comprimento, diâmetro, peso e índice Seedor e resistência óssea. As tíbias esquerdas foram utilizadas para determinar cinzas e concentração de cálcio e fósforo.

Após a retirada do músculo e limpeza realizada, as tíbias direitas foram pesadas com balança analítica com precisão de 0,01g e seus comprimentos e diâmetros obtidos por meio de paquímetros de precisão de 0,02mm, e armazenadas a -20°C para posteriores análises⁹.

TABELA 1 - Composição das dietas experimentais fase pré-inicial (1- 7 dias)

Ingredientes	Ca 100+	Ca 82 +	Ca 64 +	Ca 100 +	Ca 82 +	Ca 64 +
	750FTU	750FTU	750FTU	1500FTU	1500FTU	1500FTU
Milho grão	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79
Farelo de soja, 46%	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95
Glúten de milho, 60%	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54
Sal comum	0,46	0,47	0,46	0,47	0,46	0,47
Calcário ¹	2,41	1,98	1,54	2,41	1,98	1,54
MAP, 61% ²	0,59	0,35	0,35	0,59	0,35	0,35
DL-metionina	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
L-lisina	0,21	0,213	0,21	0,213	0,21	0,213
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
L-valina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Premix Min e Vit ³	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bicarbonato	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Fitase	0,008	0,008	0,008	0,015	0,015	0,015
Inerte ⁴	0,007	0,690	1,122	0,000	0,680	1,114
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis Nutricionais						
Cálcio, %	1,011	0,829	0,647	1,011	0,929	0,647
Fosforo disp, %	0,482	0,482	0,482	0,482	0,482	0,482
Energia met, kcal/kg	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000
Proteína bruta, %	25,310	25,310	25,310	25,310	25,310	25,310
Met+cist diges, %	0,989	0,989	0,989	0,989	0,989	0,989
Lisina dig, %	1,364	1,364	1,364	1,364	1,364	1,364
Treonina dig, %	0,882	0,882	0,882	0,882	0,882	0,882
Triptofano dig, %	0,269	0,269	0,269	0,269	0,269	0,269
Valina dig, %	1,029	1,029	1,029	1,029	1,029	1,029

¹ Calcário calcítico 36%

² MAP - Fosfato monoamônio

³ Premix mineral e vitamínico (quantidade\kg produto): Vitamina A- 2.000.000,00UI; Vitamina D3- 600.000,00UI; Vitamina E- 5.000UI; Vitamina K- 450mg; Vitamina B1- 500mg; Vitamina B2- 1.500mg; Vitamina B6- 700mg; Vitamina B12- 2.500mcg; Ácido pantotênico- 3.500; Ácido Nicotínico- 9.000mg; Ácido fólico- 250mg; Biotina- 15mg; Colina- 80g; Cobre- 2.500mg; Ferro- 10g; Manganês- 20g; Iodo- 250 mg; Zinco- 18g; Selênio- 75mg; Virginiamicina- 4.125mg; Nicarbazina- 10g; Maduramicina 937,5mg.

⁴ Areia foi substituída por fitase comercialmente denominada de Quantum Blue® derivada de *E. Coli*.

TABELA 2 - Composição das dietas experimentais da fase inicial (8 – 21 dias)

Ingredientes	Ca100+	Ca 82 +	Ca 64 +	Ca 100 +	Ca 82 +	Ca 64 +
	750FTU	750FTU	750FTU	1500FTU	1500FTU	1500FTU
Milho grão	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79
Farelo de soja, 46%	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95
Glúten de milho,60%	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54
Sal comum	0,46	0,47	0,46	0,47	0,46	0,47
Calcário ¹	2,41	1,98	1,54	2,41	1,98	1,54
MAP, 61% ²	0,59	0,35	0,35	0,59	0,35	0,35
DL-metionina	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
L-lisina	0,21	0,213	0,21	0,213	0,21	0,213
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
L-valina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Premix Min e Vit ³	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bicarbonato	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Fitase	0,008	0,008	0,008	0,015	0,015	0,015
Inerte ⁴	0,007	0,690	1,122	0,000	0,680	1,114
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis Nutricionais						
Cálcio, %	0,907	0,744	0,580	0,907	0,744	0,580
Fosforo disp, %	0,432	0,432	0,432	0,432	0,432	0,432
Cloro, %	0,316	0,316	0,316	0,316	0,316	0,316
Sódio, %	0,221	0,221	0,221	0,221	0,221	0,221
Potássio, %	0,983	0,983	0,983	0,983	0,983	0,983
Energia met, kcal/kg	3100	3100	3100	3100	3100	3100
Proteína bruta, %	24,300	24,300	24,300	24,300	24,300	24,300
Met+cist diges, %	0,966	0,966	0,966	0,966	0,966	0,966
Lisina dig, %	1,306	1,3060	1,3060	1,3060	1,3060	1,3060
Treonina dig, %	0,862	0,862	0,862	0,862	0,862	0,862
Triptofano dig, %	0,265	0,2657	0,2657	0,2657	0,2657	0,2657
Valina dig, %	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006

