

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

NÍVEIS DE FITASE EM DIETAS COM AJUSTES
NUTRICIONAIS PARA FRANGOS DE CORTE

Henrique Barbosa de Freitas

CAMPO GRANDE, MS

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

NÍVEIS DE FITASE EM DIETAS COM AJUSTES
NUTRICIONAIS PARA FRANGOS DE CORTE

Phytase levels in diets with nutritional adjustments for broilers

Henrique Barbosa de Freitas

Orientadora: Prof^ª. Dra. Karina Márcia Ribeiro de Souza Nascimento

Co Orientador: Prof. Dr. Charles Kiefer

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

CAMPO GRANDE, MS

2021

Aos meus pais Diorande e Glêide por sempre acreditar, apoiar e incentivar em todos os momentos em busca do meu grande sonho e à minha esposa e companheira da vida Taynah por todas as caminhadas, estando presente em tudo, sempre acreditando em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela oportunidade de viver, me dando força e esperança para enfrentar as dificuldades e obstáculos da vida sempre com disposição e alegria.

À minha família, principalmente aos meus queridos pais, Diorande Garcia de Freitas e Glêide Barbosa de Assis Freitas, meu alicerce, grande orgulho e incentivo de todos os dias, apoio incondicional e por dar a oportunidade e ensinamentos para me tornar quem realmente sou hoje.

Aos meus grandes irmãos Lucas Barbosa de Freitas e Felipe Barbosa de Freitas que, mesmo estando longe, me apoiam em pensamentos em busca de meus objetivos e sonhos.

De maneira muito especial à minha esposa e eterna companheira Taynah Vieira Aguiar Farias, minha melhor amiga, incentivo maior, meu grande amor, mãe da minha primeira princesa chamada Marina, que de forma carinhosa me apresentou o verdadeiro sentido do amor, sempre me dando força, coragem e apoio para alcançar todos os meus sonhos, acreditando mais em mim do que eu mesmo.

À minha sogra Juçania Farias (Jú) e meu grande sogro Wilson Farias (Tiozão) “*in memoriam*”, por me acolher como um filho, fazendo de sua casa meu segundo lar, me apresentando o sentido da palavra união e por proporcionar momentos de vida do qual nunca tinha vivido antes.

À Prof^a Dra. Karina Márcia Ribeiro de Souza Nascimento, pela amizade, orientação, imensa paciência, dedicação, apoio, oportunidade de trabalhar no Laboratório Experimental em Ciência Aviária (LECA) e também pelos valiosos conselhos e ensinamentos na vida acadêmica e pessoal.

Ao Prof^o Dr. Charles Kiefer, pela amizade, orientação, vastos ensinamentos, conselhos e por sempre estar disposto em ajudar e sanar todas as minhas dúvidas, além de ser um exemplo de profissional que busco seguir todos os dias.

Aos mestres professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, pelo conhecimento repassado e vasto aprendizado transmitido.

Aos meus amigos pós-graduandos parceiros de caminhada acadêmica, Alberto Gaspar, Anderson de Lucca, Raizza Tulux e Jonathan Carvalho por todos os momentos de alegria, apoio, ajuda e principalmente amizade durante minha vida. De maneira muito especial ao meu grande amigo e hoje compadre Stephan Alexander, por ser um conselheiro não só na vida acadêmica, mas também pessoal, minha eterna gratidão.

Aos amigos de pós-graduação e companheiros de trabalho apresentados pela avicultura, Luanna Paiva, Patrícia Santana, Thiago Rodrigues, Maurício Silva, Natália Batista, Larissa Albuquerque, Arnaldo Ofico e Violeta Macie, por me proporcionar momentos ímpares de alegria, companheirismo e muito trabalho durante o doutorado.

Aos amigos, companheiros de experimento e estagiários, Luana Cristiane, Jeovania Leite, Bruna de Sá, Nadine Godoy, Lidiane Akemi, Fabiana Fonseca, Cauê Tertuliano, Gabriel Ragalzi, Rafaela Nunes, Letícia Nantes e Bianca Buldi. Muito obrigado pela imensa ajuda e força de vontade na condução do experimento, sem vocês esse projeto com certeza não chegaria ao final.

Aos meus amigos Adailton Neto, Ricardo Trauer, Ariadne Portilho, Tamires Lima, companheiros de todas as horas, os quais considero irmãos, apresentados pela vida, obrigado pela amizade verdadeira e sincera, por me aparaar e sempre estarem lá quando mais precisei.

À empresa AB Vista pela concessão das enzimas e pelo auxílio financeiro, em especial Gilson Gomes e Tiago Santos, sempre muito prestativos e atenciosos quando solicitados e questionados. Muito obrigado por incentivar a pesquisa em frangos de corte.

Ao grande amigo Ricardo Oliveira, apresentado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, nunca hesitando em me ajudar, sendo sempre animado, prestativo, competente e companheiro em todos os momentos.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, pela oportunidade da realização do curso de Mestrado.

À Fundect – Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do estado de Mato Grosso do Sul, pela concessão da bolsa de estudos e apoio a pesquisa referente à chamada Fundect/CAPES nº 2016.

“Imagine uma viagem em um carro chamado vida, uma estrada chamada sonho, com amores chamados família e um amigo chamado Deus. Então vire a esquina chamada esperança e quando chegar a um lugar chamado sucesso, agradeça ao motorista chamado Jesus. Quando chegar na casa chamada prosperidade, não se acanhe com os hóspedes cujos os nomes são: Andei, Lutei e Venci!”

Tathios

Resumo

FREITAS, H.B. Níveis de fitase em dietas com ajustes nutricionais para frangos de corte. 2021. 68f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2021.

Dietas para aves são constituídas basicamente de ingredientes de origem vegetal, em sua maioria de milho e farelo de soja. Por outro lado, alguns minerais e nutrientes contidos em ingredientes de origem vegetal se apresentam em grande parte aprisionados à molécula de ácido fítico, onde boa parte do fósforo se encontra indisponível para animais não-ruminantes. A busca por ferramentas nutricionais a fim de melhorar o aproveitamento dos nutrientes presentes na alimentação se torna cada vez mais constante, sendo a inclusão de fitase uma ferramenta nutricional que vem demonstrando resultados satisfatórios para frangos de corte, podendo melhorar a eficiência alimentar das aves pelo aumento da digestão dos alimentos e redução na perda de nutrientes. Desta forma, realizou-se este estudo com o objetivo de avaliar o *superdosing* de fitase sobre a metabolizabilidade de nutrientes, energia e digestibilidade dos aminoácidos em frangos de corte. Foram utilizados 900 frangos de corte machos, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições de 30 aves cada. Para compor os tratamentos foram consideradas três matrizes nutricionais: Matriz A: 0,165% cálcio (Ca), 0,150% de fósforo disponível (Pd) e 0,035% de sódio (Na); Matriz B: 0,215% Ca, 0,195% Pd e 0,045% Na e Matriz C: 0,245% Ca, 0,225% Pd e 0,053% Na. Sendo assim, os tratamentos são: Sem Fitase (formulada para atender as exigências nutricionais e sem enzima); Fitase 500+MT A; Fitase 1.000+MT A; Fitase 1.500+MT A; Fitase 1.000+MT B e Fitase 1.500+MT C. A utilização da dieta Fitase 1.500+MT C proporcionou melhora da utilização dos nutrientes (matéria seca, proteína bruta, fósforo e extrato etéreo), energia e na digestibilidade dos aminoácidos essenciais e não essenciais em relação à dieta Sem Fitase, porém quando a enzima foi suplementada em 1.000 FTU/kg associada à matriz A e B, os resultados observados apresentaram melhora ou manutenção das variáveis analisadas. Os resultados obtidos se traduzem na economia de ingredientes utilizados nas dietas de frangos de corte, como por exemplo, o fosfato bicálcico, além também de considerável diminuição dos nutrientes excretados e depositados no meio ambiente.

Palavras-chave: ácido fítico, digestibilidade, fósforo, *superdosing*

Abstract

FREITAS, H.B. Phytase levels in diets with nutritional adjustments for broilers. 2021. 68f. Thesis (Doctorate) - Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2021.

Poultry diets are basically made up of vegetable origin ingredients, mostly corn and soybean meal. On the other hand, some minerals and nutrients contained in ingredients of plant origin are largely trapped in the phytic acid molecule, which a good part of the phosphorus is unavailable to non-ruminant animals. The search for nutritional tools to improve the use of nutrients present in the diet is becoming more constant, such as the inclusion of phytase being a nutritional tool that has been showing satisfactory results for broiler chickens, which can improve the diet of birds by increasing digestion reduction of nutrient loss. Therefore, the objective of this study was to evaluate phytase *superdosing* on the metabolizability of nutrients, energy and digestibility of amino acids in broilers. A total of 900 male broilers were distributed in a completely randomized design with six treatments and five replications of 30 birds each. To compose the treatments, three nutritional matrices were considered: Matrix A: 0.165% calcium (Ca), 0.150% available phosphorus (avP) and 0.035% sodium (Na); Matrix B: 0.215% Ca, 0.195% avP and 0.045% Na and Matrix C: 0.245% Ca, 0.225% avP and 0.053% Na. Therefore, the treatments are: Without Phytase (formulated to meet nutritional requirements and without enzyme); Phytase 500+MT A; Phytase 1,000+MT A; Phytase 1,500+MT A; Phytase 1,000+MT B and Phytase 1,500+MT C. The use of the Phytase 1,500+MT C diet improves the use of nutrients (dry matter, crude protein, phosphorus and ether extract), energy and digestibility of essential and non-essential amino acids in relation to the diet without phytase, however, when the enzyme was supplemented with 1,000 FTU/kg associated with matrix A and B, the results observed improved or maintained the analyzed variables. The results obtained translate into the savings in ingredients used in broiler diets, such as dicalcium phosphate and also reducing the nutrients excreted and deposited in the environment.

Keywords: digestibility, phosphorus, phytic acid, superdosing

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura do ácido fítico na conformação de cadeia	16
Figura 2 - Interação do ácido fítico com o amido	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ocorrência de fósforo nos ingredientes utilizados em dietas para frangos de corte	16
Tabela 2 - Matriz nutricional da fitase para formulação das dietas experimentais	36
Tabela 3 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de 1 a 21 dias de idade	37
Tabela 4 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de 22 a 33 dias de idade	39
Tabela 5 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de 34 a 42 dias de idade	40
Tabela 6 - Coeficientes de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS), proteína bruta (CMPB), fósforo (CMP) e extrato etéreo (CMEE) em dietas de frangos de corte contendo fitase aos 21 e 42 dias de idade	46
Tabela 7 - Valores de Energia Metabolizável Aparente (EMA) e Energia Metabolizável Aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) em dietas contendo fitase aos 21 e 42 dias de idade	47
Tabela 8 - Matriz nutricional da fitase para formulação das dietas experimentais	55
Tabela 9 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de 1 a 21 dias de idade	56
Tabela 10 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de 34 a 42 dias de idade	57
Tabela 11 - Digestibilidade ileal de aminoácidos essenciais em dietas de frangos de corte contendo fitase aos 21 dias de idade	60
Tabela 12 - Digestibilidade ileal de aminoácidos não essenciais em dietas de frangos de corte contendo fitase aos 21 dias de idade	61
Tabela 13 - Digestibilidade ileal de aminoácidos essenciais em dietas de frangos de corte contendo fitase aos 42 dias de idade	61
Tabela 14 - Digestibilidade ileal de aminoácidos não essenciais em dietas de frangos de corte contendo fitase aos 42 dias de idade	63

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
1.1 Fósforo para frangos de corte	14
1.2 Molécula de ácido fítico	15
1.3 Ação da fitase no trato digestório de aves	17
1.4 Disponibilidade de aminoácidos com a utilização de fitase	20
1.5 Metabolizabilidade da energia com a utilização de fitase	23
REFERÊNCIAS	27
Doses crescentes e <i>superdosing</i> de fitase em dietas para frangos de corte com redução de fósforo sobre a metabolizabilidade de nutrientes e energia	33
Resumo	33
Abstract	34
Introdução	35
Material e Métodos	36
Resultados	41
Discussão	43
Conclusões	48
Referências	49
Doses crescentes e <i>superdosing</i> de fitase em dietas para frangos de corte com redução de fósforo sobre a digestibilidade ileal dos aminoácidos	52
Resumo	52
Abstract	53
Introdução	54
Material e Métodos	55
Resultados	59
Discussão	63
Conclusões	66
Referências	67

1 INTRODUÇÃO

2
3 Nos últimos anos têm se observado aumento na produção de carne de frango com
4 elevado desenvolvimento do setor nacional e internacional, sendo que os produtos avícolas têm
5 tido destaque considerável na economia. Aliado ao elevado desenvolvimento da criação,
6 observou-se que a produção brasileira de carne de frango em 2019 totalizou 13,24 milhões de
7 toneladas, destinando 32% do total produzido ao mercado externo (ABPA, 2020),
8 demonstrando a importância do setor na economia mundial.

9 Em frangos de corte criados intensivamente um dos componentes que mais oneram o
10 custo da produção das aves é a dieta, podendo esse valor chegar até 70% do total, representado
11 pelas fontes de proteína e energia as mais onerosas, seguidas da suplementação mineral de
12 fósforo, totalizando cerca de 2 a 3% do valor total (Schoultens et al., 2003).

13 No entanto, dietas para frangos de corte são constituídas basicamente de ingredientes de
14 origem vegetal, composta em sua maioria de milho e farelo de soja. Por outro lado, alguns
15 minerais e nutrientes contidos em ingredientes de origem vegetal se apresentam em grande parte
16 aprisionados à molécula de ácido fítico, no qual cerca de 70% do fósforo se encontra
17 indisponível para animais não-ruminantes (Silva et al., 2006; Rostagno et al., 2011). Sendo
18 assim, as aves não possuem capacidade de produzir fitase para a hidrólise eficiente da molécula
19 de ácido fítico presente nos ingredientes de origem vegetal (Macari et al., 2002) e, dessa forma,
20 faz-se necessário a adição de elevada quantidade de fonte inorgânica de fósforo para suprir as
21 exigências nutricionais desse mineral nas diferentes fases de criação.

22 Quando considerado o elevado custo das dietas e dos minerais adicionados, ligados ao
23 fato de que frangos de corte não utilizam de maneira eficiente os nutrientes retidos à molécula
24 de ácido fítico, a busca por alternativas nutricionais para melhorar ainda mais o aproveitamento
25 dos componentes presentes na alimentação se torna cada vez mais constante. Uma ferramenta
26 nutricional que vem demonstrando resultados satisfatórios é a inclusão de enzimas exógenas na
27 alimentação de frangos de corte, com intuito de melhorar a eficiência alimentar das aves pelo
28 aumento da digestão dos alimentos e redução na perda de nutrientes e, consequentemente,
29 elevado potencial de redução da poluição ambiental causada pelo excesso de nutrientes contidos
30 nas excretas de aves (Caires et al., 2008).

31 Como a suplementação de fontes inorgânicas de minerais apresentam elevado custo de
32 utilização em criação de aves, nos últimos anos a adição de fitase exógena na dieta tornou-se
33 alternativa viável para frangos de corte. A disponibilidade de fitase permite substituição parcial
34 ou total da quantidade de certos ingredientes adicionados às dietas, como por exemplo, redução

1 principalmente do fosfato bicálcico, permitindo posteriormente a redução reduzir os custos com
2 formulação, além de melhorar o aproveitamento de nutrientes e do desempenho e reduzir
3 significativamente a excreção de poluentes ao meio ambiente.

4 Novas estratégias nutricionais através da utilização de suplementação de fitase estão
5 sendo estudadas como, por exemplo, níveis acima do recomendado pela literatura e indústria
6 (500 FTU/kg de ração), denominada de *superdosing*. Sua utilização consiste em considerar ou
7 não a matriz nutricional da enzima fitase, indicando a quantidade de nutrientes (energia,
8 proteína, cálcio, fósforo e aminoácidos) que será liberada quando adicionada a dieta (Ligeiro et
9 al., 2009), associada a elevados níveis de fitase, a fim de obter melhorias sobre o desempenho,
10 digestibilidade de nutrientes, parâmetros sanguíneos e ósseos, tornando-se alternativa
11 nutricional a ser aplicada na cadeia avícola.

12 Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi de avaliar o *superdosing* de fitase sobre a
13 metabolizabilidade de nutrientes, energia e digestibilidade dos aminoácidos em frangos de
14 corte.

15

1.1 Fósforo para frangos de corte

Os minerais constituem papel extremamente importante para o organismo animal, representando cerca de 3 a 4% do peso corporal das aves (Macari et al., 2002). Dentre todos os minerais, o fósforo (P) é o segundo mais abundante na composição dos tecidos animais, estando 80% do total presente nos ossos e dentes e os 20% restante distribuído entre fluídos e outros tecidos (Waldroup, 1996; Underwood & Suttle, 1999). Como componentes estruturais do corpo, os ossos servem de reserva mineral de cálcio (Ca) e P, mobilizados ocasionalmente quando o fornecimento na alimentação for inadequado para atender às exigências nutricionais dos animais (Maynard et al., 1984).

Além de desempenhar importante papel como mineral estrutural, o P está envolvido em diversos processos metabólicos, presente na formação da estrutura óssea, do tecido muscular e ovos, componentes de ácidos nucleicos, fundamental no controle do metabolismo celular, auxilia na manutenção osmótica e no balanço ácido-básico. Além disso, o P é necessário para formação dos fosfolipídeos, na transferência de energia como componente da molécula de trifosfato de adenosina (ATP), é ativador de muitos processos enzimáticos (Underwood, 1981; Santos et al., 2011), auxilia no transporte de gorduras, síntese de aminoácidos e proteínas, e ainda, participa no controle do apetite e na eficiência alimentar (Runho et al., 2001).

O P é depositado na matriz orgânica do osso sob a forma de hidroxiapatita, estando envolvido na formação de colágeno e mineralização óssea, podendo aumentar a resistência tênsil do osso e acelerar a cicatrização de fraturas (Hemme et al., 2005). A forma de ingestão de P pelas aves pode ocorrer por diversas maneiras, sendo inorgânica como mono, di ou trifosfato, ou orgânica como fitatos, fosfolipídeos ou fosfoproteínas, os quais são absorvidos no intestino delgado sob a forma de ortofosfato.

Após a digestão do alimento consumido pelas aves, o P dietético é absorvido na forma de fosfato no intestino delgado, ao longo de toda estrutura, sendo o duodeno principal local, provavelmente devido ao seu pH capaz de aumentar a solubilidade, proporcionando, portanto, a absorção do mineral (Macari et al., 2002). Evidências revelam que a absorção de P parece envolver transporte ativo com gasto de energia, no qual a taxa de absorção depende de vários fatores reguladores como o pH, viscosidade intestinal, nível de P dietético, relação Ca:P, vitamina D e outros minerais (Hays & Swenson, 1988). A quantidade necessária varia muito, dependendo de diversos fatores como espécie, idade, estado fisiológico e o nível desejado de desempenho.

Na produção dos frangos, o não atendimento da exigência de P e o consumo em quantidades inadequadas, resultarão em diminuição do desempenho das aves, elevação nos índices de mortalidade, queda na produção de ovos, anormalidades, má qualidade da casca e altos índices de quebra da casca do ovo, piora na eficiência de utilização dos alimentos e mineralização óssea inadequada (Calderon & Jensen, 1990; NRC, 1994), levando ao desenvolvimento anormal do corpo e apresentando anomalias como o raquitismo, osteoporose, osteomalácia e osteodistrofia, discondroplasia da tíbia ou mesmo desmineralização óssea (Qian et al., 1996).

De maneira contrária, se os níveis de P forem supridos pela dieta em todo período de desenvolvimento da ave, o crescimento será satisfatório, capaz de garantir, além do ótimo desempenho, boa formação e resistência óssea dos frangos de corte criados intensivamente (Laurentiz et al., 2009).

