

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FITASE EM RAÇÕES FORMULADAS COM NÍVEIS
DECRESCENTES DE PROTEÍNA BRUTA E FÓSFORO PARA
POEDEIRAS COMERCIAIS.**

Adriana Aparecida Pereira
Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Dezembro de 2009

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FITASE EM RAÇÕES FORMULADAS COM NÍVEIS
DECRESCENTES DE PROTEÍNA BRUTA E FÓSFORO PARA
POEDEIRAS COMERCIAIS.**

Adriana Aparecida Pereira

Orientador: Prof. Dr. Otto Mack Junqueira

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia (Produção Animal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Dezembro de 2009

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ADRIANA APARECIDA PEREIRA - nascida na cidade de Viçosa (MG) em 21 de junho de 1982, filha de Maria da Glória Coelho Pereira e Geraldo Pereira Lopes. Em 2001, ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), na qual participou ativamente em atividades de pesquisa com bolsa de iniciação científica do terceiro ao nono período da graduação, na área de nutrição de monogástricos, obtendo o título de Zootecnista em julho de 2005. Em agosto de 2005, iniciou o Mestrado em Zootecnia na mesma instituição, na área de nutrição de suínos, sob orientação do Prof. Dr. Juarez Lopes Donzele, finalizando em fevereiro de 2007. Em março de 2007, ingressou no Doutorado em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/*Campus* de Jaboticabal, na área de produção e nutrição de monogástricos, sob orientação do Prof. Dr. Otto Mack Junqueira, submetendo-se à defesa de tese em 14 dezembro de 2009. Atualmente é Professora da Universidade Federal de Alagoas/Câmpus Arapiraca, ministrando aulas para o curso de Zootecnia na área de produção e nutrição de monogástricos e desenvolvendo atividades de pesquisa, extensão e administração.

Gente que eu gosto

*“Gosto de gente com a cabeça no lugar, de conteúdo interno,
idealismo nos olhos e dois pés no chão da realidade.*

*Gosto de gente que ri, chora, se emociona com uma simples carta,
um telefonema, uma canção suave, um bom filme, um bom livro,
um gesto de carinho, um abraço, um afago.*

*Gente que ama e curte saudades, gosta de amigos,
cultiva flores, ama os animais.
Admira paisagens, poeira e escuta.*

*Gente que tem tempo para sorrir bondade, semear perdão,
repartir ternuras, compartilhar vivências
e dar espaço para as emoções dentro de si,
emoções que fluem naturalmente de dentro de seu ser!*

*Gente que gosta de fazer as coisas que gosta,
sem fugir de compromissos difíceis e inadiáveis,
por mais desgastantes que sejam.*

*Gente que colhe, orienta, se entende, aconselha,
busca a verdade e quer sempre aprender,
mesmo que seja de uma criança, de um pobre, de um analfabeto.*

*Gente de coração desarmado, sem ódio e preconceitos baratos.
Com muito AMOR dentro de si.
Gente que erra e reconhece, cai e se levanta,
apanha e assimila os golpes, tirando lições dos erros
e fazendo redentoras suas lágrimas e sofrimentos.*

*Gosto muito de gente assim...
e desconfio que é deste tipo de gente que DEUS também gosta!”*

Autor desconhecido

Dedico,

Ao meu grande amor Dirceu, por estar sempre ao meu lado, apoiando e acreditando em mim, para transformar meus sonhos em realidade.

Só posso dizer, Obrigada!

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus por todos os momentos felizes que vivi durante meu doutoramento e também momentos difíceis. Pois, muitas coisas aprendi com eles, muitos valores guardei e muitas vitórias conquistei.

À UNESP - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade em realizar o doutorado.

Ao CNPq e a CAPES pela concessão da bolsa de estudos e à FAPESP pela liberação dos recursos financeiros.

Ao Prof. Dr. Otto Mack Junqueira, pela orientação e amizade durante a execução deste trabalho.

Às Profas. Dras. Silvana Martinez Baraldi Artoni e Laura Satiko Okada Nakaghi pelas sugestões e apoio durante a realização deste estudo.

À todos os professores da FCAV, por todos os ensinamentos.

Aos funcionários da FCAV que colaboraram para realização deste trabalho, em especial aos funcionários da fábrica de ração e do setor de avicultura: Sandra, Sr.Osvaldo, Helinho, Isildo, Vicente e Robson.

Aos colegas de pós graduação e aos alunos de graduação que trabalharam com muita atenção e disposição durante experimento: Maria Fernanda, Sarah, Patrícia, Juan, Carla, Reginaldo, Maíra, Bárbara, Leonardo, Milena e Carolina.

Às amigas: Fabiana, Marcela e Amanda pelo enorme carinho, amizade e união, que nem a ausência ou distância nunca conseguirá destruir.

Ao meu noivo Dirceu, pela colaboração nos experimentos, pelo carinho, dedicação, paciência, coragem de enfrentar os desafios e acima de tudo, me fazer feliz.

Aos meus irmãos José Carlos, Vilma, Maurício, Neiva e Nilva, e aos meus cunhados Pedrinho, Gilce e Susana, que tanto me apoiaram e torceram por mim.

Aos meus sobrinhos Laura, Mariana, Cecília, Gabriela, Helen, Bruno, Geovane e Alex, pelo carinho e pelos momentos de alegria que eles me proporcionaram.

Ao Tio Pedro e Tia Gracinha, pela amizade e pelo apoio.

Aos meus pais Geraldo e Glorinha, pelo carinho e apoio durante a realização do doutorado e pelos ensinamentos que me fizeram ser a pessoa que sou hoje.

O meu sincero agradecimento.

SUMÁRIO

Página

RESUMO	9
ABSTRACT	10
1- INTRODUÇÃO.....	11
2- REVISÃO DA LITERATURA.....	13
3- OBJETIVO.....	29
4- MATERIAL E MÉTODOS.....	30
5- RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
6- CONCLUSÃO	74
7- REFERÊNCIAS.....	75

FITASE EM RAÇÕES FORMULADAS COM NÍVEIS DECRESCENTES DE PROTEÍNA BRUTA E FÓSFORO PARA POEDEIRAS COMERCIAIS.

RESUMO – Avaliou-se a enzima fitase, através de sua matriz nutricional, em rações formuladas com níveis decrescentes de nitrogênio e fósforo, sobre o desempenho e qualidade dos ovos de galinhas poedeiras, visando à diminuição do impacto ambiental. Foram alojadas 336 poedeiras comerciais com 24 semanas de idade da linhagem Isa Brown, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2, com sete repetições de oito aves cada. Os tratamentos constituíram de três níveis de proteína bruta (17, 15 e 13%) e dois níveis de inclusão da enzima fitase (0 e 500 FTU/kg ração). Durante cinco períodos de produção (28 dias cada), foram avaliadas as características de desempenho (consumo de ração, produção de ovos, peso dos ovos e conversão alimentar) e qualidade dos ovos (unidade Haugh, índice gema, espessura de casca e percentagem de casca, gema e albúmen). A excreção ambiental de nutrientes e a viabilidade econômica do uso dessas rações também foram avaliadas. Através dos resultados pode-se verificar que a matriz nutricional da fitase utilizada permitiu diminuir a quantidade de fosfato bicálcico da ração sem causar prejuízos ao desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras, bem como reduções moderadas dos níveis de proteína bruta (15%) da ração. Além disso, conseguiu-se reduzir a excreção de nitrogênio em 10,8% e de fósforo de 37,8%, diminuindo o impacto ambiental e utilizando uma ração economicamente viável.

Palavras-chave: desempenho, impacto ambiental, qualidade dos ovos

PHYTASE IN DIETS WITH DECREASING LEVELS OF CRUDE PROTEIN AND PHOSPHORUS FOR LAYING HENS.

SUMMARY - The aim of the study was to evaluate the enzyme phytase, through his matrix nutritional, in diets with decreasing levels of nitrogen and phosphorus on performance and egg quality of laying hens, order at reducing environmental impact. Were housed 336 laying hens at 24 weeks old Isa Brown line, distributed in a completely randomized in a 3 x 2 factorial design with seven replications of eight birds. The treatments consisted of three levels of crude protein (17, 15 and 13%) and two levels of phytase (0 and 500 FTU / kg diet). Five periods producing (28 days each) analyzed the performance characteristics (feed intake, egg production, egg weight and feed conversion) and egg quality (Haugh unit, yolk index, shell thickness and percentage of shell, yolk and albumen). Environmental excretion of nitrogen and phosphorus and economic feasibility of using these diets were also evaluated. Through the results can be verified that the matrix's nutritional phytase used thus reducing the amount of dicalcium phosphate to the diet without jeopardize the performance and egg quality of laying hens and moderate reductions in the levels of crude protein (15%) ration. Furthermore, was achieved able to reduce nitrogen excretion by 10.8% and 37.8% of phosphorus, reducing the environmental impact and using a feed economically viable.

Keywords: environmental impact, performance, quality of eggs

I – INTRODUÇÃO

Entre os custos de produção na avicultura, observa-se que a alimentação participa com, aproximadamente, 70% e que os níveis de proteína, energia e fósforo das dietas são as parcelas mais representativas desses custos.

A alimentação das aves baseia-se em principalmente ingredientes de origem vegetal, em especial o milho e o farelo de soja. Esses ingredientes apresentam cerca de dois terços do seu fósforo complexado na molécula de ácido fítico ou fitato, não podendo ser utilizados pelos animais não-ruminantes, já que estes não sintetizam a enzima fitase em quantidade necessária para hidrolisar o referido complexo.

A molécula de fitato é um composto orgânico de ocorrência natural que pode influenciar as propriedades nutricionais dos alimentos. O seu grupo ortofosfato é altamente ionizado e se complexa com uma variedade de cátions e com fração protéica do alimento. Esse fato inclui o fitato como um fator antinutricional, pois diminui a disponibilidade dos minerais, proteínas e moléculas de glicose conjugadas.

A inabilidade das aves em utilizar o fósforo fítico dos ingredientes de origem vegetal implica na adição de fósforo inorgânico às rações, proveniente de fontes não renováveis na natureza, para atender as exigências das aves para esse mineral. Contudo, a ração fica mais onerosa e as aves eliminam grandes quantidades de fósforo nos seus dejetos.

Em muitos países, as recentes restrições ambientais fizeram com que os nutricionistas se voltassem para um cuidadoso manejo da nutrição protéica e mineral para a obtenção de níveis mais baixos de excreção de nitrogênio e minerais, sem prejudicar o desempenho dos animais. Assim, a enzima fitase produzida pelo *Aspergillus niger* tem sido utilizada com sucesso nas rações de aves e suínos, com a função de liberar parte do fósforo complexado na forma de fitato e melhorar a digestibilidade da proteína bruta, aminoácidos e a absorção de minerais.

Ao alimentar as aves com níveis de proteína bruta além de suas necessidades, elas irão excretar grandes quantidades de nitrogênio, que representa os resíduos do

metabolismo das proteínas no organismo animal. A maior eficiência da utilização da proteína e de aminoácidos dietéticos pelas aves pode proporcionar o suprimento adequado às suas exigências nutricionais, podendo reduzir os efeitos da poluição ambiental pela redução da excreção de nitrogênio, além da possibilidade de redução nos custos de produção.

O potencial poluente das excretas avícolas relaciona-se à poluição hídrica indireta, tecnicamente denominada como poluição difusa do corpo d'água. Como se observa que a aplicação desses resíduos geralmente não obedece a padrões agronômicos básicos, o alto teor de nutrientes nas excretas, em especial do fósforo e o nitrogênio, causará uma superdosagem no solo que irá atingir os corpos d'água superficiais e subterrâneos pelos processos de lixiviação e infiltração (PALHARES, 2004).

Portanto, tornam-se necessárias pesquisas para avaliar a eficácia do uso da fitase e dietas à base de milho e farelo de soja na disponibilização de fósforo fítico e proteína, de modo a promover redução nos níveis dietéticos de fósforo e proteína reduzindo o custo de produção, e a excreção de nitrogênio e fósforo no meio ambiente.

II - REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - Fósforo na alimentação de poedeiras comerciais

O fósforo é o mineral mais encontrado em todas as células corporais e está envolvido em inúmeras reações metabólicas no organismo. Cerca de 80% do fósforo no organismo encontra-se combinado com o cálcio nos ossos e dentes; 10% combinados com as proteínas, lipídeos, carboidratos e outros compostos no sangue e músculo; e os outros 10% estão distribuídos por vários compostos químicos.

Para as galinhas de postura, o fósforo também é um importante mineral, pois está relacionado com a produção e a qualidade da casca dos ovos, além de participar de funções metabólicas essenciais ao organismo das aves, tais como a síntese de ácidos nucleicos, formação de fosfolipídios e atuação no equilíbrio ácido-base. Sua deficiência provoca má qualidade da casca, anormalidades nos ovos, redução no tamanho e na produção de ovos, o que gera alto índice de quebra. Portanto, torna-se de vital importância fornecer quantidades adequadas desse mineral na ração, sempre considerando a proporção Ca:P:vitamina D (LAURENTIZ, 2005).