¹ Calcário calcítico 36%

² MAP - Fosfato monoamônio

³ Premix mineral e vitamínico (quantidade\kg produto): Vitamina A- 2.000.000,00UI; Vitamina D3- 600.000,00UI; Vitamina E- 5.000UI; Vitamina K- 450mg; Vitamina B1- 500mg; Vitamina B2- 1.500mg; Vitamina B6- 700mg; Vitamina B12- 2.500mcg; Ácido pantotênico- 3.500; Ácido Nicotínico- 9.000mg; Ácido fólico- 250mg; Biotina- 15mg; Colina- 80g; Cobre- 2.500mg; Ferro- 10g; Manganês- 20g; Iodo- 250 mg; Zinco- 18g; Selênio- 75mg; Virginiamicina- 4.125mg; Nicarbazina- 10g; Maduramicina 937,5mg.

⁴ Areia foi substituída por fitase comercialmente denominada de Quantum Blue® derivada de *E. Coli*.

TABELA 3 - Composição das dietas experimentais da fase de crescimento (21-35 dias)

Ingredientes	Ca 100+	Ca 82 +	Ca 64 +	Ca 100 +	Ca 82 +	Ca 64 +
	750FTU	750FTU	750FTU	1500FTU	1500FTU	1500FTU
Milho grão	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79
Farelo de soja, 46%	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95
Glúten de milho,60%	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54
Sal comum	0,46	0,47	0,46	0,47	0,46	0,47
Calcário ¹	2,41	1,98	1,54	2,41	1,98	1,54
MAP, 61% ²	0,59	0,35	0,35	0,59	0,35	0,35
DL-metionina	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
L-lisina	0,21	0,213	0,21	0,213	0,21	0,213
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
L-valina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Premix Min e Vit ³	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bicarbonato	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Fitase	0,008	0,008	0,008	0,015	0,015	0,015
Inerte ⁴	0,007	0,690	1,122	0,000	0,680	1,114
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis Nutricionais						
Cálcio, %	0,822	0,674	0,526	0,822	0,674	0,526
Fosforo disp, %	0,384	0,384	0,384	0,384	0,384	0,384
Energia met, kcal/kg	3200	3200	3200	3200	3200	3200
Proteína bruta, %	22,62	22,62	22,62	22,62	22,62	22,62
Met+cist diges, %	0,914	0,914	0,914	0,914	0,914	0,914
Lisina dig, %	1,235	1,235	1,235	1,235	1,235	1,235
Treonina dig, %	0,815	0,815	0,815	0,815	0,815	0,815
Triptofano dig, %	0,237	0,237	0,237	0,237	0,237	0,237
Valina dig, %	0,951	0,951	0,951	0,951	0,951	0,951

¹ Calcário calcítico 36%

² MAP - Fosfato monoamônio

³ Premix mineral e vitamínico (quantidade\kg produto): Vitamina A- 1.750.000,00UI; Vitamina D3- 500.000,00UI; Vitamina E- 3.000UI; Vitamina K- 375mg; Vitamina B1- 400mg; Vitamina B2- 1.250mg; Vitamina B6- 750mg; Vitamina B12- 2.500mcg; Ácido pantotênico- 3.250; Ácido Nicotínico- 8.000mg; Ácido fólico- 250mg; Biotina- 15mg; Colina- 80g; Cobre- 2.500mg; Ferro- 10g; Manganês- 20g; Iodo- 250 mg; Zinco- 18g; Selênio- 75mg; Virginiamicina- 4.125mg; Salinomicina sódica- 16,5g.

⁴ Areia foi substituída por fitase comercialmente denominada de Quantum Blue® derivada de *E. Coli*.