Além dos prejuízos causados pela deficiência na dieta, o excesso de P inorgânico juntamente com o fítico e outros nutrientes que não são utilizados pelos frangos, são eliminados nas excretas, causando problemas ao meio ambiente, como a eutrofização e nitrificação. Esses problemas causados à corpos d'água diminuem a quantidade de oxigênio dissolvido nas águas dos rios e lagos, levando a morte de peixes e seres aquáticos, e possível contaminação do solo por excesso desse mineral (Fukayama et al., 2008).

No entanto, maior parte do P contido em alimentos de origem vegetal encontra-se complexado à molécula de ácido fítico, tornando cerca 70% indisponível para as aves. Como alternativa a esse problema, a inclusão de fitase exógena vem sendo empregada na alimentação de frangos de corte desde a década de 80, onde sua adição promove quebra parcial ou total da molécula de fitato, melhorando a absorção de macros e microminerais, além de aminoácidos quelatados a esta molécula (Bertechini, 2006).

1.2 Molécula de ácido fítico

Estruturalmente o fitato ou ácido fítico se refere a uma mistura de sais de ácido fítico, em sua maioria composto por seis resíduos de ácido ortofosfórico ligados ao inositol (mioinositol (1, 2, 3, 4, 5, 6) hexafosfato, IP6) (Figura 1) (Nagashiro, 2007).

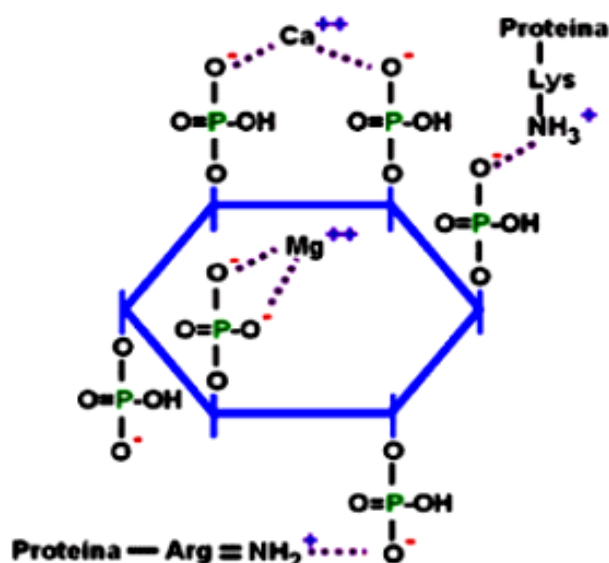


Figura 1- Estrutura do ácido fítico na conformação de cadeia (Quirrembach et al., 2009).

O P contido na maioria dos alimentos de origem vegetal está na forma de fitato, constituindo de 50 a 80% do total, sendo sua presença variável conforme a espécie, clima, solo, adubação, idade e estágio de maturação do vegetal (Harland & Morris, 1995; Rostagno et al., 2011) (Tabela 1). Nas sementes e nos grãos de cereais, o fitato é a principal forma de armazenamento do P, mio-inositol e de íons metálicos (Oh et al., 2004).

Tabela 1 - Ocorrência de fósforo nos ingredientes utilizados em dietas para frangos de corte

Ingrediente	%P Total	%P Fítico	%P Disponível ¹	%P Disp:P Total
Farelo de arroz	1,67	1,43	0,24	14,37
Milho grão	0,25	0,19	0,06	24,00
Farelo de soja (45%)	0,56	0,34	0,22	39,28
Soja integral tostada	0,52	0,33	0,19	36,54
Sorgo	0,26	0,18	0,08	30,77
Farelo de trigo	0,97	0,64	0,33	34,02

¹Fósforo disponível calculado no alimento. Adaptado de Rostagno et al. (2011).

A molécula de ácido fítico possui como principal função se ligar e armazenar o P contido nos vegetais, para que o embrião da planta em desenvolvimento utilize essa reserva, para posteriormente se ligar com cátions bivalentes a fim de serem liberados após germinação (Remus, 2007). A localização desta molécula é variável entre os diversos vegetais, estando em grãos pequenos situado principalmente na parte externa da semente (camada de pericarpo, testa e aleurona), situado no germe do milho, enquanto nas sementes de leguminosas, encontra-se nos cotilédones. Nas rações, o IP6 está na forma de complexos ligados a minerais, como

magnésio (Mg), Ca e potássio (K), considerado a forma dominante no milho, farelo de arroz, sorgo, farelo de soja e trigo (Nagashiro, 2007).

Em pH próximo ao neutro (6 a 7) os grupamentos fosfatos presentes na molécula de fitato atuam como agentes quelatantes fortes de íons metálicos como Ca, Mg, cobalto, manganês e zinco, impedindo que sejam absorvidos por animais monogástricos (Lei et al., 1993). Devido a essas propriedades e ao fato de que os animais monogástricos possuem baixo nível de fitase intestinal para a hidrólise eficiente da molécula de ácido fítico, o fitato presente nos constituintes da dieta de não-ruminantes, tem sido considerado fator antinutricional (Cherry & Fidantsef, 2003; Kristensen et al., 2006).

Além da interação do fitato com minerais essenciais, formando grande variedade de complexos insolúveis, sua presença reduz a digestibilidade de lipídeos, carboidratos e proteínas, formando complexos que são menos solúveis e mais resistentes à proteólise. As cargas negativas da molécula de ácido fítico reagem com as positivas de alguns aminoácidos, tais como lisina, arginina, histidina, das moléculas de proteínas, incluindo as enzimas envolvidas na digestão de proteínas, diminuindo assim a disponibilidade dos aminoácidos (Ravindran et al., 1999; Cowieson et al., 2006). A extensão desta reação depende da concentração e da solubilidade do fitato, da concentração de cálcio dietético, do pH do meio e do ponto isoelétrico da proteína (Cowieson et al., 2008).

Tem sido demonstrado ainda que o fitato pode afetar a digestibilidade do amido interagindo com a amilase (Thompson & Yoon, 1984), tripsina, fosfatase ácida, e tirosinase que são inibidas pelo inositol (Harland & Morris, 1995). Nesse sentido, o fitato dificulta a digestão de nutrientes, influenciando negativamente a energia metabolizável da dieta e, consequentemente, gerando piora no aproveitamento de nutrientes, resultando em queda de crescimento, hipoglicemia e danos aos tecidos animais (Laurentiz et al., 2005).

Dessa forma, os teores de fósforo nos vegetais, como milho e farelo de soja, são muito pequenos quando comparados aos ingredientes de origem animal da dieta. No entanto, por mais que grandes quantidades sejam incluídas nas formulações, tanto o milho quanto o farelo de soja não atendem totalmente a exigência de fósforo recomendada para cada fase de criação. Ainda que as aves possam ter presente no conteúdo intestinal uma pequena quantidade de fitase endógena, esta é insuficiente para degradar a molécula de ácido fítico dos vegetais, tornando a suplementação de fitase exógena alternativa viável para disponibilizar o fósforo contido nos ingredientes utilizados na alimentação de frangos de corte.

1.3 Ação da fitase no trato digestório de aves

A fitase ou mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase é uma enzima pertencente ao grupo das fosfatases de histidina ácida que hidrolisam o fitato para mio-inositol e fosfato inorgânico. Dentre as enzimas disponíveis, a mio-inositol hexaquisfosfato 3-fosfohidrolase, denominada 3-fitase e a mio-inositol hexaquisfosfato 6- fosfohidrolase, 6- fitase ou fitato 6- fosfatase, e ainda a mioi-nositol-hexaquisfosfato 5- fosfohidrolase, 5-fitase, que são definidas a partir do local onde é iniciada a hidrólise da molécula de fitato (Vohara & Satyanarayana, 2003).

A unidade de fitase ativa (FTU ou U) é definida como a quantidade de enzima necessária para liberar um micromol de ortofosfato inorgânico por minuto em substrato de sódio fitato a temperatura de 37°C e pH 5,5 (Engelen et al., 1994; Conte, 2000).

Diversas fitases com propriedades estruturais e catalíticas podem ser encontradas em animais, plantas e microrganismos, como por exemplo, em certos ingredientes constituintes das dietas os quais podem conter fitases naturais capazes de separar o fósforo da molécula de ácido fítico. A fitase é encontrada em cereais como arroz, trigo, milho, sorgo, tritcale, soja, feijão, e outras leguminosas ou sementes oleaginosas (Vohara & Satyanarayana, 2003). Alimentos como cevada, farelo de trigo e arroz são ricos em atividades de fitase, entretanto, milho e farelo de soja, ingredientes mais utilizados na fabricação de rações, contém pouca ou nenhuma atividade (Selle & Ravindran, 2007).

Animais não-ruminantes, como aves, suínos e o próprio homem, ao consumirem alimentos cereais contendo fosfato na forma de fósforo fítico, não o utilizam de maneira eficiente por possuir baixa ou ausência da atividade de fitase intestinal (Wodzinski & Ullah, 1996), tornando indisponível principalmente o fósforo e demais nutrientes aprisionado à molécula de fitato, podendo este problema ser contornado com a adição de uma fonte inorgânica de fósforo ou por suplementação de enzima fitase na dieta.

Décadas atrás, a maioria das fitases comercializadas eram derivadas de diferentes espécies de fungos, como *Aspergillus niger* e *Peniophora lycii* (Remus, 2007). Mesmo apresentando diferentes fontes, estudos têm comprovado que comercialmente as mais promissoras ainda são as microbianas, provenientes das bactérias *Bacillus* sp, *Enterobacter* sp., *Escherichia coli*, e de leveduras oriundas de *Arxula adenivorasns* e *Hansenula polymorpha* e fungos de *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Talaromyces thermophilus* (Pandey et al., 2001). As fitases derivadas da bactéria *Escherichia coli* tem demonstrado melhor influência no desempenho, aumento na mineralização óssea e biodisponibilidade do fósforo para as aves (Remus, 2007).

Com base nas propriedades bioquímicas (pH ideal, mecanismos catalíticos e especificidade da hidrólise), as fitases podem ser divididas em fosfatases histidina fosfatases

1 ácidas (HFA), fitases β -hélice (FBH), fosfatases ácidas, FAP) cisteína fosfatase (CF) (Li et al.,
2 2010).

3 A maioria das fitases vegetais, bacterianas e fúngicas pertencem à classe HAP. A
4 IUPAC-IUB (The International Union of Pure and Applied Chemistry and the International
5 Union of Biochemistry) classificou todas as fitases ácidas como subfamília de HAP de alto peso
6 molecular, na qual se inclui as 3-fitases que iniciam a hidrólise da ligação éster na posição 3, e
7 as 6-fitases, que hidrolisam esta ligação na posição 6 (Nagashiro, 2007).

8 A maioria das fitases existentes no mercado deve ser capaz de atuar eficientemente no
9 trato gastrointestinal (TGI) superior, mais precisamente no proventrículo e moela das aves, isto
10 é, em meio ácido, mantendo a molécula de ácido fítico em estado solúvel. Quando a digesta se
11 move para o intestino delgado (pH 6-7), a molécula de ácido fítico se liga a minerais como
12 cálcio e zinco formando precipitados insolúveis, no qual causará inibição da ligação do
13 complexo fitase:fitato, impedindo a desfosforilação. Portanto para uma atividade ótima da
14 fitase, deve atuar em meio ácido do TGI além de ser resistente a proteólise (Augspurger et al.,
15 2003).

16 O efeito do complexo fitato e fitase sobre a biodisponibilidade de fósforo tem sido
17 investigado pelos cientistas em cerca de 30 a 40 anos. Entretanto, os chamados efeitos extra-
18 fosfóricos da fitase ainda não estão consolidados, embora vários autores tenham relatado
19 melhor digestibilidade de aminoácidos, energia e outros minerais, especialmente cálcio, com a
20 adição de fitase em dietas avícolas. Os mecanismos pelos quais a fitase influencia a
21 digestibilidade aparente de aminoácidos, energia e minerais, e acredita-se que grande parte
22 destas melhorias, especialmente os efeitos sobre proteína, esteja relacionada à redução dos
23 efeitos do fitato sobre as perdas endógenas de aminoácidos (Cowieson et al., 2008).

24 De forma geral, inúmeras pesquisas demonstraram o efeito da enzima fitase sobre a
25 quebra da molécula de fitato, sendo que sua suplementação disponibiliza níveis consideráveis
26 de nutrientes quelatados a molécula de ácido fítico, para que posteriormente as aves possam
27 utilizar em seu processo digestivo, com melhorias significativas sobre o crescimento e produção
28 (Ravindran et al., 2006; Pillai et al., 2006; Manangi & Coon, 2008; Alvarenga et al., 2011).

29

1.4 Disponibilidade de aminoácidos com a utilização de fitase

Desde a década de 1970 a suplementação de enzima fitase em dietas de frangos de corte sempre teve como objetivo principal a liberação do P fítico contido nos ingredientes de origem vegetal. No entanto, pesquisas recentes têm buscado outros benefícios além da liberação do P aprisionado a molécula de ácido fítico, onde sua utilização tem explorado seus efeitos extra fosfóricos, principalmente na melhora da disponibilidade dos aminoácidos e utilização da energia e nutrientes da dieta (Sommerfeld et al., 2018).

A molécula de ácido fítico deprime a utilização de aminoácidos, pela formação de complexos que alteram as estruturas físicas das proteínas, que por sua vez diminuem a solubilidade das proteínas, a atividade enzimática e consequentemente a digestibilidade da proteína (Deshpande & Damodaran, 1989; Ravindran & Bryden, 1999; Urbano et al., 2000).

Além disso, esses complexos são menos prováveis de serem digeridos por enzimas proteolíticas (pepsina, tripsina e quimotripsina) e também outras enzimas digestivas pancreáticas como a lipase e α -amilase, por serem inibidas pela alta concentração de fitato na digesta (Macholz, 1986; Caldwell, 1992). Essa inibição da atividade enzimática pode ser devida à natureza não específica das interações proteína-fitato e a quelatação de íons de Ca, essenciais para a atividade da tripsina e α -amilase, resultando em diminuição da digestibilidade dos aminoácidos e o amido (Kumar et al., 2010).

O ácido fítico é capaz de formar complexos com aminoácidos quando o pH está abaixo do ponto isoelétrico da proteína, a molécula de fitato é carregada negativamente e tem capacidade de formar fortes ligações eletrostáticas com o grupo catiônico dos resíduos básicos de lisina, arginina e histidina, além de outros aminoácidos (Cheryan, 1980). Dessa maneira, em animais não-ruminantes, é provável que em condições ácidas, principalmente no proventrículo, onde o pH se encontra em torno de 1,5 a 2,5, sejam formados esses complexos fitato-proteína. Devido a essas interações, pode ser causada certa modificação estrutural, gerando o empacotamento próximo de moléculas de proteína em torno do ânion de fitato, levando a formação de um complexo insolúvel não disponível para digestão e absorção (Deshpande & Damodaran, 1989).

Os complexos insolúveis formados pela ligação aminoácido-fitato podem ser dificilmente digeridos no intestino delgado, pois possui solubilidade reduzida quando se encontram em pH mais elevado (Lillford & Wright, 1981). Essa teoria foi confirmada quando suínos foram alimentados com milho composto com diferentes concentrações de fitato (baixo e alto), em que foi observado maior digestibilidade ileal dos aminoácidos em animais

1 alimentados com milho de baixa concentração de fitato, indicando que o fitato diminui a
2 digestibilidade ileal dos aminoácidos (Bohlke et al., 2005).

3 Além da diminuição da atividade de enzimas proteolíticas, a presença da molécula de
4 fitato na dieta pode promover a hipersecreção gástrica de pepsina e ácido clorídrico (HCl),
5 devido à natureza refratária da proteína complexada. Consequentemente, há maior produção de
6 muco e fluxo de sódio (Na) no intestino delgado (Cowieson et al., 2004), o que pode atrapalhar
7 a absorção de aminoácidos endógenos dependentes de transporte da atividade “bomba de sódio
8 e potássio” (Glynn, 1993).

9 Esta hipótese, pode ainda explicar a interferência da molécula de ácido fítico na
10 absorção de aminoácidos, pois, acredita-se que há correlação negativa entre a digestibilidade
11 de aminoácidos e as concentrações de IP6 no íleo (Sommerfeld et al., 2018).

12 Dessa forma, a suplementação de fitase em dietas de não ruminantes pode auxiliar na
13 maior absorção de grupos 6 fosfatos (IP6) e mio-inositol, pois, sabe-se que suínos e aves não
14 conseguem degradar totalmente o IP6 devido ao fato de que as fitases 3 e 6 não separam o grupo
15 fosfato na posição correta na molécula de mio-inositol (Selle e Ravindran 2007). Ainda, a
16 suplementação de fitase em dietas deficientes em fósforo e com reduções adequadas levaram a
17 maiores concentrações de mio-inositol nas digestas da moela e íleo de frangos de corte (Kuhn
18 et al., 2016).

19 Comparando a inclusão ou não de fitase em dietas de frangos de corte, foi possível
20 observar que quando não houve a adição de fitase, as concentrações de IP6 e IP5 foram altas
21 devido às limitações das fitases endógenas microbianas e epiteliais na degradação da molécula
22 de fitato. Por outro lado, com a adição de fitase, houve redução nas concentrações de IP6 e IP5
23 e aumento na digestibilidade dos aminoácidos (Selle et al., 2012). Portanto, pode ser sugerido
24 que a relação entre a digestibilidade de aminoácidos e a presença dos isômeros da molécula de
25 fitato no trato digestório é de importante relevância, pois, a suplementação de fitase parece ter
26 efeito na degradação dos complexos fitato-proteína, além de ocasionar mudança nos isômeros,
27 resultando em maior liberação e absorção de aminoácidos para frangos de corte, o que ocasiona
28 em aumento de ganho de peso e melhoras percentuais na conversão alimentar (Sommerfeld et
29 al., 2018).

30 A suplementação de 3000 FTU/kg de fitase em dietas de frangos de corte na fase inicial
31 e crescimento pode proporcionar melhora significativa de 1 a 3 pontos percentuais na
32 digestibilidade ileal tanto dos aminoácidos essenciais quanto dos não essenciais, em função da
33 enzima fitase quebrar os complexos proteína-fitato, aumentando a disponibilidade de
34 aminoácidos para serem digeridos e absorvidos pelas aves (Sommerfeld et al., 2018). O

1 incremento na digestibilidade e aproveitamento da proteína dependem do nível de atendimento
2 da exigência de aminoácidos através da dieta, pois o desafio com matrizes nutricionais de
3 aminoácidos mais robustas pode proporcionar maior aproveitamento desses nutrientes pela ave.

4 Na literatura é possível encontrar diversas doses de recomendação de inclusão de fitase
5 em dietas de frangos de corte (de 500 a 24000 FTU/kg de fitase) (Amerah et al., 2014;
6 Sommerfeld et al., 2018; Walk e Rao, 2019), levando em consideração a resposta positiva na
7 absorção de aminoácidos, sendo que, geralmente, quanto maior o nível de inclusão de fitase na
8 dieta, maior será a disponibilidade de aminoácidos.

9 Nesse sentido, a inclusão de fitase nas dietas deve levar em consideração que
10 possivelmente, quanto maior a concentração de fitato nos ingredientes, maior será a formação
11 do complexo fitato-proteína, e conseqüentemente, menor atividade da fitase em menores doses
12 de inclusão, o que poderá reduzir a disponibilidade de aminoácidos para serem aproveitados
13 pelas aves (Menezes-Blackburn et al., 2015).