Os benefícios decorrentes de uma dieta com baixos níveis de fósforo são a redução do fósforo plasmático, com conseqüente aumento da concentração do paratormônio, ativando o rim para hidroxilar mais vitamina D, aumentando a atividade do 1,25 (OH)₂D₃, o qual induz uma série de efeitos positivos, tais como aumento da absorção intestinal de cálcio e de reabsorção óssea de cálcio com conseqüente aumento da concentração de cálcio no útero para a formação da casca. Por outro lado, é necessário avaliar o período de tempo em que as aves suportariam uma dieta com baixo nível de fósforo sem induzir a osteoporose, considerando também outros fatores como estresse calórico, comprometimento renal e idade das aves (SCHEIDELER E ALBATSHAN, 1994).

Os níveis de fósforo disponível recomendados para poedeiras comerciais leves e semi-pesadas são 0,375 e 0,350 g/ave/dia de fósforo disponível segundo ROSTAGNO et al. (2005) e NRC (1994), respectivamente.

Nas rações formuladas para aves, o fornecimento de fósforo disponível pelas fontes de origem vegetal não é suficiente para atender às exigências nutricionais a fim de proporcionar adequado desempenho e mineralização óssea, havendo necessidade de suplementação com fontes inorgânicas que, geralmente, são obtidas pela utilização de fosfatos ou farinhas de origem animal.

A suplementação do fósforo nas rações normalmente é realizada com o fosfato bicálcico, que representa de 2,5 a 3,0% do custo total de uma ração, o terceiro maior custo nas rações de aves, ficando atrás apenas da proteína e energia. Além disso, o fósforo é um mineral não renovável e, em longo prazo, as fontes de fósforo inorgânico disponíveis esgotarão se continuar sua utilização extensiva na produção agropecuária.

A farinha de carne e ossos é outra fonte de fósforo utilizada para suplementação, entretanto podem surgir problemas de contaminação microbiológica, níveis de cálcio e fósforo muito variáveis, além de ser disponível em quantidades insuficientes para abastecer o mercado (BORRMANN, 2001).

O fósforo pode ser ingerido na forma inorgânica como mono, di ou trifosfato, ou ainda na forma orgânica, como os fitatos, fosfolipídeos ou fosfoproteínas, sendo absorvido no intestino delgado das aves na forma de ortofosfato ($\text{PO}_4^{=}$) por difusão simples, seguindo gradiente de concentração ou transporte ativo com gasto de energia, sendo esse processo, estimulado pela presença da vitamina D e dependente do sódio. A relação Ca:P da dieta parece ter bastante influência sobre a absorção de fósforo (MAIORKA & MACARI, 2002).

Outros fatores como o pH, a viscosidade intestinal, o nível de disponibilidade do fósforo dietético, a forma e grau de pureza das fontes empregadas, a idade das aves e a presença de íons (Fe, MG, Al e Ca), proporcionam a formação de sais pouco solúveis, que contribuem para a redução da disponibilidade de fósforo (RAVINDRAN et al., 1995).

A maior fonte de fósforo encontra-se nos ingredientes de origem vegetal na forma de fitato ou ácido fítico, designação dada ao fósforo que faz parte da molécula de hexafosfato de inositol ($\text{C}_6\text{H}_{18}\text{O}_{24}\text{P}_6$ – IP6). Segundo BORGES (1997) o milho apresenta 33% de fósforo disponível (Pd) e o farelo de soja 42%.

O fíto ocorre naturalmente em complexos orgânicos de plantas (SEBASTIAN et al., 1997) e constitui a maior parte do fósforo total. Sua função fisiológica na semente do vegetal é servir de estoque de fósforo e outros minerais, além da energia, que são liberados pela ação da fitase endógena da planta à medida que ocorre a germinação (BORGES, 1997).

A quantidade de fitato é variável em função da espécie, estágio de maturação, cultivar, clima, disponibilidade de água, grau de processamento e quantidade de fósforo no solo, o qual a planta absorve e armazena complexando-o com o inositol para formar o ácido fítico (ASADA & KASAI, 1962). Contudo, as moléculas de ácido fítico contêm 28,2% de fósforo, aproximadamente.

O ácido fítico é uma estrutura de baixo peso molecular, formada por seis grupos fosfatos ligados à uma molécula com seis carbonos (Figura 1). Em pH neutro, cada grupo fosfato apresenta um ou dois átomos de oxigênio carregados negativamente. Conseqüentemente, vários cátions podem ser fortemente quelatados entre dois grupos fosfatos ou fracamente com um grupo fosfato. Estes cátions, uma vez ligados à molécula do ácido fítico, tornam-se indisponíveis para serem absorvidos no intestino de aves e suínos.

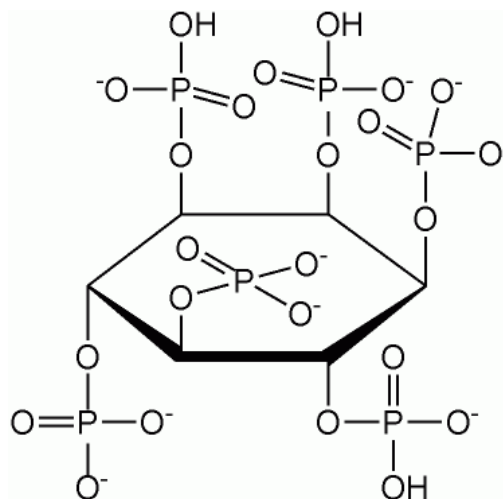


Figura 1 – Estrutura do fitato

Os efeitos anti-nutricionais do ácido fítico estão além do não aproveitamento do fósforo, já que esse ácido é um potente agente quelante de nutrientes como aminoácidos, amido e cátions. Acredita-se que a interação entre ácido fítico e proteína seja uma associação iônica dependente de pH. Num baixo pH, o ácido fítico forma complexos insolúveis com arginina, lisina e histidina por ligações eletrostáticas.

Quando o pH aproxima-se do ponto isoelétrico, a carga sobre a proteína é neutralizada e o fitato dissocia-se e torna-se solúvel. Neste estado, o fitato pode se complexar com a proteína pela presença de cátions divalentes, tais como o cálcio, magnésio e zinco, atuando como uma ponte entre os grupamentos carboxil da proteína negativamente carregados e o fitato. A associação entre fitato e proteína ocorre durante o amadurecimento das sementes (COSGROVE, 1980).

Outra possível interação do ácido fítico é com as enzimas endógenas, como a tripsina, quimiotripsina e amilase do trato gastrointestinal, inibindo a atividade dessas enzimas com conseqüente decréscimo da digestibilidade de carboidratos e proteínas. Assim, a inibição das enzimas pode ser atribuída ao efeito quelante dos íons de cálcio necessários para atividade destas enzimas endógenas (COUSINS, 1999).

2.2 - Utilização da enzima fitase para poedeiras comerciais

As técnicas de biologia molecular tornaram o uso de enzimas exógenas economicamente viáveis, com isso, sua utilização nas rações avícolas tem sido considerada uma alternativa para redução de custos e aumento da eficiência da produção.

O uso de enzimas exógenas pode melhorar a digestão e absorção de ingredientes, reduzindo os efeitos antinutricionais ou fornecendo à ave uma nova capacidade de digerir certos componentes da ração (LESSON, 1999).

As enzimas são proteínas que catalisam reações químicas nos sistemas biológicos, ou seja, participam de reações de síntese e degradação do metabolismo animal, sem serem elas próprias alteradas neste processo (CHAMPE, 1989). As enzimas exógenas atuam da mesma forma que as endógenas, apresentando um sítio

ativo com capacidade de atuar sobre um substrato específico e hidrolisando-o, sob condições favoráveis de temperatura, umidade e pH (PENZ JR., 1998).

Quase todas as espécies vegetais contêm a enzima fitase, contudo, sua atividade dentro do grão varia largamente entre as sementes (EECKHOUT & DE PAEPE, 1994). Apenas os grãos de cereais como centeio, triticale, trigo e cevada apresentam níveis substanciais de fitase, enquanto os demais ingredientes de origem vegetal, incluindo o milho e a soja, contêm fitase em níveis marginais, sendo sua atividade desconsiderada (MAENZ, 2001). Além disso, a fitase das plantas é ativa em pH variando de 5,0 a 6,5, sendo inativa no proventrículo e na moela, cujo pH é em média 2,7.

Dessa forma, a suplementação dietética com fitase é a alternativa mais efetiva e prática para melhorar a digestibilidade do fitato, diminuir o uso do fósforo inorgânico nas dietas e, conseqüentemente, reduzir a excreção de fósforo pelas aves (RAVINDRAN et al., 1995).

De acordo com o relato anterior, BORRMANN et al. (2001) trabalhando com poedeiras Hy-Line em segundo período de postura, avaliaram diferentes níveis de fósforo disponível em dietas formuladas com e sem a enzima fitase, no qual encontraram que a melhor qualidade de ovo foi obtida com 0,29% de fósforo disponível sem fitase e 0,26% com fitase.

A enzima fitase pode ser comercialmente produzida por microorganismos como fungos (*Saccharomyces cerevisiae*, linhagens do gênero *Aspergillus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus ficuum*), bactérias (*Pseudomonas* e *Bacillus subtilis*), leveduras, e por alguns microorganismos do rúmen e do solo (SEBASTIAN et al. 1998), através de técnicas de recombinação de DNA. Este processo envolve fermentação, extração, separação e purificação do produto.

A fitase produzida com base no código genético dos microrganismos *Aspergillus niger* tem a habilidade de disponibilizar aproximadamente 40% do fósforo fítico em rações de poedeiras comerciais (ROLAND et al., 2003).

No geral, a fitase microbiana é mais potente e estável em uma faixa de pH entre 2,5 a 5,5, sendo a faixa maior do que a fitase que ocorre nas plantas. A atividade da

fitase é expressa em U ou FTU, definida por ENGELEN & HEEFT (1994) como a quantidade de enzima que libera 1 micromol (mmol) de fósforo inorgânico por minuto, proveniente do fitato de sódio 0,0015 mol L⁻¹ a pH 5,5 e temperatura de 37°C. Sua atividade máxima, ocorre no estômago e na porção inicial do intestino delgado (JONGBLOED et al., 1992).

Sabendo-se da capacidade quelante da molécula de fitato com outros nutrientes, a utilização da fitase não só reduz a necessidade de suplementação com fósforo, mas também de outros minerais e aminoácidos que podem ser liberados para a absorção (SEBASTIAN et al., 1996).

Os primeiros pesquisadores a adicionar fitase a uma ração líquida de soja foram NELSON et al. (1968) ao fornecer essa ração à pintos de um dia de idade. As aves mostraram considerável aumento na percentagem de cinzas dos ossos, concluindo que as mesmas utilizaram o fósforo do fitato tão bem como o fósforo inorgânico. PETER (1992) relatou que galinhas alimentadas com uma ração de baixo fósforo disponível e inclusão de fitase apresentam, peso de ovos significativamente mais altos que aquelas que consomem a mesma dieta sem fitase. Já GORDON & ROLAND (1997), conduzindo um estudo para determinar a influência da suplementação de fitase no desempenho de poedeiras alimentadas com vários níveis de suplementação de fosfato inorgânico, observaram um aumento no peso e densidade do ovo e diminuição da mortalidade de poedeiras, consumindo 0,1% de fósforo disponível e fitase na ração.

Neste sentido, LIM et al. (2003) ao desenvolver um experimento para determinar os efeitos da fitase microbiana na produção de ovos, qualidade de casca e excreção de fósforo de poedeiras comerciais Isa Brown alimentadas com diferentes níveis de cálcio e fósforo não fítico, concluíram que a suplementação de 300U de fitase por quilograma de ração pode melhorar a produção de ovos, diminuir a taxa de ocorrência de ovos quebrados e de casca mole, além de reduzir significativamente a excreção de fósforo, indicando que os efeitos da suplementação com fitase é significativamente afetada pelos níveis de cálcio e fósforo não fítico das rações.

Um dos principais minerais relacionados à qualidade da casca dos ovos é o fósforo, apesar da casca conter apenas 20 mg de fósforo na forma de fosfato de cálcio,

comparado com 2100 mg de cálcio (HARMS, 1982), o consumo de quantidades inadequadas pode provocar má qualidade de casca com altos índices de quebra.

Deve-se considerar que, quando a fitase é incluída na formulação de rações, os níveis de cálcio e fósforo devem ser inferiores aos normalmente utilizados, isso para que não ocorra uma redução acentuada do efeito da fitase (LESSON et al., 2000).

Para a garantia da adequada relação Ca: P na dieta é necessário o controle de qualidade dos ingredientes, a adequação da matriz de composição dos ingredientes e o uso adequado da matriz nutricional da fitase adicionada à dieta. A matriz nutricional da fitase é a quantidade de nutrientes liberados do ácido fítico contido nos ingredientes de origem vegetal quando a mesma é adicionada à dieta, pois as enzimas não possuem valor por si só, na verdade, elas atuam sobre os componentes da dieta (DARI, 2004).