TABELA 4 - Composição das dietas experimentais da fase final (35 – 42 dias)

Ingredientes	Ca100+	Ca 82 +	Ca 64 +	Ca 100 +	Ca 82 +	Ca 64 +
	750FTU	750FTU	750FTU	1500FTU	1500FTU	1500FTU
Milho grão	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79	48,79
Farelo de soja, 46%	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95	39,95
Glúten de milho, 60%	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54
Sal comum	0,46	0,47	0,46	0,47	0,46	0,47
Calcário ¹	2,41	1,98	1,54	2,41	1,98	1,54
MAP, 61% ²	0,59	0,35	0,35	0,59	0,35	0,35
DL-metionina	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
L-lisina	0,21	0,213	0,21	0,213	0,21	0,213
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
L-valina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Premix Min e Vit ³	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bicarbonato	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Fitase	0,008	0,008	0,008	0,015	0,015	0,015
Inerte ⁴	0,007	0,690	1,122	0,000	0,680	1,114
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis Nutricionais						
Cálcio, %	0,661	0,542	0,423	0,661	0,542	0,423
Fosforo disp, %	0,306	0,306	0,306	0,306	0,306	0,306
Energia met, kcal/kg	3250	3250	3250	3250	3250	3250
Proteína bruta, %	19,540	19,540	19,540	19,540	19,540	19,540
Met+cist diges, %	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790
Lisina dig, %	1,067	1,067	1,067	1,067	1,067	1,067
Treonina dig, %	0,704	0,704	0,704	0,704	0,704	0,704
Triptofano dig, %	0,199	0,199	0,199	0,199	0,199	0,199
Valina dig, %	0,822	0,822	0,822	0,822	0,822	0,822

¹ Calcário calcítico 36%

² MAP - Fosfato monoamônio

³ Premix mineral e vitamínico (quantidade\kg produto): Vitamina A- 1.500.000,00UI; Vitamina D3- 350.000,00UI; Vitamina E- 3.500UI; Vitamina K- 350mg; Vitamina B1- 250mg; Vitamina B2- 1.250mg; Vitamina B6- 250mg; Vitamina B12- 2.500mcg; Ácido pantotênico- 4.000; Ácido Nicotínico- 11g; Ácido fólico- 400mg; Biotina- 15mg; Colina- 150g; Cobre- 4.500mg; Ferro- 20g; Manganês- 30g; Iodo- 400 mg; Zinco- 25g; Selênio- 100mg.

⁴ Areia foi substituída por fitase comercialmente denominada de Quantum Blue® derivada de *E. Coli*.

Os parâmetros ósseos avaliados foram: peso, comprimento, diâmetro, Índice Seedor, cálcio, fósforo e resistência óssea.

O índice Seedor foi obtido pela divisão do peso do osso (sem ser desengordurado) pelo seu comprimento, conforme fórmula proposta por Seedor¹⁰. O peso do osso foi obtido com o auxílio de uma balança analítica com precisão de 0,01 gramas e seu comprimento com o auxílio de um paquímetro digital. Este índice não possui unidade.

A análise de resistência óssea foi realizada em ossos frescos descongelados. Foi utilizado a máquina universal de ensaios Instron (Instron, 3367, Grove City, USA) e o ensaio realizado foi o de dobramento. As tíbias eram dispostas em sentido horizontal no equipamento que exercia uma força de 5000 Newtons, deste modo ao exercendo a força até a ruptura da tíbia, na região central do osso, conforme metodologia descrita por Pereira¹¹. Os valores são expressos em quilogramas-força (kgf).

Para determinação da concentração de cálcio e fósforo nos osso, foram utilizadas as tíbias direitas dos frangos, sendo que as amostras serão colocadas em estufa de ventilação a 65°C por 24 horas, sendo quebradas por prensa mecânica e posteriormente pré-desengorduradas com éter de petróleo por 4 horas. As amostras foram moídas, armazenadas em potes identificados para que posteriormente fossem realizadas as análises para determinação da concentração de cálcio e fósforo conforme metodologia escrita por Detmann et al¹².

A análise dos dados foi realizada utilizando-se o procedimento de análise de variância (ANOVA). As médias quando estatisticamente diferentes a 5% de significância, foram comparadas pelo Teste de Scott-Knott. Foi utilizado o software de estatística *R Development Core Team*¹³.

As variáveis foram analisadas segundo o modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + N_{elj} + F_{Nelj} + e_{ijk},$$

em que: Y_{ijk} = observação k da unidade experimental submetida aos tratamentos F_i e N_{elj} ;

μ = constante geral;

F_i = efeito dos níveis de cálcio (100, 82 e 64%);

N_{elj} = efeito dos níveis de fitase (750 e 1500FTU);

F_{Nelj} = efeito da interação dos níveis de cálcio \times níveis de fitase

e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

4.3 Resultados

Observou-se efeito das doses de fitase utilizada em todas as características ósseas avaliadas ($P < 0,05$). A superdosagem de fitase (1500FTU/kg de ração) proporcionou aumento no comprimento, diâmetro, peso e resistência óssea de frango com 21 dias de idade ($P < 0,05$) (tabela 5).