14 Esses efeitos podem ser observados quando a fitase é suplementada no nível de 1000
15 FTU/kg na dieta de frangos de corte aos 21 dias de idade, onde não foi possível observar
16 diferença na digestibilidade da lisina com a inclusão de fitase, porém houve aumento
17 significativo na digestibilidade da metionina, treonina, valina e leucina, em aproximadamente
18 5,45; 15,73; 15,69 e 14,56%, respectivamente (Amerah et al., 2014), confirmando a efetividade
19 da ação da fitase na melhora da digestibilidade dos aminoácidos em dietas de frangos de corte
20 contendo a enzima.

21 Em dietas contendo 0,24% de fósforo fítico, o aumento na inclusão de fitase nas dietas
22 de frangos de corte incrementou em 2 e 3% a digestibilidade de aminoácidos quando utilizado
23 500 e 2000 FTU/kg na dieta, respectivamente. Porém, em dietas contendo 0,345 ou 0,45% de
24 fósforo fítico, os 500 FTU/kg de fitase aumentaram a digestibilidade de aminoácidos em 5 e
25 3%, respectivamente, e 6 e 7% quando a dose de fitase foi aumentada para 2000 FTU/kg (Walk
26 e Rao, 2019).

27 A suplementação de 1500 FTU/kg de fitase em dietas de frangos de corte aos 21 dias de
28 idade proporcionou aumento na digestibilidade pré-cecal da maioria dos aminoácidos
29 essenciais entre 1 a 3% quando comparado à dieta sem adição de fitase. Quando avaliado os
30 aminoácidos não-essenciais, essa melhora alcançou a escala de 1,5% na maioria dos
31 aminoácidos, confirmando a eficácia da inclusão da enzima fitase na melhora da digestibilidade
32 de aminoácidos tanto essenciais quanto não-essenciais (Sommerfeld et al., 2018).

33 Portanto, mesmo que se acredite que a fitase possua maior efeito em dietas com baixas
34 concentrações de aminoácidos nas dietas de frangos, uma vez que, dietas formuladas para

atender completamente a necessidade nutricional das aves, provavelmente irão ter maior disponibilidade de aminoácidos para absorção, sendo que dietas com reduções e com altas doses de fitase podem liberar maiores quantidades de aminoácidos, melhorando o desempenho zootécnicos das aves (Sommerfeld et al., 2018).

1.5 Metabolizabilidade da energia com a utilização de fitase

Sabe-se que a fitase possui como efeito principal a liberação de fósforo da molécula de ácido fítico. Além disso, a enzima possui efeitos extra-fosfóricos, ou seja, sobre outros componentes da dieta que não são o fósforo, como em outros minerais, aminoácidos e até mesmo sobre a energia metabolizável das dietas.

O mecanismo pelo qual ocorre o aumento energético da dieta com a utilização da fitase ainda não é totalmente conhecido, mas existem algumas suposições, que estão relacionadas com o aumento da digestibilidade de três componentes, os aminoácidos, os lipídios e o amido da dieta (Humer et al., 2015).

A princípio, observando os estudos realizados com aves no qual a enzima melhorou a digestibilidade dos aminoácidos e também os valores de energia metabolizável (Cowieson et al., 2006; Namkung e Leeson, 1999; Pieniazek et al., 2017), poderia se imaginar que exista uma relação entre os dois efeitos, no qual a maior disponibilização de aminoácidos, aumenta consequentemente os níveis de energia.

Porém, dados de alguns estudos indicaram que o incremento na energia metabolizável ocorre com a utilização de fitase, independente do efeito sobre a digestibilidade dos aminoácidos (Ravindran, 2000; Ravindran 2001). Portanto, apesar de existir essa relação entre esses dois componentes da dieta, a melhora na digestibilidade dos aminoácidos não parece ser exclusiva para o incremento observado na energia metabolizável, sendo possivelmente apenas um dos fatores responsáveis (Selle et al., 2009).

A digestibilidade da gordura da dieta também é afetada pela presença da lipofitina (Kumar et al., 2010), um complexo mineral-fitato, que em conjunto com os lipídios leva a formação de sabões metálicos insolúveis de gordura, dessa forma restringindo a sua digestão e absorção no trato gastrintestinal das aves (Ravindran et al., 2000).

Dietas de pintinhos jovens com fitato, e na qual foram suplementadas com gordura, houve aumento de sabões insolúveis de ácidos graxos na gordura das excretas, indicando piora na utilização dessas gorduras (Matyka et al., 1990), enquanto a utilização da enzima fitase melhora

a digestibilidade ileal da gordura (Camden et al., 2001), consequentemente, melhorando a disponibilidade de energia metabolizável da dieta para as aves.

Com relação ao amido, testes *in vitro* avaliaram que o ácido fítico possui a capacidade de reduzir em até 60% a digestibilidade desse carboidrato (Thompson e Yoon, 1984), sendo observado também uma redução na glicose sanguínea de indivíduos alimentados com carboidratos no qual foi adicionado o ácido fítico (Thompson et al., 1987).

Existem dois mecanismos pelos quais acredita-se que o ácido fítico piore a digestibilidade do amido: afetando o próprio carboidrato e/ou a enzima responsável pela sua digestão. Afeta diretamente o carboidrato, quando se liga ao amido ou a alguma proteína associada ao amido (Figura 2) (Thompson et al., 1987).

Já o efeito sobre a enzima amilase ocorre pois existe uma complexação do fitato com o cálcio, que é um cofator necessário para a atividade da amilase, reduzindo sua função (Cowieson e Ravindran, 2007), além de ser possível a ligação do ácido fítico com a enzima fitase, tornando-a inativa (Thompson et al., 1987).

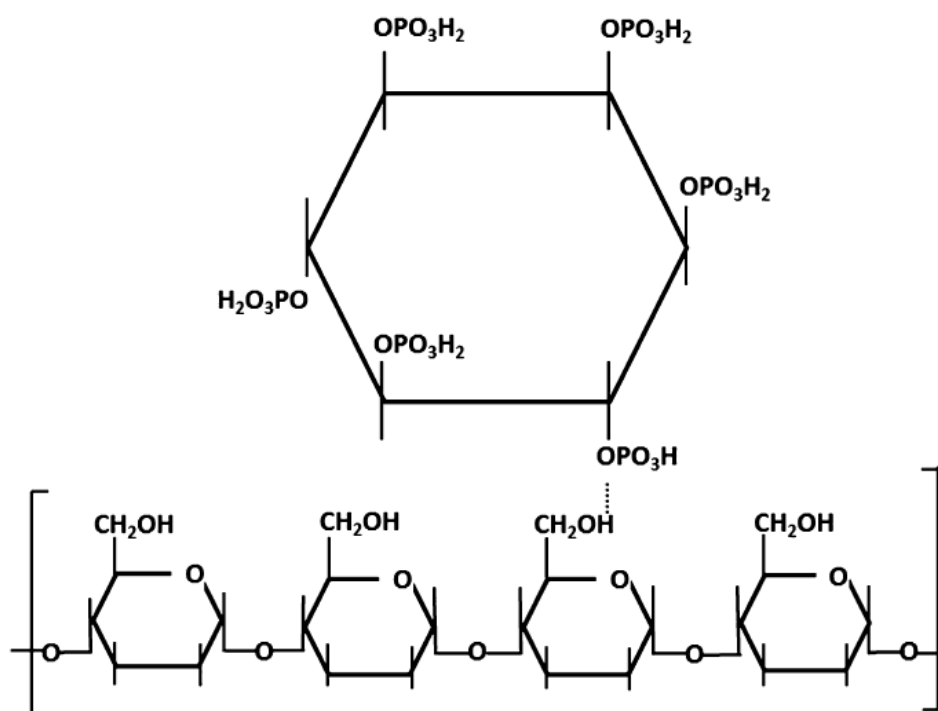


Figura 2 - Interação do ácido fítico com o amido (Humer et al., 2015).

Outra explicação foi descoberta para o aumento da energia metabolizável, entretanto especificamente para o trigo. Nesse caso, devido ao ácido fítico ser um componente da parede celular desse alimento, acredita-se que a utilização da fitase liberaria e permitiria um maior

1 contato das enzimas com os nutrientes, assim como ocorre quando se utiliza a xilanase
2 (Ravindran et al., 2001).

3 Apesar da relação estabelecida entre a utilização da fitase com o aumento da energia da
4 dieta, os resultados ainda são variáveis, com alguns estudos não apresentando diferença
5 significativa para a utilização da enzima (Oryschak et al., 2002; Martinez-Amezcu et al., 2006;
6 Olukosi et al., 2013; Walk e Olukosi, 2019), enquanto que em outros a sua utilização traz
7 diferenças no conteúdo energético da dieta (Cowieson et al., 2006; Amerah et al., 2014;
8 Stefanello et al., 2015; Pieniazek et al., 2017; Schramm et al., 2017; Levy-Jimenez et al.,
9 2018).

10 Essa inconsistência nos resultados pode ter relação com as diferenças observadas nos
11 estudos, como o tipo e a concentração dos ingredientes utilizados na dieta, a concentração do
12 ácido fítico, o tipo da enzima utilizada e até quantidade de fitase fornecida na dieta (Ravindran
13 et al., 2006).

14 Os ingredientes utilizados na dieta podem afetar a resposta da fitase, principalmente pela
15 sua concentração de ácido fítico. A enzima fitase foi utilizada numa dieta com grãos secos de
16 destilaria com solúveis (DDGS) e apesar de ser observado aumento na biodisponibilidade do
17 fósforo, não houve efeito para a quantidade de energia metabolizável (Martinez-Amezcu et
18 al., 2006).

19 Dessa forma, não ocorreria aumento da energia dependendo do ingrediente da dieta,
20 existindo a afirmação de que a melhora na energia metabolizável e até nos aminoácidos é maior
21 e mais consistente em dietas que tem como ingrediente principal o trigo ao invés do milho
22 (Ravindran et al., 2006).

23 Apesar disso, é possível encontrar resultados positivos em vários trabalhos que utilizaram
24 dietas a base de milho (Cowieson et al., 2006; Amerah et al., 2014; Schramm et al., 2017;
25 Levy-Jimenez et al., 2018), assim como aquelas com trigo e/ou sorgo (Ravindran et al., 2000;
26 Ravindran et al., 2001; Wu et al., 2015)

27 Existem diferentes origens de produção da fitase que podem ser utilizadas, sendo que
28 cada uma é produzida por uma companhia de acordo com um microrganismo específico. Em
29 uma avaliação entre quatro tipos de fitase (A – *Escherichia coli*, B – *Escherichia coli*, C –
30 *Buttiauxella* sp. e D - *Citrobacter braakii*), foi observado que a enzima C teve o melhor
31 resultado em aumentar a digestibilidade da energia, a enzima A obteve uma resposta
32 intermediária, e as enzimas B e D as piores respostas (Levy-Jimenez et al., 2018).

33 Com relação aos níveis utilizados, a utilização de 150 e 300 FTU/kg em dietas de frangos
34 de corte em crescimento foram suficientes para que houvesse uma melhora em torno de 140 a

1 190 kcal/kg na energia metabolizável. Valores acima desses níveis foram utilizados, chegando
2 a até 24.000 FTU/kg, porém sem observar diferenças na energia metabolizável, com
3 incrementos apenas nos minerais analisados (Cowieson et al., 2006).

4 Outro estudo testou quatro níveis de fitase (0, 250, 500 e 2000) e foi observado que a
5 partir de 250 FTU/kg não houve incrementos no teor de energia metabolizável da dieta
6 (Pieniazek et al., 2017). Outra avaliação, testou os níveis de 0, 400 e 800 FTU/kg e observou
7 que os níveis de energia foram maximizados com 400 FTU/kg, aumentando 95 kcal (Ravindran
8 et al., 2000).

9 A inclusão de quatro tipos de fitase nos níveis regulares, em média com 500 FTU/kg, foi
10 possível observar aumento na energia metabolizável de dietas para frangos de corte na fase de
11 crescimento. Porém, a super dosagem, em média com 1.500 FTU/kg, levou ao incremento na
12 energia, ficando em média 160 kcal acima do nível regular (Levy-Jimenez et al., 2018).

13 A utilização da fitase permite um aumento da digestibilidade da energia bruta de 66,2
14 para 73,1 % (Amerah et al., 2014). O incremento observado no nível de energia fica em torno
15 de 65 a 150 kcal (Namkung & Leeson, 1999; Ravindran et al., 2000; Ravindran et al., 2001;
16 Stefanello et al., 2015; Schramm et al., 2017), podendo chegar a valores maiores como 177 kcal
17 (Cowieson et al., 2006) e 199 kcal (Shirley & Edwards, 2003).

18 Com os resultados obtidos no presente estudo, foram elaborados dois artigos intitulados:
19 Artigo 1- Doses crescentes e *superdosing* de fitase em dietas para frangos de corte com redução
20 de fósforo sobre a metabolizabilidade de nutrientes e energia. Artigo 2 - Doses crescentes e
21 *superdosing* de fitase em dietas para frangos de corte com redução de fósforo sobre a
22 digestibilidade ileal de aminoácidos, redigidos conforme as normas da revista Asian-
23 Australasian Journal of Animal Sciences e adaptações às normas de elaboração de dissertações
24 e teses do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal/FAMEZ/UFMS.

Referências

- ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal - Relatório Anual 2020. Disponível em: <
http://www.abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais>. Acesso em: 13
de outubro de 2020.
- ALVARENGA, R.R.; NAGATA, A.K.; RODRIGUES, P.B. et al. Adição de fitase em rações
com diferentes níveis de energia metabolizável, proteína bruta e fósforo disponível para frangos
de corte de 1 a 21 dias. **Ciência Animal Brasileira**. v.12, n.4, p.602-609, 2011.
- AMERAH, A.M.; PLUMSTEAD, P.W.; BARNARD, L.P. et al. Effect of calcium level and
phytase addition on ileal phytate degradation and amino acid digestibility of broilers fed corn-
based diets. **Poultry Science**, v.93, p.906-915, 2014.
doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03465>.
- AUGSPURGER, N.R.; WEBEL, D.M.; LEI, X.G. et al. Efficacy of an E. coli phytase expressed
in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. **Journal Animal
Science**. v.81, p.474-483, 2003.
- BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Editora UFLA, 2006. 301p
- BOHLKE, R.A.; THALER, R.C.; STEIN, H.H. Calcium, phosphorus, and amino acid
digestibility in low-phytate corn, normal corn, and soybean meal by growing pigs. **Journal of
animal Science**. v.83, n.10, p.2396-2403, 2005.
- CAIRES, C.M.; FAGUNDES, N.S.; FERNANDES, E.A. et al. Enzimas na alimentação de
frangos de corte. **Revista Eletrônica Nutritime**. v.5, n.1, p.491-497, 2008.
- CALDERON, V.M.; JENSEN, L.S. The requeriment for sulfur amino acid by laying hens as
influenced by the protein concentration. **Poultry Science**. v.69, n.6, p.934-944, 1990.
- CALDWELL, R. A. Effect of calcium and phytic acid on the activation of trypsinogen and the
stability of trypsin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.40, p.43-46, 1992.
- CHERRY, J.R. & FIDANTSEF, A.L. Directed evolution of industrial enzymes: an update.
Current Opinion in Biotechnology, v.14, p.438-443, 2003.
- CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **Critical Reviews in Food Science
and Nutrition**, v.13, p.297-335, 1980.
- CONTE, J.A. **Valor nutritivo do farelo de arroz integral em rações para frangos de corte,
suplementadas com fitase e xilanase**. Lavras, MG: Universidade Federal de Lavras, 2000.
164p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, 2000.
- COWIESON, A.J.; SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. Uso de fitase e suas implicações na
digestão e absorção de nutrientes. In: CONFERÊNCIA APINCO 2008 DE CIÊNCIA E
TECNOLOGIA AVÍCOLAS. 2008, Santos. **Anais...** Santos, São Paulo: Fundação Apinco de
Ciência e Tecnologia Avícolas, 2008. p.279-290.

- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science**. v.85, n.5, p.878- 85, 2006.
- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Supplementation of corn–soy-based diets with an Eschericia coli-derived phytase: effects on broiler chick performance and the digestibility of amino acids and metabolizability of minerals and energy. **Poultry Science**, v.85, n.8, p.1389-1397, 2006.
- DESHPAND, S.S. & DAMODARAN, S. Effect of phytate on solubility, activity and conformation of trypsin and chymotrypsin. **Journal of Food Science**. v.54, n.3, p.695-699, 1989.
- ENGELN, A.J; HEEFT, F.C. Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal of AOAC International**, v.77, p.760-764, 1994.
- FUKAYAMA, E.H.; SAKOMURA, N.K.; DOURADO, L.R.B. et al. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.37, n.4, p.629-635, 2008.
- HARLAND B.F. MORRIS E.R. Phytate: A good or a bad food component? **Nutrition Research**. v.15, p.733-754, 1995.
- HAYS, V.W. & SWENSON, M.J. Minerais. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 10 ed., Rio de Janeiro: Guanabara. p.397-399, 1988.
- HEMME, A.; SPARK, M.; WOLF, P. et al. Effects of different phosphorus sources in the diet bone composition and stability (breaking strength) in broilers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v.89, p.129-133, 2005.
- HUMER, E.; SCHWARZ, C.; SCHEDULE, K. Phytate in pig and poultry nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.99, n.4, p.605-625, 2015.
- KRISTENSEN, M.B.; HELS, O.; MORBERG, C.M. et al. Total zinc absorption in young women, but not fractional zinc absorption, differs between vegetarian and meat-based diets with equal phytic acid content. **British Journal of Nutrition** v.95, p.963, 2006.
- KUHN, I.M.; SCHOLLENBERGER; MANNER, K. Effect of dietary phytase level on intestinal phytate degradation and bone mineralization in growing pigs. **Journal of Animal Science**. v.94, p.264-267, 2016.
doi: <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9771>
- KUMAR, V.; SINHA, A.K.; MAKAR, H.P.S. et al. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: a review. **Food Chemistry**. v.120, p.945–959, 2010.
- LAURENTIZ, A.C.; JUNQUEIRA, O.M.; CASARTELLI, E.M. et al. Efeito da fitase em dietas com diferentes níveis de fósforo sobre o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, p.89, 2005.
- LAURENTIZ, A.C.; JUNQUEIRA, O.M.; FILARDI, R.S. et al. Desempenho, composição da cama, das tíbias, do fígado e das excretas de frangos de corte alimentados com rações contendo

- fitase e baixos níveis de fósforo. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.38, n.10, p.1938-1947, 2009.
- LEI, X.G.; KU P.K.; MILLER, E.R. et al. Supplemental microbial phytase improves bioavailability of dietary zinc to weanling pigs. **Journal Nutrition**. v.123, p.1117-1123, 1993.
- LEYVA-JIMENEZ, H.; ALSADWI, A.M.; GARDNER, K.; VOLTURA, E.; BAILEY, C. A. Evaluation of high dietary phytase supplementation on performance, bone mineralization, and apparent ileal digestible energy of growing broilers. **Poultry Science**, v.98, n.2, p.811-819, 2018.
- LI, R.; ZHAO, J.; SUN, C.; LU, W. et al. Biochemical properties, molecular characterizations, functions, and application perspectives of phytases. **Frontiers of Agriculture in China**, v.4, n.2, p. 195–209, 2010.
- LIGEIRO, E.C.; JUNQUEIRA, O.M.; FILARDI, R.S. et al. Avaliação da matriz nutricional da enzima fitase em rações contendo sorgo para poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.38, n.10, p.1948-1955, 2009.
- LILLFORD, P.J.; WRIGHT, D.J. Influence of isoelectric precipitation on the solubility of soya bean proteins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.32, p.315-327, 1981.
- MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375p
- MACHOLZ, R. **Phytic acid – Chemistry and applications**. E. Graf. Pilatus Press, Minneapolis, MN, 1986. 310p
- MANANGI, M.K. & COON, C.N. Phytate phosphorus hydrolysis in broilers in response to dietary phytase, calcium, and phosphorus concentrations. **Poultry Science**. v.37, p.1577-1586, 2008.
- MARTINEZ-AMEZCUA, C.; PARSONS, C.M.; BAKER, D.H. Effect of microbial phytase and citric acid on phosphorus bioavailability, apparent metabolizable energy, and amino acid digestibility in distillers dried grains with solubles in chicks. **Poultry Science**, v.85, n.3, p.470-475, 2006.
- MAYNARD, L.A.; LOOSLY, J.K.; HINTZ, H.F. **Nutrição Animal**. 3 ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1984. 736p.
- NAGASHIRO, C. Enzimas na nutrição de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO 2007 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. 2007, Santos. **Anais...** Santos, São Paulo: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2007. p.309-327.
- NAMKUNG, H.; LEESON, S. Effect of phytase enzyme on dietary nitrogen-corrected apparent metabolizable energy and the ileal digestibility of nitrogen and amino acids in broiler chicks. **Poultry Science**, v.78, n.9, p.1317-1319, 1999.
- NRC - National Research Council, Nutrient requirements of poultry, Washington: National Academy Press, 9th revised ed., 1994.