A idade da ave também é um ponto importante, por causa da maior atividade enzimática do sistema digestório das aves mais velhas, tendo que atentar-se sobre a exigência nutricional do fósforo para cada fase.

A estabilidade da enzima fitase deve ser considerada para a sua utilização, já que após a produção industrial, a atividade da fitase misturada às rações se mantém, no mínimo por três meses (COWAN, 1993). Entretanto, a estabilidade depende de vários fatores, como temperatura de armazenamento, ração peletizada ou farelada, e se a enzima foi adicionada diretamente na ração ou misturada ao suplemento vitamínico ou mineral.

Corroborando com o relato anterior, PIZZOLANTE (2000) ao estudar a estabilidade da enzima fitase utilizada na alimentação de frangos de corte, constatou que para garantir sua estabilidade, ela deve ser armazenada em baixas temperaturas e adicionada diretamente na ração. Assim, a estabilidade da fitase reduziu em 5% para aquela que ficou armazenada em temperatura ambiente e 25% para a que foi misturada ao suplemento mineral ou vitamínico.

De acordo com SIMON et al. (1990), a atividade da fitase foi mantida em 96% em relação à inicial, quando as rações foram processadas a 50°C de condicionamento e 78°C de peletização. Entretanto, quando ambas foram elevadas para 60°C e 87°C, respectivamente, a atividade enzimática diminuiu 46% em relação à inicial.

A utilização da enzima fitase depende de um estudo econômico, que deve levar em consideração a relação custo-benefício. Além disso, deve-se considerar a questão da preservação do meio ambiente, não menos importante, porém bem mais difícil de ser incluída nos cálculos econômicos (SAYLOR, 2001).

2.3 - Proteína na alimentação de poedeiras comerciais

A proteína é um nutriente muito importante, pois ela desempenha várias funções no organismo, tais como: formação e manutenção dos tecidos, hormônios e enzimas, atua como fonte secundária de energia, transporta e armazena gordura e minerais, auxilia na pressão osmótica, participa da formação de espermatozóides e ovos, e também no transporte de oxigênio (BERTECHINI, 1997).

Os aminoácidos sintéticos também são normalmente consideradas itens de grande importância econômica na fabricação de rações para a alimentação das aves, pois, quando em excesso na dieta, podem onerar consideravelmente os custos de produção.

Além do aspecto econômico, há crescente preocupação da sociedade com os aspectos relativos ao meio ambiente e à qualidade de vida, surgindo assim desafio a avicultura de postura, que consiste em formular rações com menores quantidades de proteína para diminuir a excreção de nitrogênio no ambiente, mas que não alterem o desempenho zootécnico das aves.

A composição corporal dos animais é afetada tanto pela quantidade quanto pela qualidade da proteína na ração, demonstrando que o aminoácido em menor proporção, comparado à sua exigência, denomina-se o primeiro limitante e restringe-se o valor da proteína. O ajuste dos níveis de aminoácidos pode trazer ganhos produtivos e econômicos importantes, obtidos com a melhoria do desempenho.

A formulação de rações para aves, durante muitos anos, foi baseada no conceito de proteína bruta (quantidade de nitrogênio x 6,25), resultando em dietas com níveis de aminoácidos acima das exigências dos animais, ocasionando aumento na excreção de nitrogênio. Atualmente, com a disponibilidade de aminoácidos sintéticos a preços acessíveis, as rações passaram a ser formuladas com níveis de aminoácidos mais

próximos às necessidades das aves, reduzindo o nível de proteína bruta das rações. Isto é bem visto pelos ambientalistas, já que apenas 45% do nitrogênio consumido pelas aves são retidos como proteína animal. Portanto, 55% do nitrogênio ingerido é excretado, contribuindo para aumentar a poluição ambiental (SILVA et al., 2006).

Em média, a suplementação de aminoácidos nas dietas de aves e suínos, reduz a excreção de nitrogênio em 8,5% por unidade percentual de proteína bruta reduzida na dieta, já que os aminoácidos sintéticos são quase 100% aproveitados pelo animal.

Além disso, o alto nível de proteína bruta da ração proporciona maior carga de calor a ser dissipado, podendo comprometer o desempenho das poedeiras comerciais criadas em situações de temperaturas elevadas.

Por outro lado, BAKER (1993) afirma que ocorre aumento no consumo alimentar em rações com baixos níveis de proteína bruta. Entretanto, se o nível protéico for exageradamente baixo ou alto, a ave terá melhor consumo em nível intermediário (DUKE, 1996).

As exigências protéicas de galinhas poedeiras estão condicionadas principalmente à produção e peso dos ovos, manutenção, crescimento de tecidos corporais e nível de empenamento.

A partir da manipulação dos níveis protéicos e de aminoácidos da dieta, pode-se alterar o tamanho dos ovos para possivelmente reduzir os problemas de qualidade de casca verificados no final do primeiro e do segundo períodos de produção e, conseqüentemente, reduzir proporcionalmente o número de ovos tipo jumbo e extra-grandes, que apresentam maior incidência de problemas de casca e maior índice de quebras.

Grande parte dos ovos produzidos no final do primeiro período de produção apresenta problemas de qualidade da casca, decorrentes, principalmente, do aumento do peso dos ovos, que não é acompanhado por aumento correspondente na espessura da casca, tornando-a mais delgada e menos resistente à quebra, o que causa prejuízos econômicos consideráveis em todos os segmentos da produção e comercialização. Estima-se que as perdas causadas por ovos de má qualidade de casca variam de 6 a 8% (SISKE, 2000).

Três experimentos foram realizados por HARMS & RUSSELL (1993) para avaliar a suplementação de aminoácidos em dietas com baixo valor protéico. Os autores verificaram que o desempenho das aves nos três experimentos foi prejudicado quando as aves receberam dietas com baixo teor protéico sem suplementação de aminoácidos, mas quando as dietas foram suplementadas com aminoácidos recuperam o desempenho, igualando com os resultados das dietas controle.

MELUZZI et. al (2000) estudando a retenção de nitrogênio com poedeiras semipesadas com 24 semanas de idade ingerindo dietas com diferentes níveis de proteína bruta (17, 15 e 13%) e concentrações constantes de aminoácidos e energia durante 16 semanas, observaram que até a oitava semana de experimentação o peso e a produção de ovos foram similares para todos os tratamentos. A partir da nona semana, as galinhas que receberam 15% de proteína bruta na ração produziram ovos mais pesados, com uma ligeira queda na deposição de massa de ovos.

Portanto, a maior eficiência da utilização da proteína e de aminoácidos pelas aves pode proporcionar o suprimento adequado às suas exigências nutricionais, podendo regular o tamanho dos ovos e reduzir os efeitos da poluição ambiental pela redução da excreção de nitrogênio, além da possibilidade de redução nos custos de produção.

2.4 - Influência da suplementação da enzima fitase sobre a utilização da proteína

A existência do complexo fitato - proteína foi observado primeiramente em extrato de semente de algodão (JONES & CSONKA, 1925). Admite-se que o fitato interage com proteínas para formar dois complexos diferentes, dependendo do pH (ANDERSON, 1985).

Os complexos binários (proteína – fitato) são formados abaixo do ponto isoelétrico das proteínas (pH entre 5 e 6), no qual o fitato interage com o grupo terminal NH_2 e os grupos laterais de aminoácidos básicos, que incluem a lisina, a arginina e a histidina. Assim, uma forte atração eletrostática entre fitatos carregada negativamente e proteínas positivamente, resultam na formação dos complexos proteínas – fitato (COSGROVE, 1966).

Outros complexos que podem ser formados são os ternários (proteína – fitato – mineral), formados no intestino delgado dos animais na presença de cátions bivalentes, particularmente o Ca^{2+} . No entanto, a concentração de Ca poderá afetar a formação desses ternários, pois o excesso de Ca levará à formação do complexo Ca – fitato, que são altamente insolúveis e de baixa digestibilidade (GIFFORD & CLYDESDALE, 1990).

O complexo fitato - proteína pode estar presente em ingredientes de origem vegetal, mas a maioria deles desses complexos são formados novamente no trato gastrointestinal. Além disso, o fitato interage com enzimas digestivas e outros substratos, podendo reduzir a eficácia dessas enzimas, levando a diminuição da digestão da proteína da dieta e aumento da perda endógena de aminoácidos. Entretanto, as propriedades anti-nutricionais do fitato são amenizadas pela enzima fitase.

A possibilidade do fitato inibir a proteólise por alterar a configuração das enzimas digestivas são sugeridas por SINGH & KRIKORIAN (1982), ao reportarem que o fitato de sódio reduziu a digestão “in vitro” de caseína em até 46%, quando a tripsina foi incubada com fitato. Postulou-se que o fitato pode complexar com tripsina via Ca formando um complexo ternário, inibindo a atividade de tripsina. Contudo, o pâncreas teve a capacidade de compensar o baixo nível de tripsina aumentando a liberação de tripsinogênio em resposta aos mecanismos de feed back negativos.

As primeiras pesquisas indicando o efeito positivo da fitase microbiana sobre a disponibilidade da proteína em aves foram realizadas por VAN DER KLIS & VERSTEEGH em 1991. Eles encontraram que a adição de fitase nas dietas de galinhas poedeiras resultou em pequeno, mas significativo, aumento da digestibilidade ileal aparente de nitrogênio.

O ensaio de digestibilidade aparente ileal tornou-se a técnica preferida para a estimativa da disponibilidade de proteína, principalmente em virtude da possibilidade dos valores poderem ser aplicados diretamente para a ave e todos os aminoácidos serem avaliada em um ensaio. Entretanto, as avaliações de digestibilidade de aminoácido são realizadas no íleo, devido à influência que poderá ocorrer da fermentação microbiana sobre a proteína no intestino de aves e suínos.

Vários estudos têm avaliado a suplementação de fitase em dietas de aves à base de milho e soja, na qual SEBASTIAN et al. (1997) reportaram que a suplementação de fitase aumentou a digestibilidade de muitos aminoácidos em dietas de frangos de corte fêmeas, enquanto a fitase tendeu a apresentar efeito negativo em frangos de corte machos. A razão deste aparente efeito do sexo é desconhecido, mas resultados de outros estudos estão em contradição com esses resultados, como os relatos de BIEHL & BAKER (1996) que adicionando 1200 FTU de fitase/kg aumentou a digestibilidade verdadeira de aminoácidos em 2% utilizando galos cecectomizados, sendo que o maior aumento ocorreu para treonina, cistina, lisina, arginina e serina.

Semelhantemente, RAVINDRAN et al. (2000a) ao examinarem os efeitos da suplementação de fitase sobre a digestibilidade de aminoácidos em dietas de frangos de corte à base de trigo e sorgo com dois níveis de fósforo disponível, encontraram que a fitase aumentou a digestibilidade dos aminoácidos essenciais, porém os efeitos foram mais pronunciados com a dieta de baixa proteína.

Através destes achados, foi verificado que 1000 FTU/kg de fitase na dieta aumentou a digestibilidade dos aminoácidos em 5% e a suplementação de 500 FTU/kg em dietas com níveis adequados de lisina aumentou em níveis menos expressivos. Além da dosagem de fitase, os ingredientes da dieta também podem modificar a resposta da suplementação de fitase sobre a disponibilidade de nutrientes. Essa variação pode ser um reflexo parcial da solubilidade em pH ácido, em que fitatos solúveis serão mais facilmente hidrolisados por fitase.

2. 5- Impacto ambiental causado pela avicultura de postura

O avanço tecnológico alcançado na avicultura nos últimos 30 anos caracterizou-se pela implantação de sistemas de exploração em confinamento total e em altas densidades, gerando um volume considerável de dejetos que podem contaminar o meio ambiente em decorrência dos níveis de nitrogênio, fósforo e microminerais que estão presentes nas excretas das aves. O tratamento adequado e o destino para esses dejetos têm sido uma preocupação para técnicos, produtores e pesquisadores, que buscam soluções que possibilitem reduzir o impacto ambiental desses resíduos.

No Brasil, duas leis (Crimes Ambientais e Gerenciamento dos Recursos Hídricos) regulam o controle da poluição no meio urbano e rural e estabelecem métodos de fiscalização das bacias hidrográficas, abrindo espaço para atuação do Ministério Público no controle dos impactos ambientais, o que tem causado interdição de algumas granjas e o impedimento de seu funcionamento.

A cama de frango foi por muito tempo fornecida para ruminantes, como fonte de minerais e fibra. Entretanto, devido aos problemas sanitários ocorridos na Europa, como o mal da vaca louca (Encefalopatia Espongiforme Bovina), o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil publicou a Instrução Normativa nº15, de julho de 2001, proibindo o uso da cama de frango na composição da ração de ruminantes, com o objetivo de evitar contaminações no rebanho bovino brasileiro. A princípio, o que se teme não é a presença de carcaças de frangos e sim que restos de ração contendo farinha de carne sejam consumidas pelos ruminantes.