Houve interação do nível de cálcio e a dose de fitase utilizados no peso de tíbias de frangos com 21 dias de idade (Tabela 5). Portanto, foi necessário realizar o desdobramento da interação do peso da tíbia (Tabela 6).

TABELA 5 - Qualidade óssea de frangos alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase aos 21 dias de idade

	Comprimento (mm)	Diâmetro (mm)	Peso (g)	Índice Seedor	Resistência Óssea (kgf)
Inclusão de cálcio					
100% Cálcio	67,14	6,12	5,09	0,073	14,04
82% Cálcio	67,27	6,06	5,03	0,074	12,47
64% Cálcio	67,86	6,10	4,99	0,074	13,00
Inclusão de fitase					
750 FTU	66,29 b	5,84 b	4,74 b	0,071 b	12,10 b
1500 FTU	68,56 a	6,35 a	5,22 a	0,077 a	14,17 a
Probabilidade estatística					
Cálcio	0,484	0,895	0,265	0,914	0,341
Fitase	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Cálcio x fitase	0,452	0,394	0,025	0,157	0,384
CV (%)	2,66	5,48	5,07	5,50	10,04

^{a,b} Na coluna, as médias diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste Scott_Knott.

TABELA 6 - Desdobramento da Interação do peso da tíbia de frangos 21 dias de idade alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase

	100% cálcio	82% Cálcio	64% Cálcio
750 FTU	4,95 Aa	4,68 Ab	4,71 Ab
1500 FTU	4,82 Ba	5,30 Aa	5,40 Aa

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma linha diferem entre si ($p < 0,05$).

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$).

Quanto à qualidade óssea dos frangos aos 42 dias de idade (Tabela 7), observa-se que houve efeito apenas do fator fitase para comprimento e diâmetro de ossos ($P < 0,05$).

Aves alimentadas com 1500FTU de fitase/kg de ração apresentaram maiores comprimento e diâmetros de tíbias aos 42 dias de idade quando comparadas com as aves que receberam apenas 750FTU ($P<0,05$).

TABELA 7 - Qualidade óssea de frangos alimentados com redução de cálcio e suplementados com níveis de fitase aos 42 dias de idade

	Comprimento (mm)	Diâmetro (mm)	Peso (g)	Índice Seedor
Inclusão de Cálcio				
100% Cálcio	102,15	10,34	17,05	0,166
82% Cálcio	102,03	10,17	16,84	0,163
64% Cálcio	102,56	10,53	17,55	0,170
Inclusão de Fitase				
750 FTU	101,21 b	10,15 b	16,98	0,165
1500 FTU	103,29 a	10,55 a	17,33	0,167
Probabilidade Estatística				
Cálcio	0,808	0,069	0,265	0,472
Fitase	0,005	0,005	0,179	0,144
Cálcio x fitase	0,831	0,114	0,201	0,108
CV (%)	2,95	5,60	8,82	6,89

^{a,b} Na coluna, as médias diferem entre si ($P<0,05$) pelo teste Scott_Knott.

Em relação à concentração mineral da tíbia dos frangos aos 42 dias de idade (Tabela 8), observa-se que houve efeito apenas do fator fitase para concentração de fósforo ($P<0,05$). Aves alimentadas com 1500FTU de fitase/kg de ração apresentaram maiores deposição de fósforo nos ossos aos 42 dias de idade em relação a suplementação de 750FTU ($P<0,05$).

Houve interação do nível de cálcio e a dose de fitase utilizados na resistência óssea de frangos com 42 dias de idade (Tabela 8). Portanto, foi necessário realizar o desdobramento da interação da resistência óssea (Tabela 9).

Aves alimentadas com 100% do nível de cálcio na ração e com 750FTU de fitase/kg de ração apresentaram maior resistência óssea comparada com os demais níveis de cálcio ($P<0,05$) (Tabela 9). Porém quando as aves foram suplementadas com 1500FTU de fitase/kg de ração, não houve efeito dos níveis de cálcio em relação a resistência a quebra dos ossos ($P<0,05$).

TABELA 8 - Concentração mineral e resistência óssea da tíbia de frangos alimentados com redução de cálcio e suplementados com níveis de fitase aos 42 dias de idade

	Cálcio %	Fósforo %	Resistência Óssea (kgf)
Inclusão de Cálcio			
100% Cálcio	35,51	20,33	46,29
82% Cálcio	36,30	20,85	44,49
64% Cálcio	36,74	21,71	44,16
Inclusão de Fitase			
750 FTU	36,48	19,90 b	45,04
1500 FTU	35,22	22,03 a	44,93
Probabilidade Estatística			
Cálcio	0,058	0,114	0,887
Fitase	0,112	0,001	0,101
Cálcio x fitase	0,064	0,469	0,018
CV (%)	5,71	6,29	5,09

^{a,b} Na coluna, as médias diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste Scott_Knott.