- OH, B.C.; CHOI, W.C.; PARK, S. et al. Biochemical properties and substrate specificities of alkaline and histidine acid phytases. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.63, p.362–372, 2004.
- OLUKOSI, O.A.; KONG, C.; FRU-NJI, F.; AJUWON, K.M.; ADEOLA, O. Assessment of a bacterial 6-phytase in the diets of broiler chickens. **Poultry Science**, v.92, n.8, p.2101-2108, 2013.
- ORYSCHAK, M.A.; SIMMINS, P.H.; ZIJLSTRA, R.T. Effect of dietary particle size and carbohydrase and/or phytase supplementation on nitrogen and phosphorus excretion of grower pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v.82, n.4, p.533-540, 2002.
- PANDEY, A.; SZAKACS, G.; SOCCOL, C.R. et al. Production, purification and properties of microbial phytases. **Bioresource Technology**, v.77, p.203-214, 2001.
- PIENIAZEK, J.; SMITH, K.A.; WILLIAMS, M.P.; MANANGI, M.K.; VAZQUEZ-ANON, M.; SOLBAK, A.; MILLER, M.; LEE, J. T. Evaluation of increasing levels of a microbial phytase in phosphorus deficient broiler diets via live broiler performance, tibia bone ash, apparent metabolizable energy, and amino acid digestibility. **Poultry Science**, v.96, n.2, p.370-382, 2017.
- PILLAI, P.B.; CONNOR-DENNIE, T.O.; OWENS, C.M. et al. Efficacy of an *Escherichia coli* phytase in broilers fed adequate or reduced phosphorus diets and its effect on carcass characteristics. **Poultry Science**, v.85, p.1737-1745, 2006.
- QIAN, H.; VEIT, H.P.; KONERGAY, E.T. et al. Effects of supplemental phytase and phosphorus on histological and other tibial bone characteristics and performances of broilers fed semi-purified diets. **Poultry Science**, v.75, p.618-626, 1996.
- QUIRRENBACH, H.R.; KANUMFRE, F.; ROSSO, N.D. et al. Comportamento do ácido fítico na presença de Fe(II) e Fe(III). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, p.24-32, 2009.
- RAVINDRAN, V. & BRYDEN, W.L. Amino acid availability in poultry—in vitro and in vivo measurements. **Australian Journal Agriculture Research**, v.50, p.889-908, 1999.
- RAVINDRAN, V.; CABAUG, S.; RAVINDRAN, G. et al. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broiler. **Poultry Science**, v.78, p.699-706, 1999.
- RAVINDRAN, V.; CABAUG, S.; RAVINDRAN, G.; SELLE, P.H.; BRYDEN, W.L. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorous levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutrient retention. **British Poultry Science**, v.41, n.2, p.193-200, 2000.
- RAVINDRAN, V.; SELLE, P.H.; RAVINDRAN, G.; MOREL, P.C.H.; KIES, A.K.; BRYDEN, W. L. Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. **Poultry Science**, v.80, n.3, p.338-344, 2001.

- RAVINDRAN, V.; MOREL, P.C.H.; PARTRIDGE, G.G. et al. Influence of an *Escherichia coli*-derived phytase on nutrient utilization in broiler starters fed diets containing varying concentrations of phytic acid. **Poultry Science**. v.85, p.82-89, 2006.
- REMUS, J. A Avicultura e o meio ambiente colhem os benefícios da nova geração de fitases. **Ave World**. n.29. p.56-62, 2007.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 3.ed. Viçosa, MG:UFV, DZO, 2011, 252p.
- RUNHO, R.C.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S. et al. Exigência de Fósforo Disponível para Frangos de Corte Machos e Fêmeas de 1 a 21 Dias de Idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.30, n.1, p.187-196, 2001.
- SANTOS, L.M.; RODRIGUES, P.B.; ALVARENGA, R.R. et al. Níveis de fósforo disponível e cálcio em rações suplementadas com fitase para frangos de corte nas fases de crescimento e final. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 40, n.11, p.2486-2495, 2011.
- SCHOULTEN, N. A.; TEIXEIRA, A. S.; RODRIGUES, P. B. et al. Desempenho de Frangos de Corte alimentados com ração contendo farelo de arroz e enzimas. **Ciência e Agrotecnologia, Lavras**. v. 27, n. 6, p. 1380-1387, 2003.
- SCHRAMM, V.G.; DURAU, J.F.; BARRILLI, L.N.E.; SORBARA, J.O.B.; COWIESON, A.J.; FÉLIX, A.P.; MAIORKA, A. Interaction between xylanase and phytase on the digestibility of corn and a corn/soy diet for broiler chickens. **Poultry Science**, v.96, n.5, p.1204-1211, 2017.
- SELLE, P.H. & RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science Technology**. v.135, p.1-41, 2007.
- SELLE, P.H.; COWIESON, A.J.; COWIESON, N.P. et al. Protein-phytate interactions in pig and poultry nutrition: A reappraisal. *Nutrition Research Reviews*. v.25, p.1-17, 2012.
doi: <https://doi.org/10.1017/S0954422411000151>
- SHIRLEY, R.B.; H. M. EDWARDS, JR. Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. *Poultry Science*, v.82, p.671-680, 2003.
- SILVA, Y.L.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F. et al. Redução de proteína e fósforo em rações com fitase para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade. Desempenho e teores de minerais na cama. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 35, n. 3, p. 840-848, 2006.
- SOMMERFELD, V.; KUNZEL, S.; SCHOLLENBERGER, M. et al. Influence of phytase or myo-inositol supplements on performance and phytate degradation products in the crop, ileum, and blood of broiler chickens. **Poultry Science**. v. 97, n.3, p.920-929, 2018.
doi: <https://doi.org/10.3382/ps/pex390>
- STEFANELLO, C.; VIEIRA, S.L.; SANTIAGO, G.O.; KINDLEIN, L.; SORBARA, J.O.B.; COWIESON, A.J. Starch digestibility, energy utilization, and growth performance of broilers

- 1 fed corn-soybean basal diets supplemented with enzymes. **Poultry Science**, v.94, n.10, p.2472-
2 2479, 2015.
- 3
- 4 THOMPSON, L.U. & YOON, J.H. Starch digestibility as affected by polyphenols and phytic
5 acid. **Journal of Food Science**. v.49, p.1228, 1984.
- 6
- 7 THOMPSON, L.U.; BUTTON, C.L.; JENKINS, D.J. Phytic acid and calcium affect the in vitro
8 rate of navy bean starch digestion and blood glucose response in humans. **The American**
9 **Journal of Clinical Nutrition**, v.46, n.3, p.467-473, 1987.
- 10
- 11 UNDERWOOD, E. J. **The mineral nutrition of livestock**. 2. Ed, London: Commonwealth
12 Agricultural Bureau. p.174, 1981.
- 13
- 14 UNDERWOOD, E.J. & SUTTLE, N.F. **The mineral of livestock**. 3 ed. Wallingford: Cabi,
15 1999. p.105-148.
- 16
- 17 URBANO, G.; LOPEZ-JURADO, M.; ARANDA, P. et al. The role of phytic acid in legumes:
18 antinutrient or beneficial function? **Journal of Physiology and Biochemistry**. v.56, n.3, p.283-
19 294, 2000.
- 20
- 21 VOHARA, A. & SATYANARAYANA, T. Phitases: microbial sources, production,
22 purification, and potential biotechnological applications. **Critical Reviews in Biotechnology**,
23 v.23, n.1, p.29-60, 2003.
- 24
- 25 WALDROUP, P. W. Bioassays remain necessary to estimate phosphorus, calcium
26 bioavailability. **Feedstuffs**. n.4, p.13-23, 1996.
- 27
- 28 WALK, C.L.; OLUKOSI, O.A. Influence of graded concentrations of phytase in high-phytate
29 diets on growth performance, apparent ileal amino acid digestibility, and phytate concentration
30 in broilers from hatch to 28 D post-hatch. **Poultry Science**, v.98, n.9, p.3884-3893, 2019.
- 31
- 32 WODZINSKI, R.J.; ULLAH, A.H.J. Phytase. **Advances in Applied Microbiology**, v.42,
33 p.263-302, 1996.
- 34

Doses crescentes e *superdosing* de fitase em dietas para frangos de corte com redução de fósforo sobre a metabolizabilidade de nutrientes e energia

Resumo: Realizou-se este estudo com o objetivo de avaliar a suplementação de doses crescentes e *superdosing* de fitase em dietas de frangos de corte formuladas com redução dos níveis de fósforo disponível, cálcio e sódio sobre a metabolizabilidade de nutrientes e energia da dieta. Foram utilizados 900 frangos de corte machos, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições de 30 aves cada. Foram consideradas três matrizes nutricionais: Matriz A: 0,165% cálcio (Ca), 0,150% de fósforo disponível (Pd) e 0,035% de sódio (Na); Matriz B: 0,215% Ca, 0,195% Pd e 0,045% Na e Matriz C: 0,245% Ca, 0,225% Pd e 0,053% Na. Os tratamentos foram: Sem Fitase (formulada para atender as exigências nutricionais e sem enzima); Fitase 500+MT A; Fitase 1.000+MT A; Fitase 1.500+MT A; Fitase 1.000+MT B e Fitase 1.500+MT C. A utilização da dieta Fitase 1.500+MT C proporcionou melhora metabolização dos nutrientes, sendo eles: matéria seca, proteína bruta, fósforo e extrato etéreo, além de incremento na energia da dieta quando a fitase foi suplementada a 1.500 FTU/kg, porém quando a enzima foi suplementada em 1.000 FTU/kg associada à matriz A e B, os resultados observados apresentaram melhora ou manutenção dos parâmetros avaliados. Frangos que receberam a dieta 1.500+MT C apresentaram maior metabolizabilidade dos nutrientes avaliados além do aumento da energia em relação à dieta sem fitase, traduzindo em maior aproveitamento dos nutrientes. Doses crescentes de fitase associada a redução de Pd, Ca e Na melhoram a digestibilidade dos nutrientes e energia para frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade. A suplementação de fitase no nível de 1.500 FTU/kg associado à matriz nutricional de 0,225% Pd, 0,245% Ca e 0,053% Na, mostrou-se eficaz, possibilitando considerar matriz nutricional mais robustas além do *superdosing* de fitase no período de 1 a 42 dias.

Palavras-chave: Ácido fítico, enzima, cálcio, sódio

Increasing doses and superdosing of phytase on the metabolizability of nutrients and energy in diets reduced in dicalcium phosphate for broilers

Abstract: This study was carried out with the objective of evaluating the supplementation of increasing doses and superdosing of phytase in broiler diets formulated with reduced levels of available phosphorus, calcium and sodium on the metabolism of nutrients and energy in the diet. A total of 900 male broilers were distributed in a completely randomized design with six treatments and five replications of 30 birds each. Three nutritional matrices were considered: Matrix A: 0.165% calcium (Ca), 0.150% available phosphorus (avP) and 0.035% sodium (Na); Matrix B: 0.215% Ca, 0.195% avP and 0.045% Na and Matrix C: 0.245% Ca, 0.225% avP and 0.053% Na. The treatments were: Without Phytase (formulated to meet nutritional requirements and without enzyme); Phytase 500+MT A; Phytase 1,000+MT A; Phytase 1,500+MT A; Phytase 1,000+MT B and Phytase 1,500+MT C. The use of the Phytase 1,500+MT C diet provided improved metabolization of nutrients, such as: dry matter, crude protein, phosphorus and ether extract, in addition to an increase in diet energy when phytase was supplemented at 1,500 FTU/kg, however when the enzyme was supplemented at 1,000 FTU/kg associated with matrix A and B, the observed results showed improvement or maintenance of the evaluated parameters. Broilers that received the 1,500+MT C diet showed greater metabolizability of the nutrients evaluated in addition to increased energy compared to the diet without phytase, translating into greater use of nutrients. Increasing doses of phytase associated with reduced Pd, Ca and Na improve the digestibility of nutrients and energy for broilers at 21 and 42 days of age. Phytase supplementation at the level of 1,500 FTU/kg associated with a nutritional matrix of 0.225% avP, 0.245% Ca and 0.053% Na, proved to be effective, making it possible to consider more robust nutritional matrix in addition to phytase superdosing in the period from 1 to 42 days.

Keywords: calcium, enzyme, phytic acid, sodium

1 **Introdução**

2
3 A utilização de enzimas exógenas na alimentação de animais não ruminantes vem sendo
4 considerada uma interessante ferramenta para melhorar a utilização dos nutrientes das dietas, e
5 consequentemente, reduzir os custos com a produção, principalmente relacionadas a
6 alimentação das aves, tornando a atividade mais produtiva economicamente.

7 Alimentos como milho e soja, comumente utilizados nas dietas de frangos de corte
8 possuem fitato ou ácido fítico em sua composição, que possuem a capacidade de se ligar a
9 importantes nutrientes, como o fósforo (P) e cálcio (Ca), por exemplo, comprometendo seu
10 aproveitamento e absorção (Selle et al., 2009).

11 Além do fósforo e cálcio, a molécula de ácido fítico possui capacidade de quelatar
12 aminoácidos e até mesmo o amido à sua molécula, e a presença na dieta pode prejudicar a
13 digestibilidade de minerais, lipídeos e proteínas, através da redução da eficácia de enzimas
14 digestivas, tais como lipase, α -amilase e pepsina (Cherry & Fidantsef, 2003; Selle et al., 2009),
15 refletindo em piora na digestibilidade da dieta de frangos de corte.

16 Nesse sentido, a fitase pode realizar a quebra da molécula de ácido fítico, pois é
17 caracterizada como enzima pertencente ao grupo das fosfatases de histidina ácida que
18 hidrolisam o fitato em mio-inositol e fosfato inorgânico, liberando principalmente o fósforo,
19 além de outros minerais, aminoácidos e amido, antes aprisionados na molécula de ácido fítico,
20 tornando-os disponíveis para absorção (Ravindran et al., 2000; Gehring et al., 2013; Bradbury
21 et al., 2016).

22 Levando em consideração os efeitos benéficos proporcionados pela fitase, o
23 *superdosing* vem sendo considerado como alternativa no intuito de fornecer efeitos extra-
24 fosfóricos (Pieniazek et al., 2017). O conceito de *superdosing* consiste na suplementação de
25 fitase em níveis elevados, geralmente acima do comumente utilizado pela indústria (500
26 FTU/kg) com o objetivo de avaliar os possíveis efeitos além da liberação do fósforo, mas
27 também em relação a utilização de todos os outros nutrientes da dieta, visando melhorar o
28 desempenho zootécnico (Gehring et al., 2013; Bradbury et al., 2016).

29 Dessa forma, realizou-se este estudo com o objetivo de avaliar a suplementação de doses
30 crescentes e *superdosing* de fitase em dietas de frangos de corte formuladas com redução dos
31 níveis de fósforo disponível, cálcio e sódio sobre a metabolizabilidade de nutrientes e energia
32 da dieta.

33
34

Material e Métodos

Animais, dietas e arranjo experimental

O experimento foi conduzido no Laboratório Experimental em Ciência Aviária, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul em Campo Grande. Os procedimentos adotados no presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no uso de animais da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, registrado com o número 978/2018.

Foram distribuídos 900 pintainhos de corte machos de um dia de idade, da linhagem Cobb 500 (pesando aproximadamente 45 g em média no alojamento), em delineamento inteiramente casualizado, em seis tratamentos com cinco repetições de 30 aves cada.

As dietas experimentais foram elaboradas para atender as exigências nutricionais para frangos de corte estabelecidas por Rostagno et al. (2011), exceto para Ca, Pd e Na nas dietas. As reduções dos níveis de Ca, Pd e Na seguiram as recomendações de matrizes nutricionais do fabricante da enzima para as inclusões de 500, 1.000 e 1.500 FTU/kg de fitase (Tabela 2).

O período experimental foi dividido em três fases: inicial (1 a 21 dias), crescimento (22 a 33 dias) e final (34 a 42 dias). As dietas experimentais (Tabelas 3, 4 e 5) foram elaboradas à base de milho e farelo de soja, fornecidas à vontade.

Tabela 2 – Matriz nutricional da fitase para formulação das dietas experimentais

Dietas experimentais	Matriz nutricional da Fitase ¹⁾	Nutrientes da dieta abaixo da sem fitase ²⁾ (%)			Dose da Fitase (FTU/kg)
		Fósforo disponível (Pd)	Cálcio (Ca)	Sódio (Na)	
1	-	-	-	-	-
2	A	0,150	0,165	0,035	500
3	A	0,150	0,165	0,035	1.000 (500 <i>on top</i>)
4	A	0,150	0,165	0,035	1.500 (1.000 <i>on top</i>)
5	B	0,195	0,215	0,045	1.000
6	C	0,225	0,245	0,053	1.500

¹⁾Especificação reduzida de nutrientes em relação à dieta sem fitase (1). Na dieta experimental 1 não houve redução de Pd, Ca e Na.

²⁾A redução dos níveis de Pd, Ca e Na dietéticos seguiu a recomendação do fornecedor para (A) 500; (B) 1.000; e (C) 1.500 FTU/kg de fitase.

Tabela 3 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de 1 a 21 dias de idade

Ingredientes (%)	Dietas experimentais ¹					
	Sem Fitase	Fitase 500 + MT A	Fitase 1.000 + MT A	Fitase 1.500 + MT A	Fitase 1.000 + MT B	Fitase 1.500 + MT C
Milho 7,88%	57,31	57,31	57,31	57,31	57,31	57,31
Soja farelo 46%	35,12	35,12	35,12	35,12	35,12	35,12
Óleo de soja	2,47	2,47	2,47	2,47	2,47	2,47
Fosfato bicálcico	1,56	0,75	0,75	0,75	0,51	0,35
Caulim	1,00	1,80	1,79	1,78	2,04	2,18
Calcário	0,95	1,03	1,03	1,03	1,06	1,09
Suplemento min-vit ini ²⁾	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Sal comum	0,38	0,30	0,30	0,30	0,27	0,25
Dl-metionina	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32
L-lisina HCl	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Bicarbonato de sódio	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Xilanase	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Fitase	0,00	0,0075	0,0150	0,0225	0,0150	0,0225
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados						
Energia Metabolizável (Kcal/kg) ³⁾	2.975	2.975	2.975	2.975	2.975	2.975
Proteína Bruta (%)	21,20	21,20	21,20	21,20	21,20	21,20
Fósforo disponível (%)	0,401	0,251	0,251	0,251	0,206	0,176
Cálcio (%)	0,841	0,676	0,676	0,676	0,626	0,596
Sódio (%)	0,210	0,175	0,175	0,175	0,165	0,158
Cloro (%)	0,279	0,226	0,226	0,226	0,211	0,201
Metionina+Cistina (%) ⁴⁾	0,876	0,876	0,876	0,876	0,876	0,876
Metionina (%) ²⁾	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760
Lisina (%) ⁴⁾	1,217	1,217	1,217	1,217	1,217	1,217
Treonina (%) ⁴⁾	0,791	0,791	0,791	0,791	0,791	0,791
Triptofano (%) ⁴⁾	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232
Número de Mogin (mEq/kg)	219,62	219,22	219,22	219,22	219,11	219,02
Fitase (FTU/kg) ⁵⁾	0	500	1000	1500	1000	1500
Xilanase (BXU/kg) ⁶⁾	16.000	16.000	16.000	16.000	16.000	16.000
Valores Analisados						
Fósforo fítico (%)	0,220	0,240	0,240	0,230	0,240	0,260
Fitase (FTU/kg)	0	515	1.128	1.370	1.043	1.345
Xilanase (BXU/kg)	15.850	17.050	18.950	18.350	16.150	17.200

¹⁾ Matriz A (MT A): 0,165% Ca, 0,150% Pd e 0,035% Na; matriz B (MT B): 0,215% Ca, 0,195% Pd e 0,045% Na; matriz C (MT C): 0,245% Ca, 0,225% Pd e 0,053% Na.