Atualmente, o destino dos dejetos avícolas é seu uso como fertilizantes. Se aplicados corretamente produzem resultados eficientes, mas, se a taxa de aplicação superar a capacidade de retenção do solo e as exigências da cultura que está sendo adubada pode levar a altas concentrações de elementos tóxicos aos vegetais, reduzir a disponibilidade de fósforo, destruir os recursos hídricos ou levar à formação de nitritos e nitratos, elementos estes, cancerígenos.

Desta forma, a preocupação em relação ao meio ambiente tem levado todos os setores produtivos a buscar alternativas que possibilitem um menor impacto ambiental proveniente dos dejetos das aves. Uma alternativa encontrada pelos nutricionistas é no sentido de manipular nutricionalmente a dieta, por meio do fornecimento de dietas mais balanceadas, ingredientes de alta biodisponibilidade e uso de enzimas em rações com o intuito de melhorar a eficiência de utilização pelas aves dos nutrientes contidos nos alimentos. Entretanto, para o aproveitamento de um resíduo, deve-se levar em consideração, em primeiro lugar, a sua quantificação e qualificação do mesmo.

Os principais componentes presentes nas excretas das aves, que fornecem nutrientes para o crescimento das plantas, são ao mesmo tempo os que causam

contaminação de águas subterrâneas e de superfície e incluem o nitrogênio e o fósforo (BLAKE, 1996).

O nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes, tanto para as plantas quanto para os microorganismos. Enquanto o seu uso intensivo na agricultura moderna, na forma de fertilizantes, é extremamente necessário, uma série de impactos ambientais potencialmente sérios tem sido mostrado no ecossistema e nos solos, como a contaminação dos lençóis freáticos, eutrofização das águas superficiais, chuva ácida, diminuição da camada de ozônio e mudança no clima global. Além disso, a contaminação de águas subterrâneas com nitrato (NO_3^-) é prejudicial principalmente para crianças, pois ele é reduzido a nitrito (NO_2^-) que ligado à hemoglobina, diminui o transporte de oxigênio, condição conhecida como metemoglobina.

A maior parte do nitrogênio excretado pelas aves não é oriundo da sua indisponibilidade por complexação ao ácido fítico, como o fósforo, mas provém de dietas formuladas com altos níveis de proteína bruta.

O fósforo, além de estar relacionado a problemas econômicos, também está relacionado a problemas ambientais, pois onde são aplicados frequentemente esterco de aves como adubo, a concentração de fósforo no solo pode ultrapassar o nível máximo necessário ao desenvolvimento de plantas, tornando-se um contaminante parcial de rios e lagos à medida que a capacidade de absorção de fósforo pelas partículas do solo se torna saturada. Assim, quando ocorre uma chuva, esse elemento pode ser lixiviado.

O fósforo não tem importância sobre o aspecto sanitário para as águas de abastecimento público, entretanto, ao atingir a superfície das águas, ele estimula o crescimento das algas, processo chamado de eutrofização, depois, com a morte e deteriorização das algas, ocorre uma diminuição na qualidade de oxigênio da água, criando um meio inadequado para os peixes e outros animais aquáticos, deixando a água ainda com odor e sabor indesejável (MACEDO, 2001).

Com a adição de fósforo inorgânico na ração, grande quantidade do fósforo consumido é eliminado nas excretas. Desse modo, reduzir a suplementação de fósforo inorgânico e aumentar o uso do fósforo fítico pela ave, através do uso da enzima fitase,

proporciona redução significativa dos custos de alimentação e proporciona diminuição de 25% do fósforo excretado pelas poedeiras comerciais para cada 0,1% de fósforo não fítico reduzido na dieta (BALANDER e FLEGAL, 1997).

Ao avaliar os efeitos de diferentes fontes de fósforo em rações formuladas com fitase, CASARTELLI et al. (2005) verificaram que a suplementação dessa enzima em rações de poedeiras comerciais promoveu significativa redução de alguns nutrientes nas excretas das aves, como fósforo, cálcio e nitrogênio. Diante disso, percebe-se que os efeitos antinutricionais do fitato não se restringem apenas à indisponibilidade de macro e micro minerais. Os grupos fosfato do ácido fítico podem formar associações eletrostáticas com o grupo amina das proteínas e aminoácidos (CHERYAN, 1980).

Além dos complexos fitato-proteína existentes nos ingredientes de origem vegetal, nas regiões mais ácidas do trato gastrintestinal, como no estômago, os aminoácidos, particularmente a lisina, metionina, arginina e histidina, são complexados ao fitato, formando um complexo fitato-proteína. Nas regiões menos ácidas, por sua vez, cátions complexados com o fitato, como o cálcio, magnésio, zinco e ferro, atuarão como uma ponte entre o fitato e a proteína, resultando em um complexo proteína-mineral-fitato. Em teoria, a proteína desses complexos pode ser menos susceptível à atividade da protease no trato gastrintestinal (MAENZ, 2001), já que o fitato pode inibir a ação da tripsina (CALDWELL, 1992).

Ao avaliar os efeitos da enzima fitase na digestibilidade de aminoácidos de poedeiras comerciais em segundo período de postura, SNOW et al. (2003) não verificaram efeitos significativos da fitase sobre as características de digestibilidade de nenhum dos aminoácidos estudados.

Com o objetivo de determinar o impacto da redução da proteína bruta e do fósforo disponível sobre a excreção de nutrientes de poedeiras comerciais com 36 semanas de idade, KESHAVARZ & AUSTIC (2004) desenvolveram dois experimentos onde formularam rações com diferentes níveis de proteína bruta suplementadas com aminoácidos sintéticos e fitase. O experimento de digestibilidade indicou que a excreção total de fósforo e nitrogênio do tratamento negativo (0,2% P não fítico) formulado com 13% de proteína bruta e suplementado com aminoácidos limitantes

(lisina, metionina e triptofano) e fitase reduziu, respectivamente, em 48 e 45% a excreção desses minerais pelas aves, quando comparado ao tratamento controle.

Estudando a excreção de nitrogênio por galinhas poedeiras alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta na dieta, SUMMERS (1993) observou que redução do nível de proteína de 17 para 13% não ocasionou reduções significativas na massa de ovos (41,66 vs 39,85 g) mostrando um possível aumento na utilização da proteína e revelando um aspecto positivo pela redução da excreção de nitrogênio para o meio ambiente.

Nesse sentido, estudos revelaram que a redução do nível de proteína bruta da dieta de 17% para 14% reduz a excreção de nitrogênio de 2 g/ave/dia para 1,5 g/ave/dia, o que em um plantel de 1 milhão de poedeiras representa uma redução anual de 200 toneladas de nitrogênio (LEESON & SUMMERS, 2001).

III – OBJETIVO

Este experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar a inclusão da enzima fitase e níveis decrescentes de proteína bruta sobre o desempenho e qualidade dos ovos de galinhas poedeiras, visando à diminuição do impacto ambiental.

IV – MATERIAL E MÉTODOS

4.1 – Instalações, aves e delineamento experimental

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/Unesp), Campus de Jaboticabal, durante o período de 21 de maio a 24 de outubro de 2008.

As aves foram alojadas em galpão convencional de postura de 3 m de largura e 2 m de pé-direito, coberto com telhas francesas, compostos internamente por gaiolas de arame galvanizado com quatro compartimentos de 25 x 40 x 40 cm, distribuídas lateralmente em dois andares, distantes 0,80 m do piso, providas de bebedouros do com copo de plástico e comedouros metálicos percorrendo toda a extensão frontal das gaiolas (Figura 2).



Figura 2 – Galpão experimental com os respectivos equipamentos.

As aves foram selecionadas de acordo com o peso corporal e a produção de ovos durante duas semanas, para posterior uniformização do lote e equalização das parcelas, com as aves recebendo uma dieta única

Foram utilizadas 336 poedeiras semi- pesadas da linhagem Isa Brown (Figura 3), de 24 a 44 semanas de idade, durante cinco períodos de produção de 28 dias cada. As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado e em esquema fatorial 3 x 2, sendo os fatores proteína bruta e fitase, perfazendo seis tratamentos e sete repetições de oito aves em cada parcela.

Os tratamentos consistiram de três níveis de proteína bruta, com e sem adição da enzima fitase, compondo os seguintes tratamentos:

- 1º - 17% PB sem adição da enzima fitase;
- 2º - 17% PB com adição de 500 FTU/kg ração da enzima fitase;
- 3º - 15% PB sem adição da enzima fitase;
- 4º - 15% PB com adição de 500 FTU/kg ração da enzima fitase;
- 5º - 13% PB sem adição da enzima fitase;
- 6º - 13% PB com adição de 500 FTU/kg ração da enzima fitase.



Figura 3 – Poedeiras comerciais semi - pesadas da linhagem Isa Brown.

4.2 – Rações experimentais

Durante os cinco períodos de produção, as aves receberam água e ração à vontade, sob o regime de iluminação de 17 horas de luz por dia, somando-se a luz natural e artificial.

As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, para atenderem às exigências nutricionais de acordo com as recomendações de ROSTAGNO et al. (2005), sendo isocálcicas (4,2% Ca), isofosfóricas (0,375% Pd) e isoenergéticas (2.900 kcal EM/kg), como demonstrado na Tabela 1.

As rações com níveis reduzidos de proteína foram suplementadas com fontes industriais de lisina (L-lisina HCl = 78,4%), metionina (DL-metionina = 98%), treonina (L-treonina) e triptofano (L- triptofano).

Cada ração foi fornecida em quantidade suficiente para proporcionar consumo médio de 110 g/ave/dia, correspondendo à ingestão de 319 kcal/ave/dia, suficiente para atender os requerimentos de manutenção e de produção, segundo o modelo de predição de equação descrito por ROSTAGNO et al. (2005), considerando-se 1,75 kg como peso vivo médio das aves, 1 g de ganho de peso diário, 60 g de peso do ovo, 53 g de massa de ovos produzida e 25°C de temperatura ambiente média. Assim, procurou-se eliminar o efeito da qualidade das rações sobre o consumo das aves, de modo que os tratamentos fossem comparados em uma mesma base de consumo de energia.

Foi utilizada a enzima fitase, obtida por intermédio da fermentação com fungos da espécie *Aspergillus niger*, contendo atividade declarada pelo fabricante de 10.000 FTU/g da enzima. A matriz nutricional da fitase utilizada apresenta 2.959% de proteína bruta (158% de lisina, 53% de metionina+cistina e 171% de treonina), 697.056 kcal/kg de energia metabolizável aparente, 2.192% de cálcio e 2.521% de fósforo disponível.

Tabela 1 – Ingredientes utilizados e composição nutricional das rações experimentais.

Ingredientes	Rações experimentais					
	17% PB s/ fitase	17% PB c/ fitase	15% PB s/ fitase	15% PB c/ fitase	13% PB s/ fitase	13% PB c/ fitase
Milho moído	56,767	59,303	63,053	65,561	69,132	71,634
Farelo de soja	26,831	25,861	21,264	20,299	15,735	14,772
Óleo de soja	4,248	3,528	3,285	2,574	2,390	1,682
Calcário	9,806	9,976	9,829	9,999	9,852	10,022
Fosfato bicálcico	1,432	0,409	1,474	0,450	1,516	0,492
Sal	0,498	0,498	0,506	0,507	0,515	0,515
Suplemento vitamínico e mineral ¹	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
DL –Metionina (98%)	0,191	0,190	0,241	0,241	0,292	0,292
L-Lisina HCl (78,4%)	0,000	0,000	0,090	0,103	0,275	0,288
L-Triptofano	0,027	0,029	0,058	0,060	0,089	0,092
L-Treonina	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,007
Fitase ²	0,000	0,005	0,000	0,005	0,000	0,005
TOTAL	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
Níveis calculados						
Energia Met. (kcal/kg)	2,900	2,900	2,900	2,900	2,900	2,900
Proteína bruta (%)	17,000	17,000	15,000	15,000	13,000	13,000
Nitrogênio (%)	2,753	2,716	2,453	2,419	2,167	2,133
Cálcio (%)	4,200	4,200	4,200	4,200	4,200	4,200
Fósforo total (%)	0,584	0,393	0,572	0,380	0,559	0,377
Fósforo disponível (%)	0,375	0,375	0,375	0,375	0,375	0,375
Sódio (%)	0,230	0,230	0,230	0,230	0,230	0,230
Lisina (%)	0,907	0,885	0,834	0,823	0,836	0,825
Lisina dig. (%)	0,875	0,864	0,800	0,800	0,800	0,800
Metionina (%)	0,460	0,457	0,484	0,482	0,509	0,507
Metionina dig. (%)	0,446	0,445	0,471	0,467	0,496	0,495
Metionina+cistina (%)	0,758	0,752	0,757	0,753	0,756	0,752
Metionina+cistina dig. (%)	0,740	0,740	0,740	0,740	0,740	0,740
Treonina (%)	0,662	0,653	0,584	0,576	0,510	0,505
Treonina dig. (%)	0,577	0,582	0,507	0,511	0,440	0,448
Triptofano (%)	0,197	0,193	0,194	0,190	0,190	0,187
Triptofano dig. (%)	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180
Valina (%)	0,807	0,796	0,712	0,619	0,616	0,606
Valina dig. (%)	0,715	0,705	0,629	0,700	0,544	0,534
Isoleucina (%)	0,728	0,715	0,629	0,616	0,531	0,518
Isoleucina dig. (%)	0,663	0,663	0,572	0,572	0,482	0,482
Fenilalanina (%)	0,227	0,237	0,252	0,262	0,277	0,287
Fenilalanina dig. (%)	0,209	0,218	0,232	0,241	0,254	0,264
Arginina (%)	1,079	1,057	0,922	0,899	0,766	0,744
Arginina dig. (%)	1,035	1,014	0,885	0,863	0,735	0,714

¹ Enriquecido por quilograma de ração: vitamina A – 6.250 UI; vitamina D₃ – 2.500 UI; vitamina E – 13 mg; vitamina K₃ – 1mg; vitamina B₁ – 1,5 mg; vitamina B₂ – 3,4 mg; vitamina B₆ – 1mg; vitamina B₁₂ – 20 mg; ácido fólico – 0,25 mg; ácido pantotênico 2,85 mg; niacina – 10 mg; biotina – 0,1mg; colina – 0,24mg; cobre – 7,5 mg; zinco – 60 mg; manganês – 46 mg; iodo – 1mg; selênio – 0,2 mg; antioxidante - 0,4mg. ² Natuphos® da empresa BASF.