TABELA 9 - Desdobramento da interação da resistência óssea dos frangos 42 dias de idade alimentados com redução do cálcio e suplementados com níveis de fitase

	100% cálcio	82% Cálcio	64% Cálcio
750 FTU	47,56 Aa	42,89 Bb	44,67 Ba
1500 FTU	45,02 Aa	46,10 Aa	43,66 Aa

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma linha diferem entre si ($p < 0,05$).

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$).

4.4 Discussão

Vários fatores podem influenciar a absorção do cálcio pelos animais, como por exemplo, o nível de inclusão nas rações, fonte mineral, granulometria, relação cálcio e fósforo, comprometendo assim o desenvolvimento e formação óssea das aves¹⁴.

Os ossos têm papel importante no desenvolvimento e no crescimento dos animais. Suas características têm relação com a deposição de cálcio e fósforo na forma de hidroxiapatita durante a mineralização óssea. Em situações onde as dietas se encontram deficientes de um desses minerais, a probabilidade de calcificação incompleta pode aumentar o aparecimento de problemas locomotores, principalmente das pernas das aves, ocasionando redução no desempenho e produtividade dos animais¹⁵.

O desenvolvimento ósseo adequado depende da quantidade de cálcio e fósforo na dieta. O cálcio desempenha papel importante na ossificação da matriz óssea. Nos ossos em desenvolvimento, o cálcio e o fósforo são depositados como fosfato tri-cálcio amorfo (Ca_3PO_4)₂¹⁶. No entanto, em ossos maduros existe a formação cristalina de hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6 \text{OH}_2$ (constituente mineral que representa de 30 a 70% da massa dos ossos)^{16,17,18}.

Os distúrbios ósseos são analisados por parâmetros como índice Seedor, disponibilidade mineral óssea, cinzas ósseas e resistência a ruptura dos ossos¹⁹. De acordo com Lima et al.²⁰ e Beterchini²¹ a cinza e a resistência óssea são métodos quantitativos utilizados para avaliar os níveis de fósforo disponíveis e eficiência da fitase. Os níveis, assim como as eficiências digestivas e absorventes do fósforo na dieta e do cálcio, influenciam a cinza e a força óssea.

Ainda pode ser observado pelos resultados das características ósseas avaliadas, que a redução da suplementação da fonte de cálcio não comprometeu a qualidade óssea dos frangos de corte tanto na fase inicial quanto ao final de sua produção. Efeito contrário foi observado, pois animais que receberam 100% da recomendação de cálcio em suas dietas apresentaram menor peso, comprimento e resistência óssea aos 21 dias de idade.

De acordo com Walk et al.⁴, o excesso ou a redução de cálcio e de fósforo na dieta podem interferir na disponibilidade de outros minerais como fósforo, magnésio, manganês e zinco, causando deficiência secundária. Normalmente, a relação Ca:Pdisp é de 2:1 na alimentação de frangos de corte, porém, esta relação pode ser alterada pela influência da atividade de enzima fitase²².

O excesso de cálcio na ração interfere na disponibilidade de outros minerais pois pode elevar o pH no conteúdo do ingluvío, do íleo, diminuir a solubilidade dos minerais e afetar negativamente a fitase^{4,5,23}.

Selle et al.⁵ questionaram a interação cálcio e fitase, pois altas concentrações de cálcio podem se precipitar ao fitato formando o fitato de cálcio, complexo insolúvel no intestino que impede a atuação da fitase por causa da competição do cálcio com os sítios ativos da enzima. Tal conceito pode justificar os resultados obtidos no presente estudo, visto que foi encontrado efeito significativo ($P < 0,05$) para peso da tíbia com a redução de cálcio quando utilizado 1500FTU de fitase nas dietas.

Powell et al.¹⁴ em um de seus estudos em que a enzima fitase foi incluída em rações de frango de corte, observaram que mesmo com baixos níveis de cálcio, o peso dos ossos aumentaram, mostrando a eficiência da adição da enzima fitase devido a menor

interação com o cálcio e com isso proporcionou maior disponibilidade de fósforo. Em contrapartida, Tang et al.²⁴ afirmaram que menores concentrações de cálcio e fósforo podem afetar negativamente o desenvolvimento mineral dos ossos mesmo com a inclusão de 7500FTU/kg.

A suplementação de 1500FTU de fitase proporcionou maior concentração de fósforo na tíbia dos frangos. O aumento na porcentagem de fósforo na tíbia das aves que consumiram fitase pode ser parcialmente justificado pela atuação da fitase em liberar fósforo, cálcio e outros minerais das moléculas de ácido fítico para satisfazer as exigências nutricionais dos frangos na deposição de fósforo nos ossos.