²⁾ Níveis por kg de ração do suplemento mineral-vitamínico inicial: 450,75 g metionina; 65,25 g colina; 2.750.000 UI Vitamina A; 500.000 UI Vitamina D3; 4.000 UI Vitamina E; 375 mg Vitamina K3; 300 mg Vitamina B1; 1.125 mg Vitamina B2; 500 mg Vitamina B6; 4.000 mcg Vitamina B12; 8.750 mg Niacina; 2.300 mg Ácido Pantotênico; 100 mg Ácido Fólico; 15 mg Biotina; 7.500 mg Ferro; 2.250 mg Cobre; 15 g Manganês; 15 g Zinco; 250 mg Iodo; 62,5 mg Selênio; 2.500 mg Avilamicina; 10 g Nicarbazina; 3.750 mg Senduramicina.

³⁾ Energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio.

⁴⁾ Aminoácido digestível.

⁵⁾ Níveis de garantia por kg de Fitase: 5000 FTU.

⁶⁾ Níveis de garantia por g de Xilanase: 16000 BXU.

A fitase adicionada às dietas experimentais foi oriunda de *E. coli* produzida em *Thricoderma reesei* (Quantum®Blue), sendo substituída ao ingrediente inerte nas dietas. A dosagem da enzima fitase nas dietas finais foi ajustada de acordo com a análise do produto

puro. Juntamente com a fitase foi adicionada em todas as dietas experimentais a concentração de 16.000 BXU/kg de xilanase (Econase[®] XT), considerando-se uma contribuição de 75 kcal/kg de energia metabolizável para essa enzima. As dietas produzidas e compostas de fitase e xilanase foram analisadas em laboratório para análise de atividade enzimática.

Procedimentos e condições experimentais

Os boxes foram equipados com campânula contendo duas lâmpadas incandescentes de 100 W para o aquecimento dos pintainhos, um comedouro tubular e um bebedouro pendular, e a cama utilizada foi de maravalha. Foram distribuídas campânulas a gás no interior do galpão para proporcionar melhor aquecimento do ambiente na fase inicial de criação.

O programa de luz adotado foi de iluminação contínua (24 L:0 E) durante todo o período experimental. Diariamente, temperatura e umidade foram monitoradas as sete e 17 horas por meio de termômetro digital de máxima e mínima, instalado no interior do galpão na altura do corpo das aves.

O início do ensaio de metabolizabilidade foi realizado a partir do 14º dia de idade das aves, com três dias de adaptação às dietas experimentais e cinco dias de coleta parcial de excretas. Para a determinação da metabolizabilidade dos nutrientes e da energia metabolizável, foi utilizado o indicador dióxido de titânio (TiO₂) na concentração de 1,0% substituído ao inerte das dietas.

Para a coleta de excretas, em cada unidade experimental a cama dos boxes foi revestida totalmente por lona dupla face (150 µm), evitando a entrada de cama e contaminação das amostras. A coleta das excretas foi realizada duas vezes ao dia (8 e 16h), por meio de raspagem, descartando resíduos da ração, penas ou qualquer material contaminante. Em cada horário de coleta as lonas com excretas foram substituídas por lonas limpas e as amostras acondicionadas em sacos plásticos previamente identificados e congeladas.

Ao término do período de coleta de excretas todas as amostras correspondentes de cada unidade experimental foram homogeneizadas e retiradas duas alíquotas ($\pm$ 800 g) para análises. As amostras foram submetidas à pré-secagem em estufa de ventilação forçada (55°C) por 72 horas e, posteriormente processadas em moinho de bola e acondicionadas em sacos plásticos para análises de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fósforo (P) e extrato etéreo (EE) (Silva e Queiroz, 2006). A energia bruta foi determinada pela queima da amostra em bomba calorimétrica.

Tabela 4 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de 22 a 33 dias de idade

Ingredientes (%)	Dietas experimentais ¹⁾					
	Sem Fitase	Fitase 500 + MT A	Fitase 1.000 + MT A	Fitase 1.500 + MT A	Fitase 1.000 + MT B	Fitase 1.500 + MT C
Milho 7,88%	60,37	60,37	60,37	60,37	60,37	60,37
Soja farelo 46%	31,64	31,64	31,64	31,64	31,64	31,64
Óleo de soja	3,34	3,34	3,34	3,34	3,34	3,34
Fosfato bicálcico	1,34	0,53	0,53	0,53	0,29	0,13
Caulim	1,00	1,81	1,80	1,79	2,04	2,18
Calcário	0,89	0,98	0,98	0,98	1,00	1,03
Suplemento min-vit ini ²⁾	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Sal comum	0,39	0,30	0,30	0,30	0,28	0,26
Dl-metionina	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
L-lisina HCl	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Bicarbonato de sódio	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
L-treonina	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Xilanase	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Fitase	0,00	0,0075	0,0150	0,0225	0,0150	0,0225
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados						
Energia Metabolizável (Kcal/kg) ³⁾	3.075	3.075	3.075	3.075	3.075	3.075
Proteína Bruta (%)	19,82	19,82	19,82	19,82	19,82	19,82
Fósforo disponível (%)	0,354	0,204	0,204	0,204	0,159	0,129
Cálcio (%)	0,758	0,593	0,593	0,593	0,543	0,513
Sódio (%)	0,200	0,165	0,165	0,165	0,155	0,148
Cloro (%)	0,284	0,232	0,232	0,232	0,217	0,206
Metionina+Cistina (%) ⁴⁾	0,826	0,826	0,826	0,826	0,826	0,826
Metionina (%) ⁴⁾	0,684	0,684	0,684	0,684	0,684	0,684
Lisina (%) ⁴⁾	1,131	1,131	1,131	1,131	1,131	1,131
Treonina (%) ⁴⁾	0,735	0,735	0,735	0,735	0,735	0,735
Triptofano (%) ⁴⁾	0,214	0,214	0,214	0,214	0,214	0,214
Número de Mogin (mEq/kg)	199,72	199,31	199,31	199,31	199,20	199,12
Fitase (FTU/kg) ⁵⁾	0	500	1000	1500	1000	1500
Xilanase (BXU/kg) ⁶⁾	16.000	16.000	16.000	16.000	16.000	16.000
Valores Analisados						
Fósforo fítico (%)	0,210	0,270	0,260	0,240	0,250	0,270
Fitase (FTU/kg)	0	783	925	1.310	1.090	1.460
Xilanase (BXU/kg)	16.000	16.600	17.400	14.300	15.600	16.200

¹⁾ Matriz A (MT A): 0,165% Ca, 0,150% Pd e 0,035% Na; matriz B (MT B): 0,215% Ca, 0,195% Pd e 0,045% Na; matriz C (MT C): 0,245% Ca, 0,225% Pd e 0,053% Na.

²⁾ Níveis por kg de ração do suplemento mineral-vitamínico inicial: 450,75 g metionina; 65,25 g colina; 2.750.000 UI Vitamina A; 500.000 UI Vitamina D3; 4.000 UI Vitamina E; 375 mg Vitamina K3; 300 mg Vitamina B1; 1.125 mg Vitamina B2; 500 mg Vitamina B6; 4.000 mcg Vitamina B12; 8.750 mg Niacina; 2.300 mg Ácido Pantoténico; 100 mg Ácido Fólico; 15 mg Biotina; 7.500 mg Ferro; 2.250 mg Cobre; 15 g Manganês; 15 g Zinco; 250 mg Iodo; 62,5 mg Selênio; 2500 mg Avilamicina; 10 g Nicarbazina; 3.750 mg Senduramicina.

³⁾ Energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio.

⁴⁾ Aminoácido digestível.

⁵⁾ Níveis de garantia por kg de Fitase: 5000 FTU.

⁶⁾ Níveis de garantia por g de Xilanase: 16000 BXU.

Tabela 5 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de 34 a 42 dias de idade

Ingredientes (%)	Dietas experimentais ¹⁾					
	Sem Fitase	Fitase 500 + MT A	Fitase 1.000 + MT A	Fitase 1.500 + MT A	Fitase 1.000 + MT B	Fitase 1.500 + MT C
Milho 7,88%	64,32	64,32	64,32	64,32	64,32	64,32
Soja farelo 46%	27,86	27,86	27,86	27,86	27,86	27,86
Óleo de soja	3,36	3,36	3,36	3,36	3,36	3,36
Fosfato bicálcico	1,22	0,41	0,41	0,41	0,16	0,00
Caulim	1,00	1,80	1,79	1,78	2,05	2,18
Calcário	0,83	0,92	0,92	0,92	0,94	0,97
Suplemento min-vit fin ²⁾	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Sal comum	0,37	0,29	0,29	0,29	0,26	0,25
DL-metionina	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28
L-lisina HCl	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
Bicarbonato de sódio	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Xilanase	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Fitase	0,00	0,0075	0,0150	0,0225	0,0150	0,0225
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados						
Energia Metabolizável (Kcal/kg) ³⁾	3.125	3.125	3.125	3.125	3.125	3.125
Proteína Bruta (%)	18,40	18,40	18,40	18,40	18,40	18,40
Fósforo disponível (%)	0,325	0,175	0,175	0,175	0,130	0,100
Cálcio (%)	0,697	0,532	0,532	0,532	0,482	0,452
Sódio (%)	0,195	0,160	0,160	0,160	0,150	0,143
Cloro (%)	0,277	0,224	0,224	0,224	0,210	0,199
Metionina+Cistina (%) ⁴⁾	0,774	0,774	0,774	0,774	0,774	0,774
Metionina (%) ⁴⁾	0,649	0,649	0,649	0,649	0,649	0,649
Lisina (%) ⁴⁾	1,060	1,060	1,060	1,060	1,060	1,060
Treonina (%) ⁴⁾	0,689	0,689	0,689	0,689	0,689	0,689
Triptofano (%) ⁴⁾	0,194	0,194	0,194	0,194	0,194	0,194
Número de Mogin (mEq/kg)	184,78	184,38	184,38	184,38	184,26	184,18
Fitase (FTU/kg) ⁵⁾	0	500	1000	1500	1000	1500
Xilanase (BXU/kg) ⁶⁾	16.000	16.000	16.000	16.000	16.000	16.000
Valores Analisados						
Fósforo fítico (%)	0,240	0,260	0,250	0,240	0,230	0,250
Fitase (FTU/kg)	0	482	876	1.400	866	1.415
Xilanase (BXU/kg)	15.600	15.450	16.400	13.400	14.600	16.750

¹⁾ Matriz A (MT A): 0,165% Ca, 0,150% Pd e 0,035% Na; matriz B (MT B): 0,215% Ca, 0,195% Pd e 0,045% Na; matriz C (MT C): 0,245% Ca, 0,225% Pd e 0,053% Na.

²⁾ Níveis por kg de ração do suplemento mineral-vitâmico inicial: 450,75 g metionina; 65,25 g colina; 2.750.000 UI Vitamina A; 500.000 UI Vitamina D3; 4.000 UI Vitamina E; 375 mg Vitamina K3; 300 mg Vitamina B1; 1.125 mg Vitamina B2; 500 mg Vitamina B6; 4.000 mcg Vitamina B12; 8.750 mg Niacina; 2.300 mg Ácido Pantotênico; 100 mg Ácido Fólico; 15 mg Biotina; 7.500 mg Ferro; 2.250 mg Cobre; 15 g Manganês; 15 g Zinco; 250 mg Iodo; 62,5 mg Selênio; 2500 mg Avilamicina; 10 g Nicarbazina; 3.750 mg Senduramicina.

³⁾ Energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio.

⁴⁾ Aminoácido digestível.

⁵⁾ Níveis de garantia por kg de Fitase: 5000 FTU.

⁶⁾ Níveis de garantia por g de Xilanase: 16000 BXU.

Foram determinados os coeficientes de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS), proteína bruta (CMPB), fósforo (CMP) e extrato etéreo (CMEE), valores de energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida para retenção de nitrogênio (EMAN) das dietas. Os cálculos da metabolizabilidade dos nutrientes (método de

coleta parcial de excretas) foram realizados levando em consideração o fator de indigestibilidade do dióxido titânio, usado como indicador de consumo, calculados da seguinte maneira:

Fator de indigestibilidade nas excretas (FI):

$$FI = (TiO_2 \text{ dieta} / (TiO_2 \text{ excreta}))$$

Em que: (TiO_2) = concentração de dióxido de titânio

Coefficiente de metabolizabilidade (CM):

$$CM = [(\% \text{ do nutriente na dieta}) - (\% \text{ do nutriente nas excretas} \times FI) / (\% \text{ do nutriente na dieta})]$$

Em que: FI corresponde ao fator de indigestibilidade nas excretas;

Energia metabolizável aparente (EMA) e aparente corrigida para Balanço de Nitrogênio (EMAn):

$$EMA \text{ (Kcal/kg de matéria seca)} = EB \text{ da dieta} - (EB \text{ da excreta} \times FI \text{ da excreta});$$

$$EMAn \text{ (Kcal/kg de matéria seca)} = EB \text{ da dieta} - [(EB \text{ da excreta} \times FI \text{ excreta}) + 8,22 \times (BN)].$$

Em que: $BN = N \text{ da dieta} - (N \text{ da excreta} \times FI \text{ da excreta})$.

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM do programa SAS, versão University, sendo os boxes considerados a unidade experimental. Em caso de diferença significativa ($P < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados

Coefficientes de metabolizabilidade dos nutrientes

Os coeficientes de metabolizabilidade da matéria seca, proteína bruta, fósforo e extrato etéreo, foram influenciados ($P < 0,05$) com a suplementação de fitase em dietas de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade (Tabelas 6).

A utilização da Fitase 1.500+MT C (redução de 0,225% Pd, 0,245% Ca e 0,053% Na, com 1.500 FTU/kg) proporcionou aumento ($P < 0,05$) de todos os coeficientes de metabolizabilidade aos 21 dias de idade, quando comparado a dieta Sem Fitase. Quando as dietas on top foram utilizadas (Fitase 1.000+MT A; Fitase 1.500+MT A e Fitase 1.000+MT B)

não foram observadas diferenças significativas CMMS, CMPB, CMP e CMEE, quando comparadas entre si. Porém, a dieta Fitase 1.000+MT B apresentou aumento ($P<0,05$) em relação à Fitase 1.000+MT A para o CMMS, CMPB e CMP.

Aos 42 dias de idade efeitos semelhantes foram observados para o CMP quando foram utilizadas as dietas Fitase 1.000+MT B e Fitase 1.500+MT C, apresentando superioridade ($P<0,05$) de aproximadamente de 23 e 26%, respectivamente, em comparação à dieta Sem Fitase. Para os CMMS e CMEE, a dieta Fitase 500 FTU+MT A apresentou piora em relação à dieta Fitase 1.500+MT C. Por sua vez, a suplementação de níveis de fitase de 500, 1.000 e 1.500 FTU/kg, associada a matrizes nutricionais de P, Ca e Na, não apresentou melhora ($P>0,05$) na metabolizabilidade da PB. Porém, os CMMS e CMEE foram influenciados ($P<0,05$) pela adição de fitase, sendo a dieta Fitase 1.500+MT C superior em comparação à Fitase 500+MT A, em ambos os coeficientes de metabolizabilidade.

Energia metabolizável aparente e Energia metabolizável aparente corrigida para a retenção de nitrogênio

A energia metabolizável aparente e energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio, foram influenciadas ($P<0,05$) com a suplementação de fitase em dietas de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade (Tabela 7).

Aos 21 dias de idade, a utilização da dieta Fitase 1.500+MT C (redução de 0,225% Pd, 0,245% Ca e 0,053% Na, com 1.500 FTU/kg fitase) proporcionou aumento considerável ($P<0,05$) na EMA em relação a todas as dietas utilizadas havendo aumento de aproximadamente 7,09% quando a fitase foi suplementada em 1.500+MT C em relação à dieta Sem Fitase. O mesmo resultado foi observado para EMAn quando consideramos a dieta Fitase 1.500+MT C, porém não diferiu ($P>0,05$) da dieta Fitase 1.000+MT B. Quando as dietas on top foram utilizadas (Fitase 1.000+MT A; Fitase 1.500+MT A e Fitase 1.000+MT B) não foi observado aumento ($P>0,05$) da EMA e EMAn, quando comparadas entre si.

Aos 42 dias de idade, a utilização da dieta Fitase 1.000+MT A proporcionou aumento ($P<0,05$) na EMA e EMAn em relação à todas as dietas utilizadas, sendo essa melhora de 11,68 e 10,74%, em relação a dieta Sem Fitase. Houve aumento ($P<0,05$) da EMA e EMAn em todas as dietas quando a fitase foi suplementada, independente da matriz nutricional de Pd, Ca e Na utilizada, em comparação à dieta Sem Fitase.

Discussão

A suplementação da fitase nas dietas proporcionou melhora considerável na digestibilidade dos nutrientes, considerando dietas com redução de minerais (Pd, Ca e Na) fez com que os nutrientes fossem digeridos e assimilados de maneira eficiente. O efeito da enzima sobre a hidrólise da molécula de ácido fítico foi confirmado pela obtenção dos resultados de digestibilidade no presente estudo, resultando em manutenção e aumento dos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes avaliados (MS, PB, P e EE), mesmo quando a matriz nutricional da enzima foi relativamente severa na redução de minerais, como pode ser observado na dieta Fitase 1.500+MT C (redução de 0,225% Pd, 0,245% Ca e 0,053% Na, com 1.500 FTU/kg).

Com a ação efetiva da enzima fitase na quebra do complexo fitato-nutriente, a melhora no aproveitamento dos nutrientes (proteína bruta, fósforo e extrato etéreo) se dá pela melhor metabolizabilidade da matéria seca, uma vez que o aumento da digestibilidade da matéria seca indica maior assimilação e absorção dos nutrientes na dieta (Barbosa et al., 2008), podendo refletir em aumento no desempenho dos frangos de corte.

A partir da melhora da digestibilidade da matéria seca, a suplementação de fitase na dieta proporcionou a liberação de aminoácidos possivelmente aprisionados à molécula de ácido fítico, como a glicina, serina, treonina e prolina (Adeola & Cowieson, 2011; Gehring et al., 2013) lisina, arginina e histidina (Cheryan, 1980), o que pode explicar o aumento da digestibilidade da proteína bruta quando foi testado a inclusão de 1.500 FTU/kg de fitase com a redução de 0,225% Pd, 0,245% Ca e 0,053% Na, em comparação à dieta Sem fitase.