4.3 - Características avaliados

4.3.1 - Desempenho

Registrou-se diariamente o número de ovos produzidos, incluindo os trincados, quebrados e anormais em relação ao número de poedeiras de cada parcela.

No início e no final de cada período, pesou-se, por parcela, as rações fornecidas e as sobras dos comedouros e dos baldes, afim de quantificar a ração consumida pela ave por dia.

A conversão alimentar por quilograma de massa de ovos foi calculada mediante a divisão do consumo médio de ração pela massa média de ovos e a conversão alimentar por dúzia de ovos foi calculada através da divisão do consumo médio de ração pelo número de ovos produzidos em cada período.

O peso dos ovos correspondeu à média do peso dos ovos produzidos nos últimos dois dias de cada período e a massa de ovos, ao produto da percentagem de ovos produzidos e o peso médio dos ovos.

4.3.2 - Qualidade dos ovos

Os características relativos à qualidade dos ovos foram avaliados durante os dois últimos dias de cada período.

Conforme sugerido por VOISEY & HUNT (1974), a gravidade específica foi medida logo após a postura do ovo, sendo os ovos trincados descartados. O método usado para avaliar a gravidade específica dos ovos baseia-se no princípio da flutuação, assim os ovos foram imersos em recipientes contendo soluções de NaCl em ordem crescente de densidade (1,065 a 1,100) com aumento de 0,005 (Figura 4). Considerou-se a densidade do ovo a solução de menor densidade em que o ovo flutuou (HAMILTON,1982).

Os três ovos mais homogêneos entre si de cada parcela foram usados para determinação da qualidade interna.

Após passarem pela gravidade específica, os ovos foram quebrados e seu conteúdo (clara + gema) colocado numa superfície plana e nivelada. Mediu-se então a

altura do albúmen, por meio da leitura do valor indicado pelo micrômetro tripé modelo AMES S-6428 (Figura 5).



Figura 4 – Avaliação da densidade dos ovos em diferentes soluções salinas.



Figura 5 - Medição da altura (mm) do albúmen (A) e da gema (B) utilizando micrômetro tripé.

De posse dos valores do peso do ovo e da altura da clara espessa utilizou-se a fórmula descrita por PARDI (1977) para o cálculo da unidade Haugh (UH):

$$UH = 100 \log (h + 7,57 - 1,7 W^{0,37})$$

h = altura da clara espessa (mm); W = peso do ovo (g)

Quanto maior o valor da UH, melhor será a qualidade dos ovos, que são classificados segundo USDA Egg-Grading Manual (2000) em ovos tipo AA (100 até 72), A (71 até 60), B (59 até 30), C (29 até 0).

Após a medida da altura do albúmen, mediu-se, com o mesmo micrômetro, a altura da gema (Figura 5). Em seguida, foi medido o diâmetro da gema utilizando-se um paquímetro digital (Figura 6). A partir desses valores, o índice de gema foi obtido dividindo-se a altura da gema pelo valor do seu respectivo diâmetro, sendo considerados normais, valores entre 0,3 a 0,5.

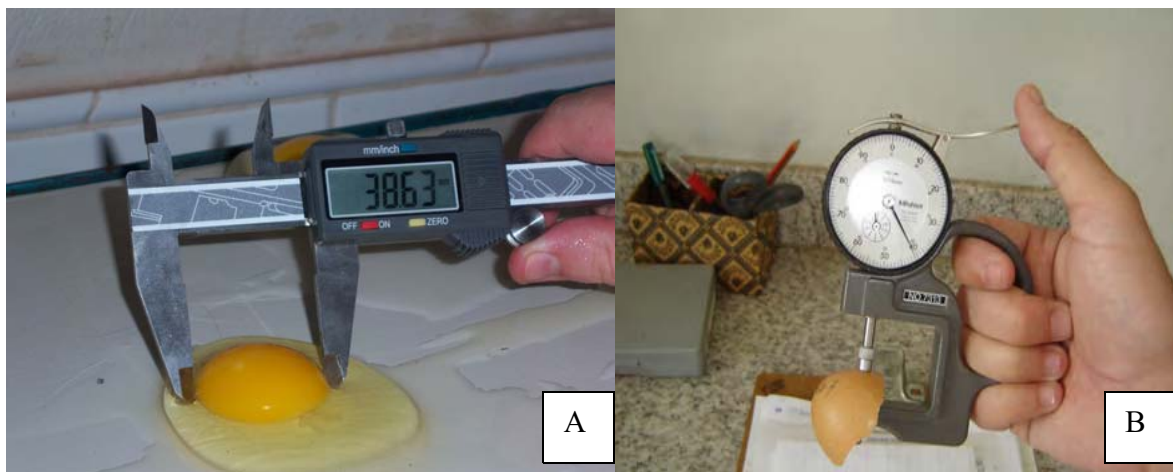


Figura 6 - Medição do diâmetro (mm) da gema utilizando paquímetro digital (A) e da espessura (mm) da casca utilizando um micrômetro (B).

Em seguida, foram realizadas pesagens da gema e da clara de cada ovo quebrado, para obtenção das percentagens de gema e albúmen, calculadas pela divisão das partes pelo peso do ovo e multiplicadas por 100.

As cascas foram cuidadosamente lavadas em água corrente para a retirada dos restos de albúmen que ainda permaneciam em seu interior. Depois de lavadas, as cascas foram colocadas em um suporte e deixadas para secar à temperatura ambiente. Depois de devidamente secas, sem a remoção das membranas internas, as cascas foram pesadas, para a obtenção da percentagem de casca como descrito anteriormente e medidas com um micrômetro de precisão (divisões de 0,01mm) em três pontos distintos na área centro-transversal para determinar sua espessura (Figura 6).

4.3.3 – Excreção de nitrogênio e fósforo

Ao final do experimento, quatro repetições de quatro aves cada, foram transferidas para gaiolas de metabolismo, adaptadas com bandejas de ferro galvanizadas cobertas com plástico sob as gaiolas experimentais para coleta de excretas.

Para a constituição do ensaio, as aves passaram por um período de adaptação de três dias e outros quatro dias foram destinados para as coletas. As rações utilizadas foram as mesmas do experimento.

Adicionou-se 1,0% de óxido férrico nas rações de cada parcela, no primeiro e no último dia de coleta, com finalidade de marcar o início e o término do período de coleta (Figura 7).

As excretas coletadas foram armazenadas em congelador a -10°C até o final do ensaio, quando foram descongeladas, devidamente homogeneizadas por parcela, pesadas e colocadas em estufa ventiladas por 72 horas a 55°C, para ser efetuada a pré-secagem. Posteriormente, foram expostas ao ar, para entrar em equilíbrio com a temperatura e umidade ambiente, em seguida foram pesadas, moídas e acondicionadas para as análises posteriores.

As análises foram realizadas na Empresa FATEC, no qual o teor de nitrogênio foi determinado pelo método de Micro-Kjeldahl (AOAC, 1984). Os teores de fósforo e cálcio foram calculados depois que as amostras foram submetidas à digestão nitroperclórica, obtendo-se substratos para determinação dos minerais. Os teores de cálcio foram estimados por absorção atômica e o de fósforo, pela técnica colorimétrica,

segundo metodologia descrita por MASSAHUD (1997). Assim sendo, avaliou-se a percentagem de excreção de nitrogênio, fósforo, cálcio e matéria seca.



Figura 7 – Coleta de excretas das aves no galpão experimental.

4.3.4 – Análise econômica

O custo das rações foi determinado considerando-se a composição das rações e a média dos preços dos ingredientes obtidos entre maio e setembro de 2008 (Tabela 2).

Tabela 2 – Custo (R\$/kg) dos ingredientes das rações experimentais.

Ingredientes	Custo (R\$/Kg)
Milho grão	0,30
Farelo de soja	0,82
Óleo de soja	2,45
Calcário	0,15
Fosfato bicálcico	1,65
Sal	0,30
Complexo vitamínico mineral	5,80
DL –Metionina (98%)	5,10
L-Lisina HCl (78%)	4,80
L-Triptofano	80,00
L-Treonina	8,00
Fitase	75,00

Para os custos de produção foi considerado apenas o custo com a ração, uma vez que todos os outros custos foram os mesmos para todos os tratamentos experimentais. O custo da ração para produzir uma dúzia de ovos ou um quilograma de ovos, foi determinado levando-se em conta a quantidade de ração necessária para a produção de uma dúzia ou de um quilograma de ovos e o preço por quilograma de ração.

4.4 - Análises estatísticas e modelo experimental

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (Tabela 3)

Tabela 3 - Esquema da análise de variância:

Fontes de variação	Graus de liberdade
Proteína Bruta (PB)	2
Fitase (F)	1
Interação PB x F	2
Tratamentos	5
Resíduo	36
Total	46

utilizando o procedimento *General Linear Model* (GLM) do SAS® (2002). Os níveis de proteína bruta foram estimados por intermédio dos modelos de regressão polinomial.

Modelo matemático:

$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha \cdot \beta)_{ij} + (\alpha \cdot \beta)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$, em que:

Y_{ijkl} = variáveis dependentes

μ = média

α_i = efeito dos níveis de proteína bruta (1...3);

β_j = efeito da inclusão de fitase (1...2);

i = repetições;

$(\alpha \cdot \beta)_{ij}$ = efeito da interação entre os níveis de proteína bruta e da inclusão de fitase;

ε_{ijkl} = erro experimental aleatório;

V- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 – Desempenho

Não houve influência ($P > 0,05$) dos níveis de PB e da interação entre os níveis de PB e fitase sobre o consumo de ração das poedeiras durante todo o período experimental. Entretanto, houve tendência de menor consumo quando foi adicionado fitase na ração durante os quatro primeiros períodos de produção, ocorrendo diferença significativa no 5º período de produção e na média dos cinco períodos avaliados (Tabela 4).

Tabela 4 – Consumo de ração (g/ave/dia) de galinhas poedeiras alimentadas com níveis de proteína bruta na ração, com ou sem inclusão da enzima fitase durante cinco períodos de produção (24 a 44 semanas de idade).

Tratamentos	1º período	2º período	3º período	4º período	5º período	Média
Níveis de Proteína Bruta (%)						
17	97,95	98,45	92,13	92,31	91,84	94,53
15	96,57	93,64	90,55	91,35	93,19	93,26
13	99,08	96,13	88,19	89,03	89,85	92,08
Inclusão de Fitase						
Sem fitase	99,60	97,5	92,13	92,16	94,71	95,33
Com fitase	96,06	93,92	88,39	89,58	88,25	91,29
Nível de Significância						
PB	NS	NS	NS	NS	NS	NS
F	NS	NS	NS	NS	*	*
Interação PB x F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV (%)	6,40	7,36	7,78	7,76	10,18	6,42

NS = não significativo ($P > 0,05$).

* = significativo ($P > 0,05$).

Contrapondo esses resultados, ASSUENA (2007) verificou maior consumo de ração para as galinhas que receberam 600 FTU de fitase/kg de ração, quando comparado à 0 e 300 FTU/kg de ração. Fato que pode ser em virtude da menor

disponibilização de energia do que a considerada na formulação das dietas quando valorizada a matriz fítica, no qual as aves apresentaram maior consumo de ração para satisfazer suas exigências de fósforo e energia.

Por outro lado, BORRMANN et al. (2001) relataram que a fitase aumentou o consumo de ração somente nas galinhas alimentadas com baixo nível de fósforo disponível (0,1%), não obtendo efeito dos níveis mais elevados de fósforo disponível nas rações (0,3 e 0,4%) sobre o consumo das aves. Contudo, o nível de fósforo disponível utilizado neste estudo foi o mesmo (0,375%) para todos os tratamentos, evidenciando o efeito somente da enzima fitase sobre o consumo de ração, através da maior disponibilidade de nutrientes para as aves.