De acordo com Oliveira²⁵, altos níveis de fitase resultaram na hidrólise quase completa do IP6, sem efeitos adversos na porcentagem de cinzas na tíbia. Walk et al.²⁶ mostraram que a suplementação com fitase em até 2.500 FTU/kg de ração aumentou linearmente a porcentagem de minerais nas tíbias.

Como observado no presente estudo, a suplementação de fitase em rações, com níveis maiores que o usual (1500FTU/kg) pode melhorar a qualidade óssea dos frangos de corte, mostram resultados superiores a inclusão de 750FTU/kg. Esses resultados podem ser associados ao aumento da disponibilidade dos nutrientes antes complexados na molécula de fitase que são disponíveis pela atuação da enzima fitase. Resultados semelhantes foram obtidos por Saccomani¹⁵, em que animais que receberam apenas 750FTU de fitase com redução de cálcio em suas dietas apresentaram piores resultados para as características ósseas analisadas.

A densidade mineral apresentada pelo índice Seedor aos 21 dias, foram maiores para os animais que receberam a suplementação de 1500FTU de fitase em duas dietas. Sabe-se que, quanto maior o valor dessas medidas mais denso é o osso, e conseqüentemente, com melhor qualidade. Os resultados obtidos estão de acordo com Saccomani¹⁵ e Bruno²⁷. Lalpanmawia et al.²⁸ também observaram aumento no comprimento e diâmetro da tíbia de frangos de corte aos 35 dias de idade.

Os resultados obtidos permitem dizer que, a superdose de fitase melhora as características ósseas em virtude de sua maior eficácia de destruição do ácido fítico e maior disponibilidade e aproveitamento de minerais, principalmente o fósforo. Os resultados de qualidade de osso obtidos com a aplicação do conceito de superdose em dietas com redução de cálcio permitem dizer, que o excesso de cálcio na dieta interage com a fitase e compromete a atuação da mesma sobre a atuação do ácido fítico.

4.5 Conclusão

A redução da exigência de cálcio em até 36% não compromete as características ósseas de frangos de corte.

A suplementação de 1500FTU de fitase melhora a deposição mineral e características de qualidade ósseas de frangos de corte aos 42 dias de idade.

A redução do cálcio associado com a suplementação de 1500 FTU de fitase não compromete a resistência óssea em frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade.

4.6 Referências

1. Ribeiro TP, Dal Pont GC, Dahlke F, Rocha C, Sorbara JOB e Maiorka A. Available Phosphorus and Calcium Reduction in the Finisher Phase and Phytase Utilization on Broilers. *Applied Poultry Research*. 2019; 28: 263–270.
2. Keshavarz K, Austic RE. The use of low-protein, low phosphorous, amino acid and phytase supplemented diets on laying hen performance and nitrogen and phosphorous excretion. *Poultry Science*. 2004; 83 (1): 75-83.
3. Ravindran V, Morel PCH, Partridge, GG, Hruby M, Sands JS. Influence of an *Escherichia coli*-derived phytase on nutrient utilization in broiler starters fed diets containing varying concentrations of phytic acid. *Poult. Scie*. 2006; 85 (1): 82-89.
4. Walk CL, Santos TS, Bedford, MR. Influence of superdoses of a microbial phytase on growth performance, tibia ash, and gizzard phytate and inositol in young broilers. *Poultry Science* 2014; 93 (5): 1172-1177.
5. Selle PH, Cowieson AJ, Ravindran V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. *Lives. Science*. 2009; 124 (1-3): 126–141.
6. Santos LM, Rodrigues PB, Freitas RTF, Bertechini AG, Fialho ET, Gomide EM, Naves LP. Níveis de cálcio e fósforo disponível em rações com fitase para frangos de corte nas fases pré-inicial e inicial. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2011; 40 (11): 2476-2485.
7. SBCAL- Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório. Guia Brasileiro de Boas Práticas em Eutanásia em Animais: Conceitos e Procedimentos Recomendados. 2012; 1: 62.
8. Rostagno HS, Albino, LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT, Euclides RF. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 4ª ed; 2017: p488.
9. Barbosa A, George HKM, Torres RT, Reis DTC, Rodrigues CS, Muller ES. Avaliação da qualidade óssea mediante parâmetros morfométricos, bioquímicos e biomecânicos em frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2010; 39 (4): 772-778.
10. Seedor JG. The biophosphanate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomy in rats. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1991; 4: 265-270.
11. Pereira R. Eficiência de uma fitase bacteriana na liberação de fósforo fítico em dietas de frangos de corte. [Dissertação]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”; 2010.
12. Detmann E, Souza MA, Valadares Filho S et al. Métodos para Análises de Alimentos. INCT-Ciência Animal, 2012.