O incremento em 20% no CMPB com a utilização de 1.500 FTU+MT C em relação a dieta Sem Fitase observado aos 21 dias de idade, pode ser devido à quebra da molécula de ácido fítico, que por sua vez aumenta a solubilidade da proteína e até mesmo a atividade enzimática proteolítica (Urbano et al., 2000), principalmente pelo aumento da atividade da pepsina, tripsina e quimotripsina (Macholz, 1986; Caldwell, 1992). O mesmo efeito foi encontrado por Borda-Molina et al. (2019), quando frangos de corte foram alimentados com dietas contendo 1.500 FTU/kg de fitase, resultando na melhora da digestibilidade da proteína bruta quando receberam enzima na dieta, devido ao aumento do aproveitamento tanto dos aminoácidos essenciais quanto os não essenciais.

Segundo Amerah et al. (2014), a suplementação de fitase na fase inicial de frangos de corte no nível de 1.000 FTU/kg, influenciou positivamente na digestibilidade de todos os aminoácidos avaliados, em especial cerca de 10% dos aminoácidos essenciais para frangos de

1 corte recebendo dieta a base de milho e farelo de soja, confirmando o aumento do CMPB
2 encontrado no presente estudo.

3 Por mais que o CMPB não apresentou diferenças significativas aos 42 dias com a
4 suplementação de níveis elevados de fitase, sua utilização promoveu manutenção do CMPB
5 quando a fitase foi adicionada à dieta em associação com as diferentes matrizes nutricionais,
6 não havendo decréscimo da digestibilidade da proteína bruta.

7 O efeito positivo da ação da fitase sobre a absorção e aproveitamento do P pode ser
8 constatado por meio do CMP obtido no presente estudo. Em ambas as idades de avaliação (21
9 e 42 dias de idade) a utilização de fitase na dieta associada a redução de Pd, Ca e Na,
10 proporcionou aumento considerável da digestibilidade e consequente absorção do fósforo pelas
11 aves, podendo ser observado aumento progressivo do coeficiente de digestibilidade do P com
12 o aumento da inclusão de fitase nas dietas até o nível máximo de 1.500 FTU/kg, refletindo na
13 melhora do aproveitamento de nutrientes da dieta com a suplementação da enzima na dieta.
14 Quando a fitase foi adicionada no nível de 1.500+MT C houve melhora de aproximadamente
15 37% no coeficiente de metabolizabilidade do fósforo, confirmando a eficiência da enzima na
16 quebra de moléculas de fitato. A melhora na metabolizabilidade do fósforo é ocasionada pela
17 quebra das ligações fosfoéster da molécula de fitato, principalmente no terço superior do trato
18 gastrintestinal em meio ácido, tornando o fósforo fítico disponível para ser absorvido pelas aves
19 (Augspurger et al., 2003).

20 Resultados positivos foram encontrados por Amerah et al. (2014) quando a fitase foi
21 suplementada com 1.000 FTU/kg em dietas para frangos de corte na fase inicial, onde houve
22 incremento de aproximadamente 23,4% na digestibilidade de P. Resultado semelhante foi
23 encontrado por Lelis et al. (2010) ao adicionarem 500 FTU/kg, observando aumento de 22,76%
24 no aproveitamento de P em comparação à dieta que não continha adição de fitase, confirmando
25 a efetividade da hidrólise da molécula de fitato para posterior absorção pelas aves em seus
26 processos metabólicos.

27 O fosfato bicálcico utilizado na dieta de frangos de corte é um recurso não renovável, o
28 que dificulta sua obtenção e, conseqüentemente, apresenta alto custo de aquisição. Com base
29 nisso, é possível notar que a substituição parcial ou total do fosfato bicálcico nas dietas por
30 meio da suplementação de fitase pode reduzir custos com alimentação dos frangos, além de
31 reduzir o impacto ambiental das excretas de frango, por reduzir a excreção de nitrogênio,
32 fósforo e outros minerais (Powel et al., 2008).

33 O CMEE aos 21 dias de idade apresentou efeitos semelhantes aos dos CMMS, CMPB
34 e CMP. No presente estudo a inclusão de fitase na dieta otimizou a digestibilidade do extrato

etéreo na fase inicial, em relação à dieta Sem Fitase. A melhora na utilização da gordura se deve pela possível hidrólise de complexos fitato-lipídeos, denominados lipofitinas, levando ao aumento da digestibilidade da gordura das dietas (Vohra & Satyanarayana, 2002).

Ao mesmo tempo que houve diminuição das perdas seguido do maior aproveitamento dos nutrientes (matéria seca, proteína bruta, fósforo e extrato etéreo), foi possível observar aumento significativo da EMA e EMAn quando a dieta Fitase 1,500+MT C foi utilizada em comparação às dietas Sem Fitase e Fitase 500+MT A. Essa melhora na utilização da energia pelas aves possivelmente ocorreu devido ao aumento da digestibilidade de aminoácidos, lipídeos e amido da dieta (Humer et al., 2015), disponibilizando maior quantidade de nutrientes para serem digeridos e posteriormente absorvidos, visto que a fitase tem a capacidade de liberar o amido aprisionado à molécula de ácido fítico ou até mesmo não interferir na atividade da α -amilase, aumentando por exemplo a energia disponível da dieta para utilização pelas aves (Thompson et al., 1987).

Efeitos semelhantes encontrados neste estudo foram observados por Amerah et al. 2014, quando frangos de corte foram alimentados com dietas contendo fitase, onde o nível de fitase de 1.000 FTU/kg na dieta proporcionou aumento de 9,44% da energia aos 21 dias de idade. Da mesma forma, Levya-Jimenez et al. (2018) observaram efeito positivo na digestibilidade e aproveitamento da energia em 17% quando a dieta foi suplementada com doses elevadas de fitase, indicando otimização dos nutrientes da dieta.

Utilizando fitase no nível de 1.500 FTU/kg associada a matriz nutricional com redução de 0,225% Pd, 0,245% Ca e 0,053% Na, Freitas et al. (2019) observaram melhora nas características de desempenho, onde possivelmente o incremento e manutenção do desempenho dos frangos foi devido ao aumento da digestibilidade dos nutrientes observados nesse estudo, confirmando a efetividade da enzima fitase em liberar os nutrientes aprisionados à molécula de fitato para a absorção e aproveitamento pelas aves.

Tabela 6 - Coeficientes de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS), proteína bruta (CMPB), fósforo (CMP) e extrato etéreo (CMEE) em dietas de frangos de corte contendo fitase aos 21 e 42 dias de idade

Coeficientes de Metabolizabilidade, %	Dietas Experimentais						P-Value	CV (%)
	Sem Fitase	Fitase 500+MT	Fitase 1.000+MT	Fitase 1.500+MT	Fitase 1.000+MT	Fitase 1.500+MT		
	A	A	A	B	C			
21 dias de idade								
CMMS	62,99b	67,38ab	64,25b	67,96ab	71,79a	71,04a	0,001	4,80
CMPB	53,42bc	56,31abc	51,25c	59,38abc	63,20ab	66,03a	0,003	9,75
CMP	46,75c	49,87bc	52,14b	55,44ab	57,28a	59,49a	0,025	5,68
CMEE	81,98b	83,29ab	84,07ab	83,89ab	85,41ab	86,53a	0,045	2,67
42 dias de idade								
CMMS	64,41a	59,37c	60,30bc	62,22abc	63,50ab	64,29a	0,0003	2,81
CMPB	44,52	43,48	42,34	48,40	49,47	50,01	0,094	10,89
CMP	44,11c	47,94bc	49,99b	51,01ab	54,40a	55,81a	0,042	4,10
CMEE	82,42ab	78,70b	82,19ab	78,48b	85,99a	84,91a	0,0015	3,56

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 7 - Valores de Energia Metabolizável Aparente (EMA) e Energia Metabolizável Aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) em dietas contendo fitase aos 21 e 42 dias de idade

Variáveis*	Dietas Experimentais						Valor P	CV (%)
	Sem Fitase	Fitase 500+MT	Fitase 1.,000+MT	Fitase 1.500+MT	Fitase 1.000+MT	Fitase 1.500+MT		
		A	A	A	B	C		
21 dias de idade								
EMA	3005,71c	3053,59bc	3046,57bc	3061,37bc	3127,19b	3234,93a	<0,0001	1,60
EMAn	2821,69c	2884,75bc	2882,51bc	2881,46bc	2935,09ab	3016,21a	<0,0001	1,60
42 dias de idade								
EMA	3048,57c	3323,30b	3451,72a	3288,98b	3341,97b	3349,03b	<0,0001	1,13
EMAn	2925,05c	3158,15b	3276,90a	3119,00b	3171,00b	3176,92b	<0,0001	1,07

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Conclusões

Doses crescentes de fitase associada a redução de Pd, Ca e Na melhoram a digestibilidade dos nutrientes e energia para frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade. As suplementações de fitase nos níveis de 1.000 e 1.500 FTU/kg associado às matrizes nutricionais de 0,215% Ca, 0,195% Pd e 0,045% Na; e 0,225% Pd, 0,245% Ca e 0,053% Na, respectivamente, mostraram-se eficazes no aproveitamento dos nutrientes e energia, possibilitando considerar matrizes nutricionais mais robustas além do superdosing de fitase no período de 1 a 42 dias.

Referências

ADEOLA, O.; COWIESON, A.J. Board-Invited Review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non-ruminant animal production. **Journal of Animal Science**. v.89, p.3189-218, 2011.

AMERAH, A.M.; PLUMSTEAD, P.W.; BARNARD, L.P. et al. Effect of calcium level and phytase addition on ileal phytate degradation and amino acid digestibility of broilers fed corn-based diets. **Poultry Science**, v.93, p.906-915, 2014.
doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03465>.

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

BARBOSA, N.A.A.; SAKOMURA, N.K.; FERNANDES, J.B.K. et al. Enzimas exógenas nno desempenho e na digestibilidade ileal de nutrientes em frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.43, p.755-762, 2008.

BORDA-MOLINA, D.; ZUBER, T.; SIEGERT, W. et al. Effects of protease and phytase supplements on small intestinal microbiota and amino acid digestibility in broiler chickens. **Poultry Science**. v.98, p.2906-18, 2019.

BRADBURY, E.J.; WILKINSON, S.J.; CRONIN, G.M.; WALK, C.L.; COWIESON, A.J. Effects of phytase, calcium source, calcium concentration and particle size on broiler performance, nutrient digestibility and skeletal integrity. *Animal Production Science*, v.58, p.271-283, 2016.

CALDWELL, R. A. Effect of calcium and phytic acid on the activation of trypsinogen and the stability of trypsin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.40, p.43-46, 1992.

CHERRY, J.R. & FIDANTSEF, A.L. Directed evolution of industrial enzymes: an update. *Current Opinion in Biotechnology*, v.14, p.438–443, 2003.

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

FREITAS, H.B.; NASCIMENTO, K.M.R.S.; KIEFER, C. et al. Graded levels of phytase on performance, bone mineralization and carcass traits of broiler fed reduced dicalcium phosphate. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. v.32, p.691-700, 2019.

GEHRING, C.K.; BEDFORD, M.R.; DOZIER, W.A. Extra-phosphoric effects of phytase with and without xylanase in corn-soybean meal-based diets fed to broilers. *Poultry Science*. v.92, p.979-991, 2013.

HUMER, E.; SCHWARZ, C.; SCHEDLE, K. Phytate in pig and poultry nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.99, n.4, p.605-625, 2015.

LELIS, G.R.; ALBINO, L.F.T.; SILVA, C.R. et al. Suplementação dietética de fitase sobre o metabolismo de nutrientes de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.39, p.1768-1773, 2010.

LEYVA-JIMENEZ, H.; ALSADWI, A.M.; GARDNER, K.; VOLTURA, E.; BAILEY, C. A. Evaluation of high dietary phytase supplementation on performance, bone mineralization, and apparent ileal digestible energy of growing broilers. **Poultry Science**, v.98, n.2, p.811-819, 2019.

MACHOLZ, R. **Phytic acid – Chemistry and applications**. E. Graf. Pilatus Press, Minneapolis, MN, 1986. 310p

PIENIAZEK, J.; SMITH, K.A.; WILLIAMS, M.P. et al. Evaluation of increasing levels of a microbial phytase in phosphorus deficient broiler diets via live broiler performance, tibia bone ash, apparent metabolizable energy, and amino acid digestibility. *Poultry Science*. v.96, p.370-382, 2017.

doi: <https://doi.org/10.3382/ps/pew225>

- 1 POWEL, S.; JOHNSTON, S.; GASTON, L. et al. The effect of dietary phosphorus level and
2 phytase supplementation on growth performance, bone-breaking strength, and litter phosphorus
3 concentration in broilers. **Poultry Science**. v.87, p:949-57, 2008.
- 4
- 5 RAVINDRAN, V.; CABAUGH, S.; RAVINDRAN, G. et al. Response of broiler chickens to
6 microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate
7 phosphorous levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and
8 nutrient retention. **British Poultry Science**. v.41, p.193-200, 2000.
- 9
- 10 ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. Tabelas brasileiras para aves e
11 suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 3.ed. Viçosa, MG:UFV, DZO,
12 2011, 252p.
- 13
- 14 SILVA, D.J. & QUEIROZ, A.C. Análises de alimentos (Métodos químicos e biológicos). 3.ed.
15 Viçosa, MG: UFV, 2006. 235p
- 16
- 17 SELLE, P.H.; COWIESON, A.J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions
18 with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**. v.124, p.126-141, 2009.
- 19
- 20 SHIRLEY, R.B.; EDWARDS, H.M. Graded levels of phytase past industry standards improves
21 broiler performance. **Poultry Science**. v.82, p.671-676, 2003.
- 22
- 23 THOMPSON, L.U.; BUTTON, C.L.; JENKINS, D.J. Phytic acid and calcium affect the in vitro
24 rate of navy bean starch digestion and blood glucose response in humans. **The American**
25 **Journal of Clinical Nutrition**, v.46, n.3, p.467-473, 1987.
- 26
- 27 URBANO, G.; LOPES-JURADO, M.; ARANDA, P. et al. The role of phytic acid in legumes:
28 antinutrient or beneficial function? **Journal of Physiology and Biochemistry**. v.56, p.283-294,
29 2000.
- 30
- 31 VOHRA, A.; SATYANARAYANA, T. Purification and characterisation of a thermostable and
32 acid-stable phytase from *Pichia anomala*. **World Journal of Microbiology and**
33 **Biotechnology**. v.18, p.687-691, 2002.
- 34

Doses crescentes e *superdosing* de fitase em dietas para frangos de corte com redução de fósforo sobre a digestibilidade ileal de aminoácidos

Resumo: Realizou-se este estudo com o objetivo de avaliar a suplementação de doses crescentes e *superdosing* de fitase em dietas de frangos de corte formuladas com redução dos níveis de fósforo disponível, cálcio e sódio sobre a digestibilidade de aminoácidos essenciais e não essenciais. Foram utilizados 900 frangos de corte machos, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições de 30 aves cada. Foram consideradas três matrizes nutricionais: Matriz A: 0,165% cálcio (Ca), 0,150% de fósforo disponível (Pd) e 0,035% de sódio (Na); Matriz B: 0,215% Ca, 0,195% Pd e 0,045% Na e Matriz C: 0,245% Ca, 0,225% Pd e 0,053% Na, sendo as dietas definidas em: Sem Fitase (formulada para atender as exigências nutricionais e sem enzima); Fitase 500+MT A; Fitase 1.000+MT A; Fitase 1.500+MT A; Fitase 1.000+MT B e Fitase 1.500+MT C. A utilização da dieta Fitase 1.500+MT C proporcionou melhora da digestibilidade de aminoácidos essenciais e não essenciais, tanto aos 21 dias de idade quanto aos 42 dias. Porém quando a enzima foi suplementada em 1.000 FTU/kg associada à matriz A e B (on top), a digestibilidade dos aminoácidos avaliados apresentaram tanto melhora quanto manutenção quando comparado a não utilização de fitase na dieta, confirmando a efetividade da enzima na hidrólise da molécula de ácido fítico. Sendo assim, a suplementação de fitase com as dietas Fitase 1.000+MT A e Fitase 1.000+MT B proporcionaram maior digestibilidade de aminoácidos essenciais e não essenciais aos 21 e 42 dias de idade, traduzindo em maior aproveitamento pelas aves.

Palavras-chave: Ácido fítico, enzima, matriz nutricional, sódio

Increasing doses and superdosing of phytase in diets for broilers with reduced phosphorus on the ileal digestibility of amino acids

Abstract: This study was carried out with the objective of evaluating the supplementation of increasing doses and superdosing of phytase in diets of broilers formulated with reduced levels of available phosphorus, calcium and sodium on the digestibility of essential and non-essential amino acids. A total of 900 male broilers were distributed in a completely randomized design with six treatments and five replications of 30 birds each. Three nutritional matrices were evaluated: Matrix A: 0.165% calcium (Ca), 0.150% available phosphorus (avP) and 0.035% sodium (Na); Matrix B: 0.215% Ca, 0.195% avP and 0.045% Na and Matrix C: 0.245% Ca, 0.225% avP and 0.053% Na, the diets being defined as: Without Phytase (formulated to meet nutritional requirements and without enzyme); Phytase 500+MT A; Phytase 1,000+MT A; Phytase 1,500+MT A; Phytase 1,000+MT B and Phytase 1,500+MT C. The use of the Phytase 1,500+MT C diet provided an improvement in the digestibility of essential and non-essential amino acids, both at 21 days of age and at 42 days. However, when the enzyme was supplemented at 1,000 FTU/kg associated with matrix A and B (on top), the digestibility of the evaluated amino acids improved maintenance when compared to not using phytase in the diet, confirming the effectiveness of the enzyme in the hydrolysis of the phytic acid molecule. Therefore, supplementation of phytase with the diets Phytase 1,000+MT A and Phytase 1,000+MT B provided greater digestibility of essential and non-essential amino acids at 21 and 42 days of age, translating into greater use by birds.

Keywords: enzyme, nutritional matrix, phytic acid, sodium

Introdução

A suplementação de enzima fitase em dietas de não ruminantes tem como objetivo principal a liberação do fósforo fítico aprisionado na molécula de ácido fítico nos ingredientes de origem vegetal. Considera-se que na presença de íons de fitato carregados negativamente, haverá a formação de complexos com as moléculas de proteína que atrapalham a digestibilidade de aminoácidos (Csonka et al., 1926; Sommerfeld et al., 2018).

A interação entre ácido fítico e proteína ocasiona mudanças no trato gastrointestinal, como o aumento na secreção do ácido clorídrico e pepsina o que leva a possíveis perdas de aminoácidos endógenos do intestino. Além disso, a intensidade dos efeitos negativos do ácido fítico ainda irá depender de fatores como, pH, concentração de cálcio, zinco, cobre e do próprio fitato na dieta (Selle et al., 2012).

Acredita-se que a suplementação fitase nas dietas de frangos de corte é capaz de eliminar alguns fatores antinutricionais da molécula do ácido fítico associados com proteínas e aminoácidos da dieta (Zouaoui et al., 2018) que podem atrapalhar o aproveitamento desses nutrientes.

A possível melhora na digestibilidade dos aminoácidos pela suplementação de fitase está associada com a intensidade da presença e hidrólise do fitato no trato gastrointestinal (Cowieson et al., 2017) pois, além de ter efeito na degradação dos complexos fitato-proteína, pode ainda ocasionar mudança nos isômeros de inositol resultando em maior liberação e absorção de aminoácidos para frangos de corte (Sommerfeld et al., 2018).

No entanto, não está claro exatamente como a fitase melhora a digestibilidade dos aminoácidos no intestino do animal, sendo que os mecanismos propostos ainda não são estudados em grande escala, além das diferentes fitases e dosagens utilizadas industrialmente.