Em relação ao nível de PB da ração, os achados desse estudo discordam dos relatos de SILVA et al. (2006), ao afirmarem que rações contendo baixo nível de PB podem acarretar menor consumo de ração, em razão da ocorrência de uma deficiência efetiva de proteína. Mas, estão de acordo com SILVA et al. (2006) que também não observaram efeito do nível de proteína da ração (18, 16, 14 e 12%) sobre o consumo de ração de poedeiras Hisex White de 48 a 56 semanas de idade e com RIZZO et al. (2004) que concluíram que rações 14% de proteína garantem desempenhos satisfatórios em poedeiras leves.

Assim, sugere – se que o nível de 13% de proteína bruta, suplementada com os principais aminoácidos essenciais (metionina, lisina, treonina e triptofano) não compromete o consumo de ração de poedeiras comerciais semi-pesadas.

A produção de ovos diminuiu linearmente ($P < 0,05$) em todos os períodos estudados (Tabela 5 e Figura 8), de acordo com as equações demonstradas na Tabela 5.1, à medida que diminuiu o nível de proteína na ração. Da mesma forma ocorreu com a média da produção de ovos avaliada durante todo o período experimental (Tabela 5 e Figura 9).

Além disso, as rações com adição da fitase tenderam a menores valores de produção de ovos durante os cinco períodos de produção, sendo que no 4º e 5º período

Tabela 5 – Produção de ovos (%) de galinhas poedeiras alimentadas com níveis de proteína bruta na ração, com ou sem inclusão da enzima fitase durante cinco períodos de produção (24 a 44 semanas de idade).

Tratamentos	1º período	2º período	3º período	4º período	5º período	Média
Níveis de Proteína Bruta (%)						
17	92,80	90,98	85,39	85,36	85,96	88,10
15	91,53	82,48	82,24	84,65	82,84	84,75
13	90,60	82,47	74,65	71,28	71,79	78,16
Inclusão de Fitase						
Sem fitase	93,13	87,02	82,35	82,62	83,06	85,71
Com fitase	90,82	83,27	79,08	78,45	76,89	81,69
Nível de Significância						
PB	*L	*L	*L	*L	*L	*L
F	NS	NS	NS	*	*	*
Interação PB x F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV (%)	5,04	7,37	7,84	6,66	8,61	5,15

NS = não significativo (P > 0,05).

* = significativo (P < 0,05).

*L = regressão linear significativa (P < 0,05).

Tabela 5.1 – Equações de regressão da produção de ovos de poedeiras comerciais em relação aos níveis de proteína bruta da ração nos cinco períodos de produção.

Período de produção	Equações	R ²
1º	$y = 83,721 + 0,550x$	0,99
2º	$y = 53,829 + 2,101x$	0,75
3º	$y = 40,530 + 2,684x$	0,95
4º	$y = 27,723 + 3,521x$	0,79
5º	$y = 26,701 + 3,569x$	0,91

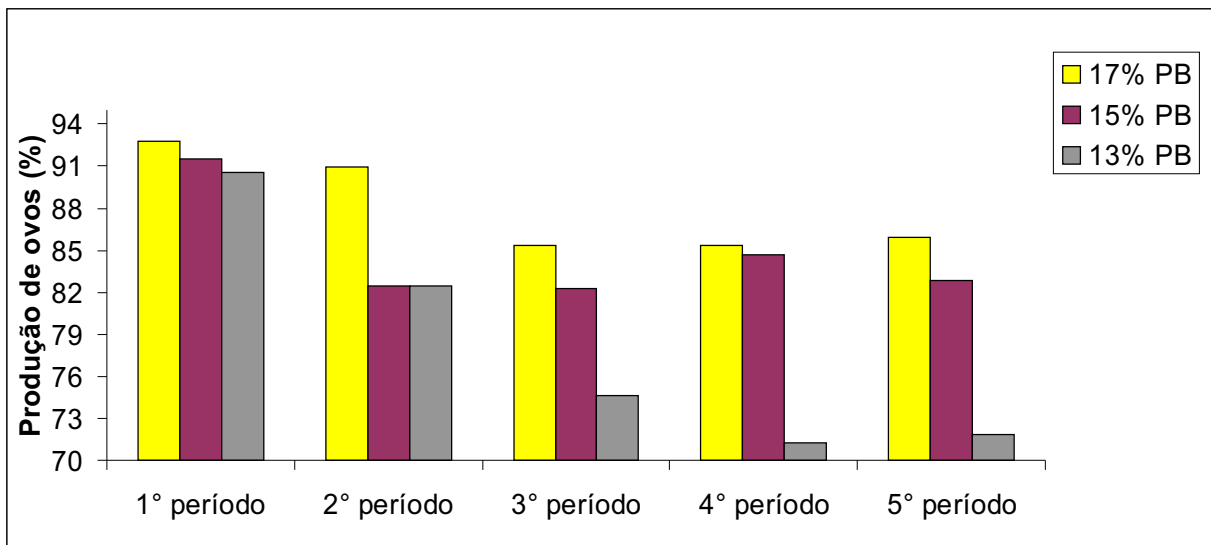


Figura 8 - Produção de ovos de poedeiras comerciais em relação aos níveis de proteína bruta da ração nos cinco períodos de produção.

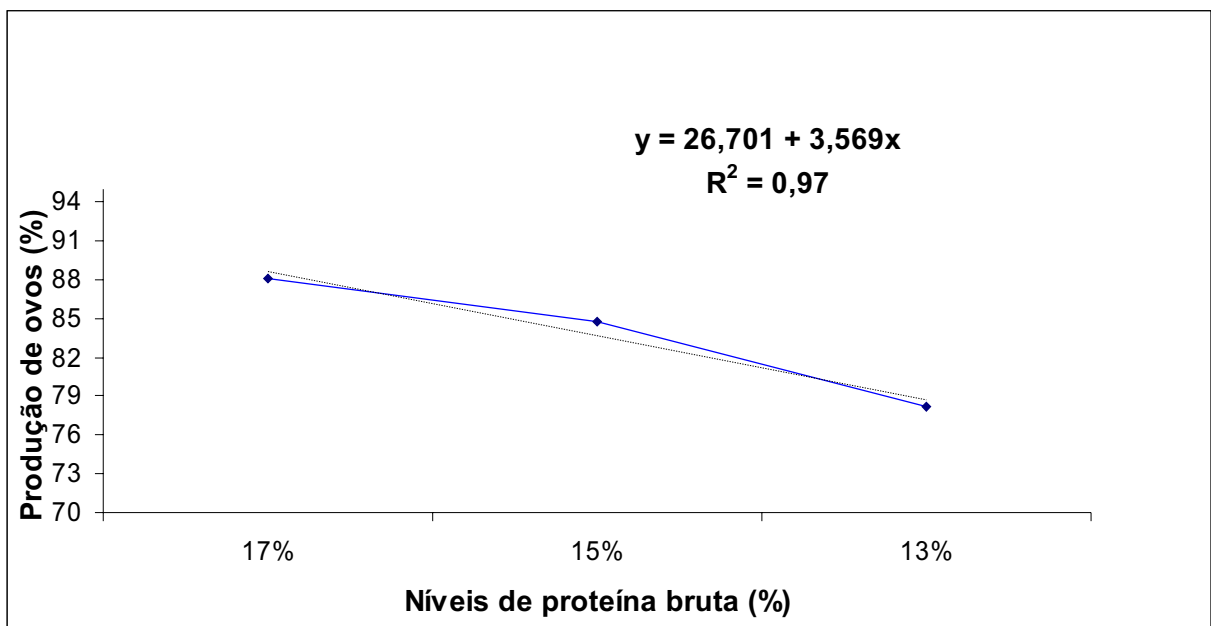


Figura 9 - Equação de regressão da média da produção de ovos de poedeiras comerciais de 24 a 44 semanas de idade em relação aos níveis de proteína bruta da ração.

e na média de todos os períodos, houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos com e sem a enzima fitase (Tabela 5). Entretanto, não houve interação entre as duas fontes de variação.

Ao analisar as médias da produção de ovos com 13, 15 e 17% de PB, com adição de fitase, foi observado que a baixa produção de ovos do tratamento que continha 13% de PB, induziu a média dos outros tratamentos (17 e 15 % de PB) a se apresentar inferior aos tratamentos sem adição de fitase.

Nesse caso, o baixo nível de PB da ração (13%) não pôde ser compensado pela adição de fitase, como ocorreu com poedeiras comerciais consumindo dietas com baixo nível de fósforo inorgânico suplementado com fitase e tiveram desempenho semelhante às aquelas que consumiram dietas com alto nível de fósforo inorgânico sem suplementação de fitase, como descrito por GORDON & ROLAND (1997).

Em comparação às aves do tratamento com 17% de PB, aquelas alimentadas com as dietas contendo 15 e 13 % de PB apresentaram, respectivamente, perdas de 3,8 e 11,3% na produção de ovos. Esse resultado pode ser em virtude do desbalanço aminoacídico e do antagonismo entre lisina e arginina. A diferença na composição da ração em relação ao nível de arginina pode justificar as divergências de resultados encontrados nos estudos de KOELKEBECK et al. (1993), que não registraram diferenças na produção de ovos ao compararem aves submetidas à dietas de elevado e de baixo teores protéicos.

Em termos de utilização de fitase, CASARTELLI et al. (2005) não encontraram diferença significativa ($P > 0,05$) da inclusão dessa enzima na dieta sobre a produção de ovos, divergindo deste estudo. Portanto, é importante salientar que nem sempre a suplementação de enzimas digestivas proporciona resposta positiva. Para uma enzima atuar, necessários se faz um substrato específico da dieta, uma dosagem correta de enzimas, a capacidade das enzimas em ultrapassar as barreiras encontradas no estômago e a temperatura a que a ração é submetida durante o processo de peletização.

Não houve interação significativa ($P > 0,05$) entre os níveis de PB e fitase da ração sobre a massa de ovos, mas houve efeito destas fontes de variação quando foram analisadas separadamente (Tabela 6). Sendo que, a redução dos níveis de PB da ração (17 a 13%) diminuiu linearmente a massa de ovos, durante todos os períodos avaliados (Figura 10), conforme equações descritas na Tabela 6.1, bem como na média de todos os períodos estudados (Figura 11). Já a presença de fitase proporcionou redução da massa de ovos, no 4º e 5º período de produção e na média de todos os períodos.

Tabela 6 – Massa de ovos (g/ave/dia) de galinhas poedeiras alimentadas com níveis de proteína bruta na ração, com ou sem inclusão da enzima fitase, durante cinco períodos de produção (28 a 44 semanas de idade).

Tratamentos	1º período	2º período	3º período	4º período	5º período	Média
Níveis de Proteína Bruta (%)						
17	54,93	53,62	50,57	52,43	51,99	52,71
15	53,41	50,48	46,79	50,09	50,74	50,30
13	52,44	47,18	42,91	45,84	44,77	46,63
Inclusão de Fitase						
Sem fitase	54,28	51,88	48,49	52,89	52,60	52,03
Com fitase	52,90	48,96	45,02	46,01	45,73	47,72
Nível de Significância						
PB	*L	*L	*L	*L	*L	*L
F	NS	NS	NS	*	*	*
Interação PB x F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV (%)	3,29	8,41	8,47	9,23	9,73	5,56

NS = não significativo ($P > 0,05$).

* = significativo ($P < 0,05$).

*L = regressão linear significativa ($P < 0,05$).

Corroborando com estes resultados, em um estudo sobre o desempenho de poedeiras White Leghorn utilizando baixos níveis de proteína bruta e suplementação de aminoácidos, KESHAVARZ & JACKSON (1992) utilizaram um controle positivo de 18,0; 16,5 e 15,0% de proteína bruta durante o período de 18 a 66 semanas de idade. As aves do controle negativo receberam dietas contendo 14, 13 e 12% de proteína bruta. Os grupos controle negativo tiveram suplementação de metionina, metionina + lisina,

metionina + lisina + aminoácido essenciais que estavam em deficiência. As aves do grupo controle negativo apresentaram massa de ovos inferior ao das aves do controle positivo.

Tabela 6.1 – Equações de regressão da massa de ovos (g/ave/dia) de poedeiras comerciais em relação aos níveis de proteína bruta da ração nos cinco períodos de produção.