13. MR Core Team. R: A language and environment for statistical computing: R Foundation for Statistical Computing. 2019.
14. Powell S, Bidner TD, Southern LL. Phytase supplementation improved growth performance and bone characteristics in broilers fed varying levels of dietary calcium. *Poultry Science*. 2011; 90 (3): 604-608.
15. Saccomani APO. Altas doses de 6-fitase de origem híbrida para frangos de corte de 1 a 42 dias. [Tese]. Pirassununga: Universidade de São Paulo: Escola de zootecnia e engenharia de alimentos; 2018.
16. Chiba LI. *Animal nutrition handbook*. Second Revision. 2009; 13-15.
17. Costa ACFM, Lima MG, Lima LHMA, Cordeiro VV, Viana KMS, Souza CV, Lira HL. Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*. 2009; 4 (3): 29-38.
18. Mushinge BM. Evaluation of various Phytase enzymes for application in broiler feeding. [Dissertation]. Stellenbosch: Faculty of AgriScience at Stellenbosch University; 2015.
19. Bresne C. Suplementação da vitamina D3 (colecalfiferol) e 25-OHD3 (25-hidroxicolecalciferol) e problemas locomotores e qualidade óssea em frangos de corte. [Dissertação]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2013.
20. Lima F, Junior CM, Alvarez J, Garzillo J, Ghion E, and Leal P. Biological evaluations of commercial dicalcium phosphates as sources of available phosphorus for broiler chicks. *Poultry Science*. 1997; 76 (12): 1707-1713.
21. Beterchini AG. Minerais e vitaminas: Exigências de minerais para aves. In: Sakomura NK et al. *Nutrição de não-ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 2014. cap 6. p.466-486.
22. Shafey TM, McDonald MW, Dingle JG. Effects of dietary calcium and available phosphorus concentration on digesta pH and on availability of calcium, iron, magnesium and zinc from intestinal contents of meat chickens. *Brist. Poultry Science*. 1991; 32 (1): 185-194.
23. Wyatt CL, Miloud A, Bedford M. Current advances in feed enzymes for corn-soya based poultry and swine diets: emphasis on cell wall and phytate. 65th Minnesota Nutrit. Confer; 2004. 21-22p.
24. Tang HO, Gao CH, Ji F, Tong S, Li XJ. Effects of a thermostable phytase on the growth performance and bone mineralization of broilers. *Journal Applied Poultry Research*, campaign. 2012; 21: 476-483.
25. Oliveira, EM. Diferentes inclusões de fitase em dietas de frangos de corte. [Tese]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás: Escola de veterinária e Zootecnia; 2016.

26. Walk CL, Addo-Chidie EK, Bedford MR, Adeola O. Evaluation of a highly soluble calcium source and phytase in the diets of broiler chickens. *Poultry Science*. 2012; 91: 2255–2263.
27. Bruno LDG. Desenvolvimento ósseo em frangos de corte: Influência da restrição e temperatura ambiente. [Tese]. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Jaboticabal; 2002.
28. Lalpanmawia H, Elangovan AV, Sridhar M, Shet D, Ajith S and Pal DT. Efficacy of phytase on growth performance, nutrient utilization and bone mineralization in broiler chicken. *Animal Feed Science Technology*. 2014; 92: 81-90.

CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

As fitases exógenas já são usadas comercialmente desde os anos 90, como uma ferramenta bem-sucedida para melhorar o aproveitamos dos ingredientes vegetais pelas aves, reduzir o impacto ambiental devido a menor excreção de nutrientes para o meio ambiente e melhorando a lucratividade. Porém as descobertas de novas formas de atuação das enzimas são surpreendentes e é possível observação maior exploração e confiança no conceito.

Dietas isentas de produtos de origem animal para exportação, a inclusão de fosfato para suprimento das exigências de fósforo, proporciona aumento no custo de formulação, produção das aves e maior utilização dos recursos não renováveis. A utilização de fitase em doses maiores que o convencional (500FTU/kg) tem se tornado viável devido o maior aproveitamento do fósforo fítico e dos efeitos extra-fosfóricos.

Os benefícios oriundos da superdosagem de fitase pelo conceito de redução dos fatores antinutricionais do fitato e melhor utilização do fósforo fítico sobre o desempenho dos animais, são evidentes. Os ganhos produtivos são evidentes em relação ao conceito de melhor eficiência alimentar gerado pela destruição total do fitato e maior liberação do inositol, e pelos efeitos indiretos do mesmo.