Dessa forma, realizou-se este estudo com o objetivo de avaliar a suplementação de doses crescentes e *superdosing* de fitase em dietas de frangos de corte formuladas com redução dos níveis de fósforo disponível, cálcio e sódio sobre a digestibilidade de aminoácidos essenciais e não essenciais aos 21 e 42 dias de idade.

Material e Métodos

Animais, dietas e arranjo experimental

O experimento foi conduzido no Laboratório Experimental em Ciência Aviária, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul em Campo Grande. Os procedimentos adotados no presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no uso de animais da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, registrado com o número 978/2018.

Foram distribuídos 900 pintainhos de corte machos de um dia de idade, da linhagem Cobb 500 (pesando aproximadamente 45 g em média no alojamento), em delineamento inteiramente casualizado, em seis tratamentos com cinco repetições de 30 aves cada.

As dietas experimentais foram elaboradas para atender as exigências nutricionais para frangos de corte estabelecidas por Rostagno et al. (2011), exceto para Ca, Pd e Na nas dietas. As reduções dos níveis dos minerais supracitados seguiram as recomendações de matrizes nutricionais do fabricante da enzima para as inclusões de 500, 1.000 e 1.500FTU/kg de fitase (Tabela 8).

As dietas experimentais (Tabelas 9 e 10) foram elaboradas à base de milho e farelo de soja.

Tabela 8 - Matriz nutricional da fitase para formulação das dietas experimentais

Dietas experimentais	Matriz nutricional da Fitase ¹⁾	Nutrientes da dieta abaixo da sem fitase ²⁾ (%)			Dose da Fitase (FTU/kg)
		Fósforo disponível (Pd)	Cálcio (Ca)	Sódio (Na)	
1	-	-	-	-	-
2	A	0,150	0,165	0,035	500
3	A	0,150	0,165	0,035	1.000
4	A	0,150	0,165	0,035	(500 on top) 1.500
5	B	0,195	0,215	0,045	(1.000 on top) 1.000
6	C	0,225	0,245	0,053	1.500

¹⁾Especificação reduzida de nutrientes em relação à dieta sem fitase (1). Na dieta experimental 1 não houve redução de Pd, Ca e Na.

²⁾A redução dos níveis de Pd, Ca e Na dietéticos seguiu a recomendação do fornecedor para (A) 500; (B) 1.000; e (C) 1.500 FTU/kg de fitase.

Tabela 9 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de 1 a 21 dias de idade

Ingredientes (%)	Dietas experimentais ¹					
	Sem Fitase	Fitase 500 + MT A	Fitase 1.000 + MT A	Fitase 1.500 + MT A	Fitase 1.000 + MT B	Fitase 1.500 + MT C
Milho 7,88%	57,31	57,31	57,31	57,31	57,31	57,31
Soja farelo 46%	35,12	35,12	35,12	35,12	35,12	35,12
Óleo de soja	2,47	2,47	2,47	2,47	2,47	2,47
Fosfato bicálcico	1,56	0,75	0,75	0,75	0,51	0,35
Caulim	1,00	1,80	1,79	1,78	2,04	2,18
Calcário	0,95	1,03	1,03	1,03	1,06	1,09
Suplemento min-vit ini ²	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Sal comum	0,38	0,30	0,30	0,30	0,27	0,25
Dl-metionina	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32
L-lisina HCl	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Bicarbonato de sódio	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Xilanase	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Fitase	0,00	0,0075	0,0150	0,0225	0,0150	0,0225
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados						
Energia Metabolizável (Kcal/kg) ³	2.975	2.975	2.975	2.975	2.975	2.975
Proteína Bruta (%)	21,20	21,20	21,20	21,20	21,20	21,20
Fósforo disponível (%)	0,401	0,251	0,251	0,251	0,206	0,176
Cálcio (%)	0,841	0,676	0,676	0,676	0,626	0,596
Sódio (%)	0,210	0,175	0,175	0,175	0,165	0,158
Cloro (%)	0,279	0,226	0,226	0,226	0,211	0,201
Metionina+Cistina (%) ⁴	0,876	0,876	0,876	0,876	0,876	0,876
Metionina (%) ²	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760
Lisina (%) ⁴	1,217	1,217	1,217	1,217	1,217	1,217
Treonina (%) ⁴	0,791	0,791	0,791	0,791	0,791	0,791
Triptofano (%) ⁴	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232
Número de Mogin (mEq/kg)	219,62	219,22	219,22	219,22	219,11	219,02
Fitase (FTU/kg) ⁵	0	500	1000	1500	1000	1500
Xilanase (BXU/kg) ⁶	16.000	16.000	16.000	16.000	16.000	16.000
Valores Analisados						
Fósforo fítico (%)	0,220	0,240	0,240	0,230	0,240	0,260
Fitase (FTU/kg)	0	515	1.128	1.370	1.043	1.345
Xilanase (BXU/kg)	15.850	17.050	18.950	18.350	16.150	17.200

¹ Matriz A (MT A): 0,165% Ca, 0,150% Pd e 0,035% Na; matriz B (MT B): 0,215% Ca, 0,195% Pd e 0,045% Na; matriz C (MT C): 0,245% Ca, 0,225% Pd e 0,053% Na.

² Níveis por kg de ração do suplemento mineral-vitamínico inicial: 450,75 g metionina; 65,25 g colina; 2.750.000 UI Vitamina A; 500.000 UI Vitamina D3; 4.000 UI Vitamina E; 375 mg Vitamina K3; 300 mg Vitamina B1; 1.125 mg Vitamina B2; 500 mg Vitamina B6; 4.000 mcg Vitamina B12; 8.750 mg Niacina; 2.300 mg Ácido Pantotênico; 100 mg Ácido Fólico; 15 mg Biotina; 7.500 mg Ferro; 2.250 mg Cobre; 15 g Manganês; 15 g Zinco; 250 mg Iodo; 62,5 mg Selênio; 2.500 mg Avilamicina; 10 g Nicarbazina; 3.750 mg Senduramicina.

³ Energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio.

⁴ Aminoácido digestível.

⁵ Níveis de garantia por kg de Fitase: 5000 FTU.

⁶ Níveis de garantia por g de Xilanase: 16000 BXU.

Tabela 10 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais para frangos de corte na fase de 34 a 42 dias de idade

Ingredientes (%)	Dietas experimentais ¹⁾					
	Sem Fitase	Fitase 500 + MT A	Fitase 1.000 + MT A	Fitase 1.500 + MT A	Fitase 1.000 + MT B	Fitase 1.500 + MT C
Milho 7,88%	64,32	64,32	64,32	64,32	64,32	64,32
Soja farelo 46%	27,86	27,86	27,86	27,86	27,86	27,86
Óleo de soja	3,36	3,36	3,36	3,36	3,36	3,36
Fosfato bicálcico	1,22	0,41	0,41	0,41	0,16	0,00
Caulim	1,00	1,80	1,79	1,78	2,05	2,18
Calcário	0,83	0,92	0,92	0,92	0,94	0,97
Suplemento min-vit fin ²⁾	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Sal comum	0,37	0,29	0,29	0,29	0,26	0,25
Dl-metionina	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28
L-lisina HCl	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
Bicarbonato de sódio	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
L-treonina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Xilanase	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Fitase	0,00	0,0075	0,0150	0,0225	0,0150	0,0225
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados						
Energia Metabolizável (Kcal/kg) ³⁾	3.125	3.125	3.125	3.125	3.125	3.125
Proteína Bruta (%)	18,40	18,40	18,40	18,40	18,40	18,40
Fósforo disponível (%)	0,325	0,175	0,175	0,175	0,130	0,100
Cálcio (%)	0,697	0,532	0,532	0,532	0,482	0,452
Sódio (%)	0,195	0,160	0,160	0,160	0,150	0,143
Cloro (%)	0,277	0,224	0,224	0,224	0,210	0,199
Metionina+Cistina (%) ⁴⁾	0,774	0,774	0,774	0,774	0,774	0,774
Metionina (%) ⁴⁾	0,649	0,649	0,649	0,649	0,649	0,649
Lisina (%) ⁴⁾	1,060	1,060	1,060	1,060	1,060	1,060
Treonina (%) ⁴⁾	0,689	0,689	0,689	0,689	0,689	0,689
Triptofano (%) ⁴⁾	0,194	0,194	0,194	0,194	0,194	0,194
Número de Mogin (mEq/kg)	184,78	184,38	184,38	184,38	184,26	184,18
Fitase (FTU/kg) ⁵⁾	0	500	1000	1500	1000	1500
Xilanase (BXU/kg) ⁶⁾	16.000	16.000	16.000	16.000	16.000	16.000
Valores Analisados						
Fósforo fítico (%)	0,240	0,260	0,250	0,240	0,230	0,250
Fitase (FTU/kg)	0	482	876	1.400	866	1.415
Xilanase (BXU/kg)	15.600	15.450	16.400	13.400	14.600	16.750

¹⁾ Matriz A (MT A): 0,165% Ca, 0,150% Pd e 0,035% Na; matriz B (MT B): 0,215% Ca, 0,195% Pd e 0,045% Na; matriz C (MT C): 0,245% Ca, 0,225% Pd e 0,053% Na.

²⁾ Níveis por kg de ração do suplemento mineral-vitamínico inicial: 450,75 g metionina; 65,25 g colina; 2.750.000 UI Vitamina A; 500.000 UI Vitamina D3; 4.000 UI Vitamina E; 375 mg Vitamina K3; 300 mg Vitamina B1; 1.125 mg Vitamina B2; 500 mg Vitamina B6; 4.000 mcg Vitamina B12; 8.750 mg Niacina; 2.300 mg Ácido Pantoténico; 100 mg Ácido Fólico; 15 mg Biotina; 7.500 mg Ferro; 2.250 mg Cobre; 15 g Manganês; 15 g Zinco; 250 mg Iodo; 62,5 mg Selênio; 2500 mg Avilamicina; 10 g Nicarbazina; 3.750 mg Senduramicina.

³⁾ Energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio.

⁴⁾ Aminoácido digestível.

⁵⁾ Níveis de garantia por kg de Fitase: 5000 FTU.

⁶⁾ Níveis de garantia por g de Xilanase: 16000 BXU.

A fitase adicionada às dietas experimentais foi oriunda de *E. coli* produzida em *Thricoderma reesei* (Quantum®Blue, AB Vista), sendo substituída ao ingrediente inerte nas dietas. Juntamente com a fitase foi adicionada em todas as dietas experimentais a concentração

de 16.000 BXU/kg de xilanase (Econase[®] XT, AB Vista), considerando-se uma contribuição de 75 kcal/kg de energia metabolizável para essa enzima. As dietas produzidas e compostas de fitase e xilanase foram analisadas em laboratório para análise de atividade enzimática.

Procedimentos e condições experimentais

Os boxes foram equipados com campânula contendo duas lâmpadas incandescentes de 100 W para o aquecimento dos pintainhos, um comedouro tubular e um bebedouro pendular, e a cama utilizada foi de maravalha. Além disso, foram distribuídas campânulas a gás no interior do galpão para proporcionar melhor aquecimento do ambiente na fase inicial de criação.

O programa de luz adotado foi de iluminação contínua (24 L:0 E) durante todo o período experimental. Diariamente, temperatura e umidade foram monitoradas às 07 e 17 horas por meio de termômetro digital de máxima e mínima, instalado no interior de um box na altura do corpo das aves.

Foram realizados 2 ensaios de digestibilidade, aos 21 e 42 dias de idade. Os ensaios foram iniciados no 18º e 39º dias de idade das aves, sendo três dias de adaptação às dietas experimentais e um dia de coleta de digesta ileal. Foi adicionado às dietas o indicador dióxido de titânio (TiO₂) na concentração de 1,0%.

As coletas da digesta ileal foram realizadas no 21º e 42º dias do período experimental e constantemente, as aves foram estimuladas ao consumo, para evitar esvaziamento do trato digestivo. No 21º dia, 10 aves e no 42º dia, cinco aves de cada unidade experimental foram insensibilizadas por deslocamento cervical e abatidas por exsanguinação, em seguida procedeu-se a abertura da cavidade abdominal para retirada de todo o intestino. O íleo foi seccionado, considerando o segmento compreendido do divertículo de Meckel até a junção íleo-ceco-cólica. A digesta do íleo foi colhida pela pressão dos dedos indicador e polegar sobre o segmento. As amostras obtidas foram mantidas em ultrafreezer (Temperatura de – 80 °C) e posteriormente foram liofilizadas para quantificação de aminoácidos.

A quantificação dos aminoácidos para obtenção do coeficiente de digestibilidade foi determinada através de cromatografia de troca iônica (IEC), onde as amostras da digesta ileal foram oxidadas com solução de peróxido de hidrogênio / ácido fórmico / fenol. Posteriormente, a amostra oxidada foi hidrolisada com ácido clorídrico 6 M durante 24 horas a 110 °C, em pH de 2,20 e os aminoácidos foram separados por cromatografia de troca iônica (instrumento Biochrom) e determinados por reação pós-coluna com o reagente ninidrina usando detecção fotométrica a 570 nm (440 nm para prolina).

Foram determinadas as digestibilidades aos 21 e 42 dias de idade dos aminoácidos essenciais: metionina, lisina, treonina, valina, isoleucina, leucina, arginina, triptofano e fenilalanina, e dos

aminoácidos não essenciais: alanina, ácido aspártico, cistina, glutamina, glicina, histidina, prolina, serina e tirosina, por meio da equação:

Fator de indigestibilidade na digesta ileal (FI):

$$FI = (TiO_2) \text{ dieta} / (TiO_2) \text{ digesta}$$

Em que: (TiO₂) = concentração de dióxido de titânio;

Coefficiente de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos (CDIAA):

$$CDIAA = [(\% \text{ do nutriente na dieta}) - (\% \text{ do nutriente na digesta} \times FI) / (\% \text{ do nutriente na dieta})]$$

Em que: FI corresponde ao fator de indigestibilidade na digesta.

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM do programa SAS, versão University, sendo os boxes considerados a unidade experimental. Em caso de diferença significativa ($P < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados

Digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos essenciais aos 21 dias

A digestibilidade ileal aparente da metionina e leucina não foi influenciada ($P > 0,05$) aos 21 dias de idade (Tabela 11). O maior ($P < 0,05$) coeficiente de digestibilidade da lisina foi obtido com a suplementação de Fitase 1.500+MT C e o menor ($P < 0,05$) valor com a dieta Fitase 1.000+MT A. Os demais níveis de inclusão de fitase promoveram valores intermediários e semelhantes àqueles obtidos com as dietas de 1.500+MT C e 1.000 MT A de fitase. Para valina, isoleucina, arginina e fenilalanina, a inclusão de Fitase 1.500+MT C proporcionou aumento da digestibilidade ($P < 0,05$) em comparação às dietas Sem Fitase e com Fitase 1.000+MT A. Dietas contendo doses de Fitase 1.500+MT A, Fitase 1.000+MT B, Fitase 1.500+MT C proporcionaram aumento ($P < 0,05$) no coeficiente de digestibilidade do triptofano quando comparada com grupo que receberam alimentação contendo Fitase 1.000+MT A.

Tabela 11 - Digestibilidade ileal de aminoácidos essenciais em dietas de frangos de corte contendo fitase aos 21 dias de idade

Variáveis, %*	Dietas Experimentais						Valor P	CV (%)
	Sem Fitase	Fitase 500+MT	Fitase 1.000+MT	Fitase 1.500+MT	Fitase 1.000+MT	Fitase 1.500+MT		
		A	A	A	B	C		
Metionina	92,72	94,06	91,52	93,32	93,73	94,80	0,0887	1,61
Lisina	85,48ab	87,42ab	84,18b	87,68ab	87,68ab	90,30a	0,0432	2,68
Treonina	74,56ab	75,44ab	72,44b	77,64ab	75,73ab	80,40a	0,0359	4,56
Valina	76,98b	79,32ab	74,90b	80,84ab	79,98ab	84,45a	0,0142	3,96
Isoleucina	79,00b	81,98ab	79,18b	83,44ab	82,78ab	86,75a	0,0079	3,42
Leucina	80,98	83,46	80,22	85,00	82,05	87,88	0,124	4,34
Arginina	86,90b	88,90ab	86,56b	90,32ab	89,82ab	92,20a	0,0064	2,15
Triptofano	75,84ab	74,80ab	71,36b	81,60a	79,38a	81,90a	0,0015	4,74
Fenilalanina	82,54b	84,96ab	81,50b	86,46ab	85,85ab	89,25a	0,007	2,92

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos não essenciais aos 21 dias

A digestibilidade ileal aparente da alanina, ácido aspártico, glutamina, glicina, histidina e serina, com a inclusão de Fitase 1.500+MT C proporcionou aumento ($P < 0,05$) da digestibilidade no íleo das aves aos 21 dias de idade em comparação aquelas às dietas Sem Fitase e Fitase 1.000+MT A (Tabela 12). A dieta com a dose mais elevada, Fitase 1.500+MT C melhorou ($P < 0,05$) a digestibilidade da prolina quando comparada a Fitase 1.000+MT A.

Digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos essenciais aos 42 dias

Todos os coeficientes de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos essenciais foram influenciados ($P < 0,05$) aos 42 dias pelas inclusões da fitase nas dietas (Tabela 13). Houve aumento significativo da digestibilidade da metionina e lisina devido a inclusão de fitase nas doses de Fitase 500+MT A e Fitase 1.000+MT A, quando comparado a dieta Sem Fitase, resultando em maiores coeficientes de digestibilidade para esses aminoácidos. O mesmo efeito foi observado para o aminoácido treonina.

Tabela 12 - Digestibilidade ileal de aminoácidos não essenciais em dietas de frangos de corte contendo fitase aos 21 dias de idade

Variáveis, %*	Dietas Experimentais						P-Value	CV (%)
	Sem Fitase	Fitase 500+MT	Fitase 1.000+MT	Fitase 1.500+MT	Fitase 1.000+MT	Fitase 1.500+MT		
		A	A	A	B	C		
Alanina	78,74b	80,64ab	76,62b	82,30ab	81,25ab	85,85a	0,015	3,71
Ac. Aspártico	78,30b	81,20ab	77,72b	82,24ab	81,67ab	86,00a	0,009	3,26
Cistina	72,94	72,76	69,24	77,36	77,60	77,50	0,060	6,05
Glutamina	85,22b	81,32ab	84,74b	88,40ab	88,02ab	90,90a	0,008	2,30
Glicina	73,48b	76,54ab	71,58b	77,52ab	76,97ab	81,85a	0,010	4,26
Histidina	81,94b	84,26ab	80,88b	85,12ab	84,77ab	87,85a	0,015	2,84
Prolina	81,18ab	82,48ab	78,58b	84,02ab	83,77ab	86,36a	0,007	2,96
Serina	78,54b	80,20ab	77,58b	82,40ab	81,35ab	85,20a	0,029	3,53
Tirosina	77,70	78,68	74,78	81,04	78,90	83,90	0,105	4,99

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

A inclusão de Fitase 1.000+MT A proporcionou maior (P<0,05) coeficiente de digestibilidade ileal da valina e isoleucina, seguido de valores inferiores das dietas Sem Fitase e Fitase 1.500+MT C. Além disso, as doses de Fitase 500+MT A e Fitase 1.000+MT B também melhoram a digestibilidade da valina e isoleucina quando comparadas com a dieta Sem Fitase.