Período de produção	Equações	R ²
1º	$y = 44,266 + 0,622x$	0,98
2º	$y = 26,305 + 1,608x$	0,99
3º	$y = 18,033 + 1,915x$	0,99
4º	$y = 32,253 + 1,147x$	0,97
5º	$y = 22,092 + 1,805x$	0,88

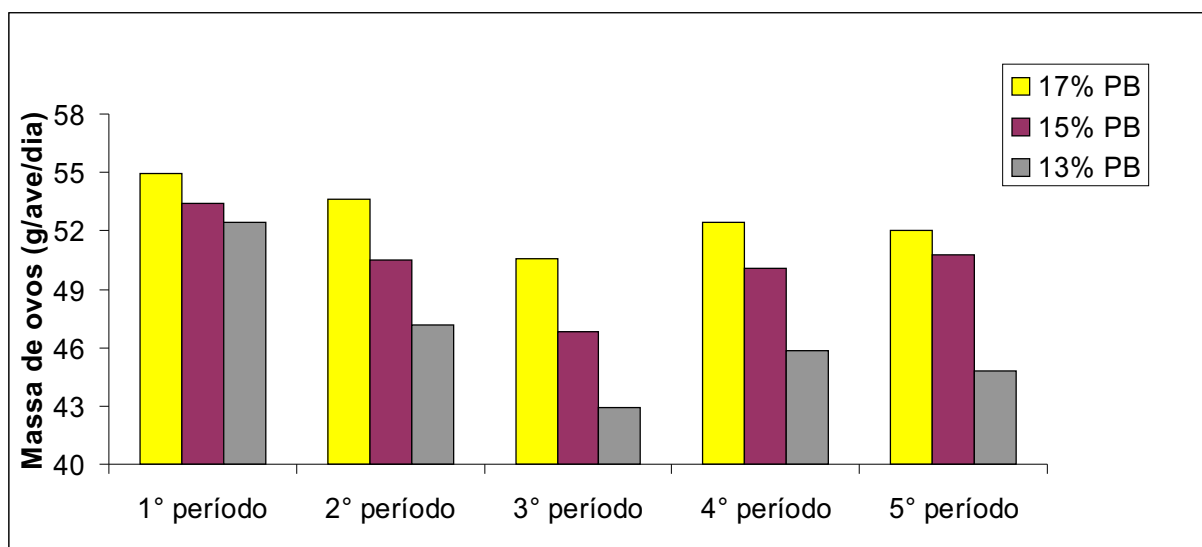


Figura 10 – Massa de ovos de poedeiras comerciais em relação aos níveis de proteína bruta da ração nos cinco períodos de produção.

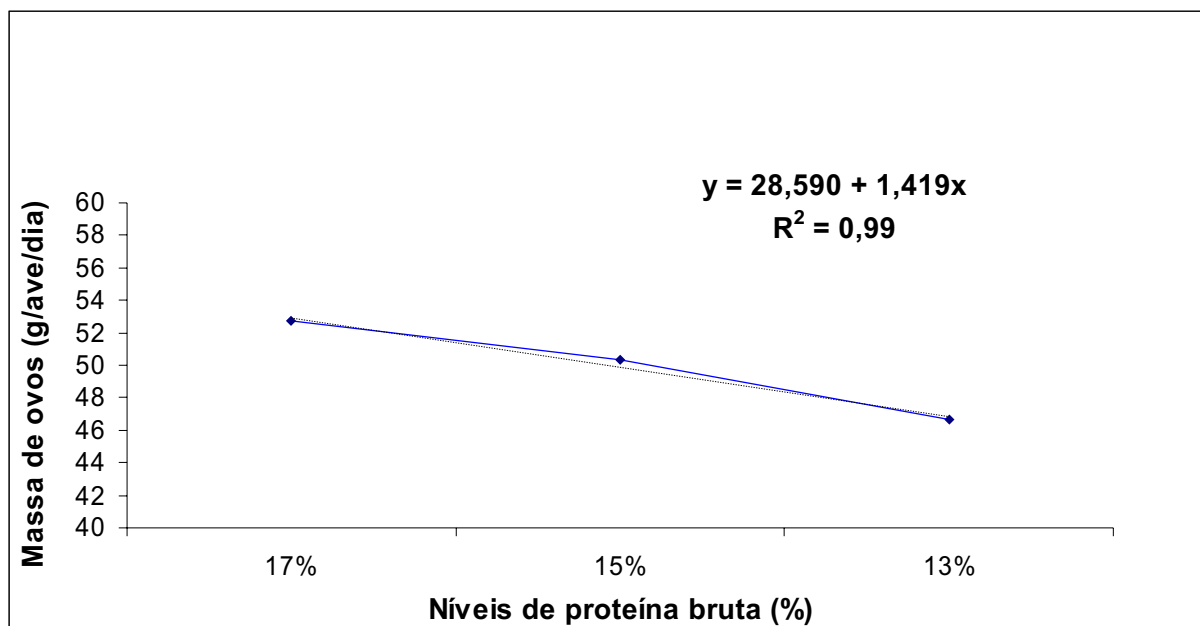


Figura 11 – Equação de regressão da média da massa de ovos de poedeiras comerciais de 28 a 44 semanas de idade em relação aos níveis de proteína bruta da ração.

Similarmente, LEESON & SUMMERS (2001) reportaram que galinhas de postura alimentadas com ração com 10% de proteína bruta e suplementadas com aminoácidos sintéticos, produziram 11% a menos de massa de ovos quando comparadas com galinhas que continham 17% de proteína na ração.

Através desses resultados, podemos inferir que a pior massa de ovos das aves alimentadas com baixo teor de proteína bruta pode ser em razão da ingestão inadequada de valina e isoleucina, já que estes são aminoácidos essenciais e não foram suplementados às rações experimentais.

A influência da presença de fitase sobre a massa de ovos foi similar ao ocorrido com a produção de ovos, apresentando tendência de diminuição com a presença de fitase no 1º, 2º e 3º períodos de produção e diferença significativa no 4º e 5º períodos. Fato que se deve também à menor média de massa de ovos das aves alimentadas com rações com reduzido nível de PB (13%) e fósforo inorgânico.

O baixo nível de fósforo inorgânico nos tratamentos com inclusão de fitase pode ser causa da discrepância entre estudos, como ocorre nos achados de COSTA et al. (2004), que não encontraram diferença na massa de ovos quando as galinhas foram alimentadas com rações com semelhante percentagem de fósforo inorgânico entre os tratamentos e com 0; 0,1 e 0,2% de fitase na ração.

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$), durante todo o período experimental, entre os tratamentos que continham ou não a fitase, assim como não houve interação entre os níveis de PB e a presença ou não de fitase na ração sobre a CA por dúzia de ovos (Tabela 7). A CA (kg/dz) se comportou de forma quadrática ($P > 0,05$) no 1º período de produção (24 a 28 semanas de idade). Nos períodos posteriores e na média de todos os períodos avaliados, a CA piorou linearmente, conforme equações apresentadas na Tabela 7.1 e representação gráfica na Figura 12 e 13.

Tabela 7 – Conversão alimentar (CA), por dúzia de ovos produzidos (kg/dz), de galinhas poedeiras alimentadas com níveis de proteína bruta na ração, com ou sem inclusão da enzima fitase durante cinco períodos de produção (24 a 44 semanas de idade).

Tratamentos	1º período	2º período	3º período	4º período	5º período	Média
Níveis de Proteína Bruta (%)						
17	1,36	1,56	1,42	1,41	1,42	1,43
15	1,34	1,56	1,42	1,40	1,42	1,43
13	1,41	1,60	1,52	1,51	1,62	1,53
Inclusão de Fitase						
Sem fitase	1,38	1,56	1,42	1,41	1,48	1,45
Com fitase	1,35	1,61	1,48	1,47	1,51	1,49
Nível de Significância						
PB	*Q	*L	*L	*L	*L	*L
F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Interação PB x F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV (%)	4,14	5,87	8,15	6,10	7,44	4,68

NS = não significativo ($P > 0,05$).

*L = regressão linear significativa ($P < 0,05$).

*Q= regressão quadrática significativa ($P < 0,05$).

Tabela 7.1 – Equações de regressão dos níveis de proteína bruta da ração sobre a conversão alimentar, por dúzia de ovos produzidos, de galinhas poedeiras nos cinco períodos de produção.

Período de produção	Equações	R ²
1º	$y = 3,946 - 0,336x + 0,011x^2$	0,96
2º	$y = 1,747 - 0,010x$	0,75
3º	$y = 1,837 - 0,025x$	0,75
4º	$y = 1,823 - 0,025x$	0,68
5º	$y = 2,256 - 0,051x$	0,75

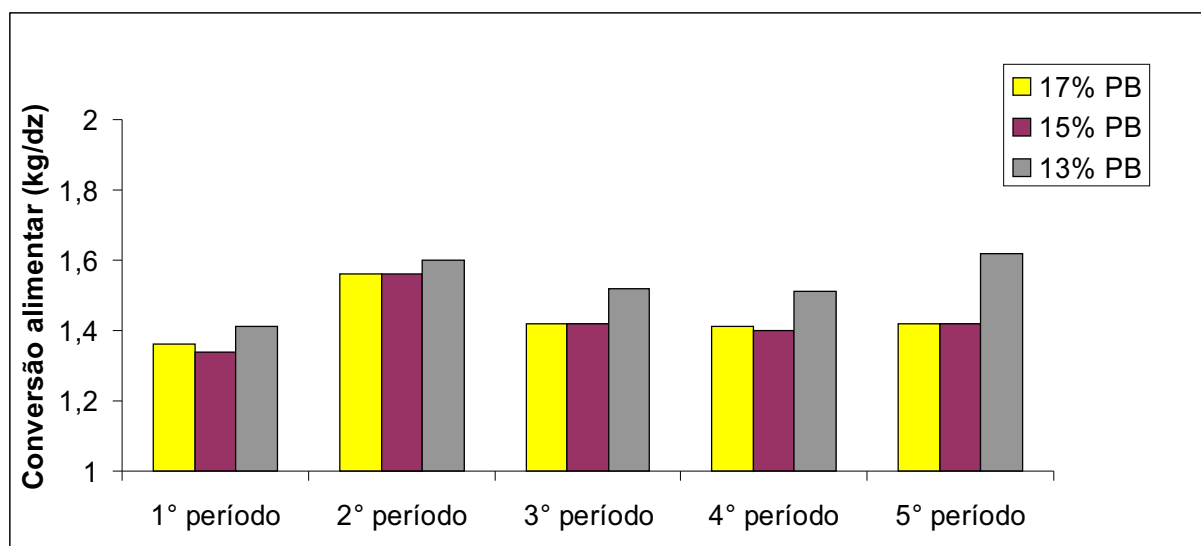


Figura 12 - Níveis de proteína bruta da ração sobre a conversão alimentar, por dúzia de ovos produzidos, durante os cinco períodos de produção.

Estes resultados discordam dos achados de PAVAN et al. (2005) e KOELKEBECK et al. (1993), que não observaram diferenças na CA (kg/z) de poedeiras alimentadas com dietas contendo, respectivamente, 14 a 17% e 13 a 16% de proteína bruta.

Corroborando com o relato anterior, KESHAVARZ & AUSTIC (2004) estudando redução protéica em dietas de poedeiras com 36 semanas de idade observaram que dietas com 13% de proteína bruta com adição de metionina, lisina e triptofano como recomendado no NRC (1994) proporcionaram resultados semelhantes aos de uma

dieta convencional com 16% de proteína bruta. Por outro lado, SILVA et al. (2006) observaram que a redução do nível protéico da ração de 16,5% para 15,25 e 14,00%, sem suplementação aminoacídica, não afetou ($P>0,05$) o consumo de ração e as conversões por massa e por dúzia de ovos.

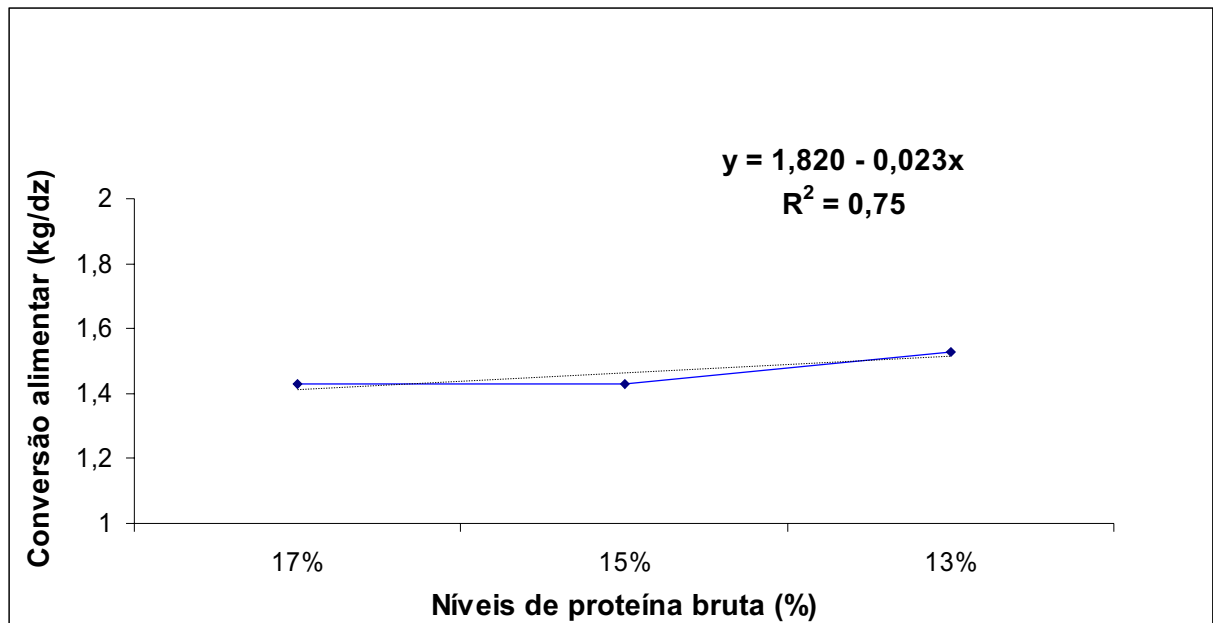


Figura 13 - Equação de regressão da média da conversão alimentar, por dúzia de ovos produzidos, de poedeiras comerciais de 24 a 44 semanas de idade em relação aos níveis de proteína bruta da ração.