Para amparar a lucratividade do setor de produção animal, diante da instabilidade do mercado, cabe aos nutricionistas ou profissionais da área, utilizar aditivos alimentares com conceito técnico consistente visando aumentar a margem de lucro e reduzir o custo com alimentação que é o que apresenta maior impacto no custo de produção final. O conceito de superdose e os recentes avanços em relação a esse conceito, permite os produtores de animais a conseguir reduzir o custo de fórmulas e maximizar o desempenho animal.

Em relação aos efeitos da superdose de fitase sobre as características de qualidade de carne, novos estudos com maiores dosagens de fitase devem ser conduzidos uma vez que o benefício promovido pela enzima no presente estudo não foi suficiente para conclusão de melhorias ou não.

ANEXOS



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E INOVAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA



Goiânia, 20 de março de 2017.

PARECER CONSUBSTANCIADO REFERENTE AO PROJETO DE PESQUISA DO PROTOCOLO N. 024/17

I - Finalidade do projeto de pesquisa: Pesquisa

II - Identificação:

- Data de apresentação a CEUA:** 08/03/17
- Título do projeto:**
Redução dos níveis de cálcio em dietas contendo altas dosagens de fitase para frangos de corte
- Pesquisador Coordenador no SAP:** José Henrique Stringhini/EVZ/UFV
- Pesquisador Responsável/ Unidade:** José Henrique Stringhini
- Pesquisadores Participantes:** Miliane Alves da Costa; Nadja Suzana Mogyca Leandro; Marcos Barcellos Café; Roberto de Moraes Jardim Filho; Fabyola Barros de Carvalho
- Médico Veterinário/CRMV:** Marcos Barcellos Café/ CRMV-GO 1375
- Unidade onde será realizado:** EVZ/UFV

III - Objetivos e justificativa do projeto:

- Avaliar a redução dos níveis de cálcio e adição de níveis crescentes de fitase microbiana na dieta de frangos de corte, sobre a digestibilidade de Cálcio e fósforo e possíveis efeitos sobre o desempenho, desenvolvimento ósseo, características de qualidade da carne, morfologia intestinal e parâmetros bioquímicos séricos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o desempenho – ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar, viabilidade, índice de eficiência produtiva, análise econômica aos sete, 21, 33 e 42 dias e rendimento de carcaça de frangos de corte aos 42 dias.
- Avaliar a digestibilidade de cálcio e fósforo, por meio da coleta ileal e da coleta total.

O projeto justifica-se para aprimorar o conhecimento sobre a inclusão de altas dosagens de fitase e redução dos níveis de inclusão de cálcio que é tão importante, na redução do custo das dietas e na excreção desses minerais para o meio ambiente.

IV - Sumário do projeto:

- Discussão sobre a possibilidade de métodos alternativos e necessidade do número de animais:** Em razão de a pesquisa ser realizada in vivo buscando avaliar as respostas físicas e fisiológicas do animal alimentado com altas dosagens de enzima fitase, há a necessidade de sacrificar alguns animais para uma avaliação mais detalhada para obtenção de respostas mais precisas. Porém, a pesquisa foi delimitada de

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação/PRPI-UFV, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) -
CEP:74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1876.
Email: ceua.ufv@gmail.com



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E INOVAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA



- Material utilizado em outros projetos:** Não se aplica.
- Método de eutanásia:** Deslocamento Cervical
- Destino do animal:** As carcaças serão destinadas a sela de compostagem da Universidade Federal do Goiás.

V – Comentários do relator frente às orientações da CEUA

- Quanto aos documentos exigidos pela CEUA/UFG:** O pesquisador apresentou toda documentação necessária para produção do parecer.
- Quanto aos cuidados e manejo dos animais e riscos aos pesquisadores:** Os cuidados e manejo dos animais estão de acordo com o recomendado pelo CONCEA. Os riscos serão minimizados com as práticas adotadas pelos pesquisadores. Os animais podem ficar em caixas com maior quantidade.

VI - Parecer da CEUA

De acordo com a documentação apresentada à CEUA, consideramos o projeto **APROVADO**.

Informação aos pesquisadores:

Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que a pesquisadora responsável deverá encaminhar à CEUA-PRPI-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Lei nº. 11.794 de 08/10/2008, e Resolução Normativa nº. 01, de 09/07/2010 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal-CONCEA. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, a qual está prevista para finalizar suas ações até **31 de dezembro de 2018**.

VII - Data da reunião: 20/03/2017.

Dra. Marina Pacheco Miguel
Coordenadora da CEUA/PRPI/UFG

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação/PRPI-UFG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) -
CEP:74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1876.
Email: ceua.ufg@gmail.com