Tabela 13 - Digestibilidade ileal de aminoácidos essenciais em dietas de frangos de corte contendo fitase aos 42 dias de idade

Variáveis, %*	Dietas Experimentais						P-Value	CV (%)
	Sem Fitase	Fitase 500+MT	Fitase 1.000+MT	Fitase 1.500+MT	Fitase 1.000+MT	Fitase 1.500+MT		
		A	A	A	B	C		
Metionina	87,72b	93,76a	93,34a	90,10ab	90,98ab	89,65ab	0,0138	2,93
Lisina	79,12b	88,22a	89,52a	86,04ab	85,88ab	83,85ab	0,0020	4,11
Treonina	64,00b	77,86a	80,00a	72,78ab	73,18ab	66,93b	0,0001	6,45
Valina	66,20c	79,64ab	82,80a	75,04abc	76,12ab	71,38bc	0,0002	6,09
Isoleucina	69,44c	82,76ab	85,18a	78,80ab	79,24ab	74,95bc	0,0001	5,42
Leucina	72,84c	84,02ab	86,16a	80,14abc	80,44abc	76,80bc	<,0001	5,02
Arginina	81,32b	88,50a	90,92a	88,08a	87,52ab	84,95ab	0,0018	3,63
Triptofano	70,48b	82,16a	75,02ab	79,08a	75,68ab	74,48ab	0,0056	5,59
Fenilalanina	74,18c	85,78ab	87,08a	82,38abc	82,26abc	78,10bc	0,0007	5,14

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Aves alimentadas sem inclusão de fitase e com Fitase 1.500+MT C apresentaram menores coeficientes de digestibilidade para a leucina e fenilalanina em comparação quando à Fitase 1.000+MT A, além disso, a dose de Fitase 500+MT A foi superior ($P<0,05$) a dieta sem inclusão da fitase.

Para o aminoácido arginina as doses Fitase 500+MT A, Fitase 1.000+MT A e Fitase 1.500+MT A não apresentaram diferença significativa entre si, porém, promoveram aumento na digestibilidade quando não houve a adição de fitase na dieta.

As doses de Fitase 500+MT A e Fitase 1.500+MT A aumentaram ($P<0,05$) a digestibilidade ileal do triptofano em comparação a não suplementação de fitase.

Digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos não essenciais aos 42 dias

A digestibilidade ileal aparente aos 42 dias de idade de todos os aminoácidos não essenciais (Tabela 14) foi influenciada ($P<0,05$) pelas diferentes de fitase nas dietas. Para os aminoácidos alanina, cistina e tirosina a inclusão de Fitase 500+MT A apresentou maior ($P<0,05$) coeficiente de digestibilidade em comparação à dieta Sem Fitase. Além disso, a utilização de Fitase 1.000+MT A na dieta das aves também proporcionou aumento da digestibilidade ileal dos mesmos aminoácidos em relação aquelas que receberam Sem Fitase e Fitase 1.500+MT C.

O menor coeficiente de digestibilidade ($P<0,05$) para a glutamina foi observado para a dieta sem a inclusão de fitase em comparação as demais dietas utilizadas.

Os frangos alimentados com as dietas Sem Fitase e Fitase 1.500+MT C tiveram a digestibilidade da glicina e prolina reduzidas em comparação aos que receberam as doses de Fitase 500+MT A e Fitase 1.000+MT A, e além disso, a não suplementação de fitase em comparação com as doses de Fitase 500+MT A, Fitase 1.000+MT A e Fitase 1.500+MT A também afetou a digestibilidade dos aminoácidos citados.

A utilização da dieta Fitase 500+MT A aumentou a digestibilidade da tirosina ($P<0,05$) em comparação à dieta sem inclusão de fitase. No entanto, o melhor coeficiente de digestibilidade para a tirosina foi observado para a dieta com Fitase 1.000+MT A quando comparado com os das dietas sem fitase e Fitase 1.500+MT C.

1 Tabela 14 - Digestibilidade ileal de aminoácidos não essenciais em dietas de frangos de corte
 2 contendo fitase aos 42 dias de idade

Variáveis, %*	Dietas Experimentais						P- Value	CV (%)
	Sem Fitase	Fitase	Fitase	Fitase	Fitase	Fitase		
		500+MT A	1.000+MT A	1.500+MT A	1.000+MT B	1.500+MT C		
Alanina	68,68c	80,74ab	84,02a	75,74abc	77,64abc	73,45bc	0,0009	6,28
Ac. Aspártico	69,90c	82,28ab	84,80a	79,10ab	79,60ab	74,95bc	<,0001	4,72
Cistina	59,16c	75,34ab	78,80a	69,54abc	68,80abc	63,22bc	0,0004	8,78
Glutamina	76,54b	87,62a	89,32a	85,08a	85,14a	83,75a	<,0001	3,74
Glicina	62,70c	77,44a	80,38a	73,18ab	73,96ab	68,12bc	<,0001	6,12
Histidina	75,14b	85,18a	86,48a	81,34ab	81,08ab	78,45b	<,0001	3,97
Prolina	71,84c	83,50a	85,90a	81,32ab	80,52ab	74,65bc	<,0001	4,68
Serina	67,90bc	81,40ab	84,04a	77,94ab	77,60ab	73,55bc	<,0001	5,14
Tirosina	67,80c	80,58ab	83,44a	76,24abc	76,26abc	71,77bc	0,0006	6,38

3 Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

4

5 **Discussão**

6

7 A suplementação da fitase nas dietas aumentou os valores de digestibilidade dos
 8 aminoácidos essenciais e não essenciais, aos 21 e 42 dias de idade. Dos nove aminoácidos
 9 essenciais avaliados aos 21 dias, em sete foi observado melhora de digestibilidade, enquanto
 10 que dos nove não essenciais avaliados, apenas dois não sofreram influência pela adição da
 11 enzima fitase. Aos 42 dias de idade, todos os aminoácidos, essenciais e não essenciais, tiveram
 12 diferenças na digestibilidade com a utilização dos diferentes níveis de fitase.

13 Os resultados encontrados no presente estudo estão de acordo com diversos ensaios que
 14 observaram essa relação entre a enzima e a digestibilidade dos aminoácidos (Camden et al.,
 15 2001; Rutherfurd et al., 2004; Adedokun et al., 2015; Sommerfeld et al., 2018a; Sommerfeld et
 16 al., 2018b; Borda-Molina et al., 2019; Walk e Olukosi, 2019). No entanto, outros estudos são
 17 contraditórios, pois não constataram alteração dos coeficientes de digestibilidade dos
 18 aminoácidos com a utilização de fitase na dieta (Zhang et al., 1999; Peter e Baker, 2001;
 19 Rodehutsord et al., 2004; Rutherfurd et al., 2004).

20 O *superdosing* tem como principal objetivo digerir parcial ou completamente as
 21 moléculas de fitato presentes na dieta, melhorando o desempenho, como por exemplo a
 22 conversão alimentar, devido a maior capacidade de liberar todos os nutrientes aprisionados, e

em especial aumentar a digestibilidade dos aminoácidos (Walk e Rao, 2018). Visto isso, esse efeito pode ser observado pelos resultados encontrados no presente estudo, onde o *superdosing* de fitase proporcionou melhores resultados para a digestibilidade nos aminoácidos essenciais e não essenciais aos 21 dias de idade quando a enzima foi suplementada no nível de 1.500 FTU/kg associada à utilização da Matriz C (0,245% Ca, 0,225% Pd e 0,053% Na), confirmando a efetividade da fitase na hidrólise das moléculas de ácido fítico com posterior liberação dos aminoácidos quelatados, tornando-os disponíveis para o processo de digestão e absorção.

Os efeitos observados no aumento da digestibilidade dos aminoácidos essenciais e não essenciais aos 21 dias também foram observados aos 42 dias de idade quando a enzima fitase foi suplementada por *superdosing*, confirmando a melhora na digestibilidade ileal dos aminoácidos testados nas fases finais de criação de frangos de corte. Essa melhora da digestibilidade dos aminoácidos essenciais e não essenciais encontrada no presente trabalho pode estar relacionada com o efeito do fitato sobre mais de uma característica no processo de digestão, atuando sobre as enzimas responsáveis pela digestão das proteínas, como proteases, tripsina e pepsina no proventrículo e duodeno, além da redução na atividade da enzima ATPase de H/K^+ , que tem como função a acidificação do estômago, sendo que com a utilização de fitase é possível aumentar a atividade dessas enzimas (Liu et al., 2009), assim como reduzir as perdas endógenas dos aminoácidos (Cowieson et al., 2004).

Além disso, outro mecanismo que pode justificar a melhora na digestibilidade está relacionado a provável redução na perda endógena dos aminoácidos, pois, altas concentrações de ácido fítico levam a maior renovação dos enterócitos e produção de mucina devido à presença da molécula, o que causa maior perda de aminoácidos (Cowieson et al., 2004).

Com relação aos níveis de inclusão de fitase de 500 e 1.000 FTU/kg terem sido suficientes para alcançar os maiores valores de digestibilidade dos aminoácidos aos 42 dias, sugere-se que talvez as dietas utilizadas no presente estudo compostas por milho e soja, tenham favorecido a ação da fitase, pois, esses ingredientes possuem baixo nível de ácido fítico, com valores aproximados de 7,4 e 16,7 g/kg, respectivamente, em comparação a ingredientes alternativos como o farelo de canola, farelo de girassol, farelo de algodão, entre outros, com valores de 26,2 g/kg (Ravindran et al., 1999). Possivelmente, com a utilização de ingredientes alternativos a eficiência seria melhor com maiores níveis de fitase.

Em avaliação realizada com os ingredientes separados, o milho e o farelo de soja apresentaram 2,5 e 3,4% de aumento na digestibilidade geral dos aminoácidos, respectivamente, enquanto que o farelo de girassol, sorgo e trigo aumentaram em 3,5; 4,9 e 7,00% (Ravindran et al., 1999). No presente estudo, quando avaliado os 42 dias de idade, o

1 aumento médio foi de 13,5% da dieta com maior digestibilidade (Fitase 1.000+MT A) em
2 relação a menor digestibilidade (Sem fitase). Aos 21 dias, na comparação da dieta Fitase
3 1.500+MT C com a Sem Fitase, se observou aumento médio na digestibilidade de 6,1%.

4 Essa diferença observada no aumento da digestibilidade e no melhor tratamento a
5 depender da idade de avaliação, possivelmente tem relação com o fato de que o trato
6 gastrointestinal das aves ainda não ser totalmente maduro aos 21 dias, e mesmo com a liberação
7 maior dos nutrientes, a ave ainda não é capaz de digerir e absorver essa maior quantidade de
8 nutrientes.

9 Entre os aminoácidos essenciais avaliados aos 21 dias de idade, somente a Metionina e
10 Leucina não apresentaram diferenças significativas, enquanto que dos não essenciais, somente
11 a Cistina e Tirosina. De modo geral, os aminoácidos com maior digestibilidade são a Cistina,
12 Treonina, Serina, Prolina e Glicina, enquanto os com menor digestibilidade são a Metionina,
13 Arginina, Glutamina e Lisina (Adeola e Cowieson, 2011). Aos 42 dias de idade, todos os
14 aminoácidos avaliados apresentaram diferença significativa na digestibilidade entre as dietas,
15 corroborando com os resultados encontrados por outros trabalhos que também observaram os
16 mesmos efeitos (Sommerfeld et al., 2018a; Sommerfeld et al., 2018b; Walk e Rao, 2018; Borda-
17 Molina et al., 2019).

18 As diferentes respostas dos diferentes aminoácidos em relação a suplementação de fitase
19 sobre a digestibilidade parece estar diretamente associada a intensidade com que a hidrólise do
20 fitato dietético ocorre no trato intestinal, pois, acredita-se que quanto maior a destruição da
21 molécula do ácido fítico menor o fluxo endógeno dos aminoácidos (Cowieson et al., 2017). Isto
22 significa que o principal fator antinutricional do fitato em que se liga as moléculas de proteína,
23 formando complexos que diminuem a solubilidade e, são hidrolisadas mais eficientemente
24 (Selle et al., 2000) disponibilizando nutrientes para serem aproveitados.

25 Dessa forma, além da liberação de fósforo que a enzima pode proporcionar, o aumento
26 da digestibilidade dos aminoácidos prova seu efeito extra fosfórico, podendo reduzir o custo da
27 dieta, pois leva uma redução na necessidade de suplementação de aminoácidos industriais,
28 reduzindo a poluição ambiental devido a menor excreção de nitrogênio e fósforo (Adedokun et
29 al., 2015).

30 No trabalho de Adedokun et al. (2015), os aminoácidos em que não foram observados
31 efeitos foram a metionina, triptofano e prolina, enquanto que em outro trabalho, ocorreu a
32 mesma situação para a metionina, tirosina, histidina e triptofano (Rutherford et al., 2004).
33 Quando frangos de corte fêmeas receberam fitase na dieta, não foi observado efeito na
34 digestibilidade da lisina, metionina e fenilalanina (Sebastian et al., 1997). Por outro lado, a

1 suplementação de fitase foi capaz de aumentar a digestibilidade somente da isoleucina e valina
2 (Namkung e Leeson, 1999).

3 Ainda existe grande discrepância entre os resultados observados em relação aos
4 aminoácidos que não tem sua melhora de digestibilidade observada, com exceção da metionina
5 que parece ser o mais comum de não ser afetado pela fitase, e que também não foi alterado aos
6 21 dias neste estudo. Possivelmente, as diferenças nos resultados podem ser devida as
7 metodologias utilizadas, a idade de avaliação, ao tipo de dieta, nível e tipo da fitase, entre outros
8 fatores.

9 Em alguns casos, o menor nível de fitase utilizado (500 FTU/kg) pode não ser suficiente
10 para a hidrólise total da molécula de ácido fítico, levando a diferença significativa de somente
11 dois aminoácidos (isoleucina e lisina), porém quando foi suplementado níveis maiores o efeito
12 foi observado em todos aminoácidos avaliados (Sommerfeld et al., 2018a). Uma hipótese para
13 justificar o uso da fitase acima das doses recomendadas é a de que em altas concentrações, pode
14 ser possível a degradação do ácido fítico em maiores proporções ocasionando a liberação do
15 fósforo proveniente de ésteres inferiores com menor peso molecular sendo menos prejudiciais
16 para o desempenho do que os oriundos do isômero mioinositol hexafosfato (IP6) (Cowieson et
17 al., 2014).

19 **Conclusões**

21 Frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com dose de 1.000 FTU/kg de
22 fitase associado à redução dos níveis de 0,165% Ca, 0,150% Pd e 0,035% Na ou 0,215% Ca,
23 0,195% Pd e 0,045% Na, melhoram a digestibilidade dos aminoácidos essenciais e não
24 essenciais aos 21 e 42 dias de idade.

Referências

- ADEDOKUN, S. A.; OWUSU-ASIEDU, A.; RAGLAND, D. et al. The efficacy of a new 6-phytase obtained from *Buttiauxella* spp. expressed in *Trichoderma reesei* on digestibility of amino acids, energy, and nutrients in pigs fed a diet based on corn, soybean meal, wheat middlings, and corn distillers' dried grains with solubles. **Journal of Animal Science**. v.9, p.168-175, 2015.
- ADEOLA, O.; A. J. COWIESON. Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. Board Invited Review. **Journal of Animal Science**. v.89, p.3189–3218, 2011.
- BORDA-MOLINA, D.; ZUBER, T.; SIEGERT, W. et al. Effects of protease and phytase supplements on small intestinal microbiota and amino acid digestibility in broiler chickens. **Poultry Science**. v.98, p.2906-2918, 2019.
- CAMDEN, B. J.; MOREL, P. C. H.; THOMAS, D. V. et al. Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize-soybean diets for broilers. **Animal Science**. v.73, p.289–297, 2001.
- COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. et al. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. **British poultry science**. v.45, p.101-108, 2004.
- COWIESON, A. J.; RUCKEBUSCH, J.P.; SORBARA, J.O.B. et al. A systematic view on the effect of phytase on ileal amino acid digestibility in broilers. **Animal Feed Science and Technology**. v.225, p.182-194, 2017.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.01.008>
- COWIESON, A. J.; AURELI, R.; GUGGENBUHL, P.; FRU-NJI, F., 2014. Possible involvement of myo-inositol in the physiological response of broilers to high doses of microbial phytase. *Anim. Prod. Sci.* 55, 710–719.
- NAMKUNG, H.; LEESON, S. Effect of phytase enzyme on dietary nitrogen-corrected apparent metabolizable energy and the ileal digestibility of nitrogen and amino acids in broiler chicks. **Poultry Science**. v.78, p.1317-1319, 1999.
- PETER, C. M.; BAKER, D. H. Microbial phytase does not improve protein-amino acid utilization in soybean meal fed to young chickens. **The Journal of Nutrition**. v.131, p.1792-1797, 2001.
- LIU, N.; RU, Y.J.; LI, F. D. et al. Effect of dietary phytate and phytase on proteolytic digestion and growth regulation of broilers. **Archives of Animal Nutrition**. v.63, p.292-303, 2009.
- RAVINDRAN, V.; CABAUG, S.; RAVINDRAN, G. et al. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. **Poultry Science**. v.78, p.699-706, 1999.

- RODEHUTSCORD, M.; RÜCKERT, C.; MAURER, H. P. et al. Variation in chemical composition and physical characteristics of cereal grains from different genotypes. **Archives of Animal Nutrition**. v.70, p.87-107, 2016.
- RUTHERFURD, S. M.; CHUNG, T. K.; MOREL, P. C. et al. Effect of microbial phytase on ileal digestibility of phytate phosphorus, total phosphorus, and amino acids in a low-phosphorus diet for broilers. **Poultry Science**. v.83, p.61-68, 2004.
- RUTHERFURD, S. M.; CHUNG, T. K.; MOUGHAN, P. J. The effect of microbial phytase on ileal phosphorus and amino acid digestibility in the broiler chicken. **British Poultry Science**. v.43, p.598-606, 2002.
- SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R. et al. Apparent digestibility of protein and amino acids in broiler chickens fed a corn-soybean diet supplemented with microbial phytase. **Poultry Science**. v.76, p.1760-1769, 1997.
- SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V.; CALDWELL, A. et al. Phytate and phytase: consequences for protein utilisation. **Nutrition Research Reviews**. v.13, p.255-278, 2000.
- SELLE, P.H.; COWIESON, A.J.; COWIESON, N.P. et al. Protein-phytate interactions in pig and poultry nutrition: A reappraisal. **Nutrition Research Reviews**. v.25, p.1-17, 2012.
doi: <https://doi.org/10.1017/S0954422411000151>
- SOMMERFELD, V.; KÜNZEL, S.; SCHOLLENBERGER, M. et al. Influence of phytase or myo-inositol supplements on performance and phytate degradation products in the crop, ileum, and blood of broiler chickens. **Poultry science**. v.97, p.920-929, 2018a.
- SOMMERFELD, V.; SCHOLLENBERGER, M.; KÜHN, I. et al. Interactive effects of phosphorus, calcium, and phytase supplements on products of phytate degradation in the digestive tract of broiler chickens. **Poultry Science**. v.97, p.1177-1188, 2018.
- WALK, C. L.; OLUKOSI, O. A. Influence of graded concentrations of phytase in high-phytate diets on growth performance, apparent ileal amino acid digestibility, and phytate concentration in broilers from hatch to 28 D post-hatch. **Poultry Science**. v.98, p.3884-3893, 2019.
- WALK, C. L.; RAO, S. V. R. High doses of phytase on growth performance and apparent ileal amino acid digestibility of broilers fed diets with graded concentrations of digestible lysine. **Journal of Animal Science**. v.97, p.698-713, 2019.
- ZHANG, X.; ROLAND, D. A.; MCDANIEL, G. R. et al. Effect of Natuphos phytase supplementation to feed on performance and ileal digestibility of protein and amino acids of broilers. **Poultry Science**. v.78, p.1567-1572, 1999.
- ZOUAOU, M.; LETOURNEAU, M.; GUAY, F. Effect of phytase on amino acid digestibility in pig: A meta-analysis. **Animal Feed Science and Technology**. v.238, p.18-28, 2018.