A divergência dos resultados pode ser em virtude da não observação de diferença significativa entre os níveis de PB nos estudos dos referidos autores quanto à produção de ovos e consumo de ração, favorecendo a semelhança entre os tratamentos sobre a CA (kg/dz). Contudo, no presente estudo, foi verificada diminuição na produção de ovos em virtude da redução da PB da ração e consequentemente, a piora na CA por dúzia de ovos.

Por outro lado, está evidente que a adição da enzima fitase permite redução do nível de fósforo inorgânico da dieta, sem prejudicar a CA das poedeiras, como

reportado também por CASARTELLI et al. (2005), ao avaliar a adição da fitase para poedeiras de 32 a 64 semanas de idade sobre a CA.

A observação desses resultados evidencia que o nível de 15% de PB na ração de poedeiras comerciais, proporcionou melhor CA (kg/dz).

Semelhante a CA por dúzia de ovos produzidos, a CA por quilograma de ovos produzidos não foi influenciada ($P>0,05$) pela presença da fitase, tampouco pela interação entre os níveis de PB e adição de fitase na ração de poedeiras comerciais de nos cinco períodos de produção avaliados (Tabela 8). Além disso, não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os níveis de PB da ração sobre a CA (kg/kg) no 1º e 4º período de produção, mas houve efeito linear ($P<0,05$) no 2º, 3º e 5º período de produção (Figura 14), assim como na média de todo período experimental (Figura 15), de acordo com as equações de regressão expostas na Tabela 8.1.

Tabela 8 – Conversão alimentar por quilograma de ovos produzidos (kg/kg) de galinhas poedeiras alimentadas com níveis de proteína bruta na ração, com ou sem inclusão da enzima fitase durante cinco períodos de produção (24 a 44 semanas de idade).

Tratamentos	1º período	2º período	3º período	4º período	5º período	Média
Níveis de Proteína Bruta (%)						
17	1,95	1,96	1,94	1,98	1,94	1,95
15	1,97	2,10	2,11	1,99	2,05	2,04
13	2,04	2,21	2,17	2,08	2,22	2,14
Inclusão de Fitase						
Sem fitase	1,99	2,03	2,06	1,98	2,03	2,02
Com fitase	1,98	2,00	2,10	2,00	2,02	2,02
Nível de Significância						
PB	NS	*L	*L	NS	*L	*L
F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Interação PB x F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV (%)	4,54	6,56	7,95	6,38	7,38	4,20

NS = não significativo ($P > 0,05$).

*L = regressão linear significativa ($P < 0,05$).

Apesar da fitase ter afetado o consumo de ração, o mesmo não ocorreu para a conversão alimentar, pois a produção de ovos foi 6,86% inferior para poedeiras alimentadas com rações suplementadas com fitase quando comparadas com aves que

receberam ração com os níveis nutricionais normais e sem fitase. Esses resultados não eram esperados, já que a interação do fitato com as enzimas digestivas pode causar um aumento da secreção das enzimas digestivas no intestino delgado, aumentando a perda endógena de aminoácidos. Assim, a fitase deveria ser capaz de aumentar a utilização dos aminoácidos da dieta e nitrogênio por minimizar as propriedades anti-nutricionais do fitato, implicando em maior energia disponível para produção de ovos.

Tabela 8.1 – Equações de regressão da conversão alimentar, por quilograma de ovos produzidos, de poedeiras comerciais em relação aos níveis de proteína bruta da ração no 2º, 3º e 5º períodos de produção.

Período de produção	Equações	R ²
2º	$y = 3,071 - 0,054x$	0,99
3º	$y = 2,934 - 0,057x$	0,93
5º	$y = 3,086 - 0,068x$	0,98

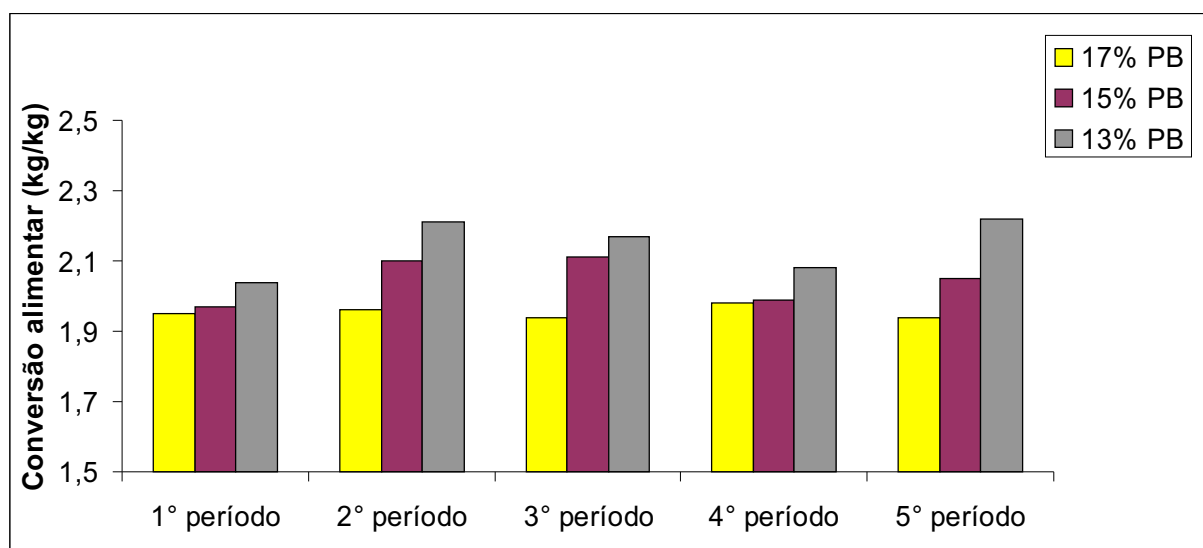


Figura 14 - Conversão alimentar, por quilograma de ovos produzidos, de poedeiras comerciais em relação aos níveis de proteína bruta da ração.

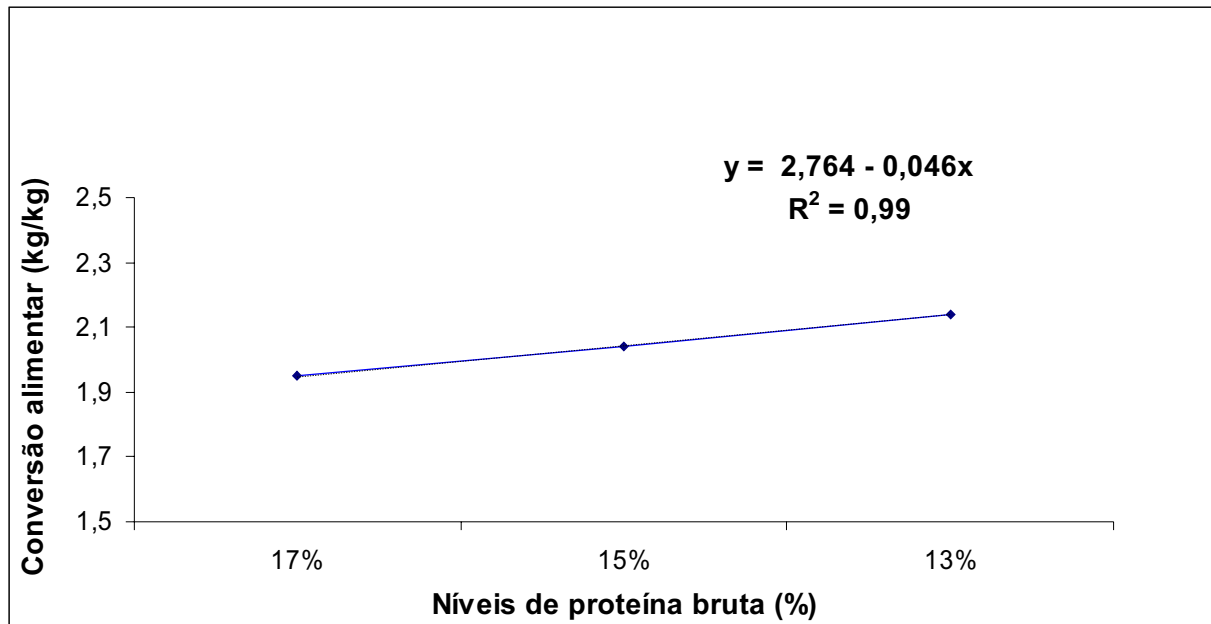


Figura 15 - Equação de regressão da média da conversão alimentar, por quilograma de ovos produzidos, de poedeiras comerciais de 24 a 44 semanas de idade em relação aos níveis de proteína bruta da ração.

O maior nível de PB exigido para uma melhor CA por quilograma de ovos produzidos, quando comparado com a CA por dúzia de ovos produzidos, pode ser em razão da maior massa de ovos das galinhas que foram alimentadas com rações que continham 17% de PB.

Em contrapartida, COSTA et al. (2004) e PAVAN et al. (2005) não encontraram diferenças significativas, respectivamente, entre 15,5 e 17,5%; e 14 e 17% de PB sobre a conversão alimentar por quilograma de ovos produzidos, provavelmente em virtude da semelhança dos tratamentos sobre a massa de ovos.

Relacionando com a influência da fitase, estes resultados corroboram com os achados de VIEIRA et al. (2001), que também não observaram diferença na CA (kg/kg) de poedeiras comerciais quando foi adicionado fitase na ração, sugerindo que a adição de fitase supre a diminuição do fósforo inorgânico na ração, não piorando a CA (kg/kg). Complementando este estudo, BORMANN (1999) encontrou melhor CA (kg/kg) para as galinhas que receberam ração com 0,1% de fósforo disponível quando comparado

àquelas com 0,3% e 0,4%, concluindo que um aumento do fósforo disponível piora a CA por quilograma de ovos produzidos.

A semelhança entre os tratamentos com ausência e presença de fitase sobre a CA (kg/kg) também sugere que o nível de fitase recomendado pelo fabricante (0,005%) foi insuficiente para otimizar a conversão alimentar por massa de ovos de poedeiras, que devem requerer, conforme descrito por COSTA et al. (2004), cerca de 0,02% de fitase na ração.

Não houve efeito significativo ($P>0,05$) dos tratamentos e nem interação significativa ($P>0,05$) entre os fatores estudados para peso de ovos em nenhum dos períodos avaliados e consequentemente, na média entre eles (Tabela 9).

Similarmente, PUNNA & ROLAN (2001) alimentaram poedeiras com 0,1 a 0,4% de fósforo disponível, com e sem a inclusão de fitase (0 e 300 FTU) entre a 37ª e a 48ª semanas de idade, e não encontraram diferenças no peso dos ovos com a inclusão da fitase na ração.

Tabela 9 – Peso dos ovos (g) de galinhas poedeiras alimentadas com níveis de proteína bruta na ração, com ou sem inclusão da enzima fitase, nos cinco períodos de produção (28 a 44 semanas de idade).

Tratamentos	1º período	2º período	3º período	4º período	5º período	Média
Níveis de Proteína Bruta (%)						
17	57,52	58,91	59,26	59,57	59,92	59,04
15	56,89	59,45	58,86	59,55	59,24	58,80
13	57,88	57,17	58,95	60,42	60,60	59,00
Inclusão de Fitase						
Sem fitase	57,36	58,53	58,09	59,54	59,74	58,65
Com fitase	57,49	58,49	59,95	60,16	60,10	59,24
Nível de Significância						
PB	NS	NS	NS	NS	NS	NS
F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Interação PB x F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV (%)	3,28	4,26	3,67	3,69	5,36	3,15

NS = não significativo ($P > 0,05$).

Esses resultados contradizem RAVINDRAN et al. (1999), os quais afirmaram que dieta com alto nível de ácido fítico apresentam menor peso dos ovos, por se ligarem às proteínas, diminuindo a digestibilidade dos aminoácidos que afetam diretamente o peso do ovo, principalmente a absorção da metionina.

Em relação à PB, resultados coerentes aos desse experimento foram encontrado por KESHAVARZ & AUSTIC (2004) ao estudarem a redução protéica em dietas de poedeiras com 36 semanas de idade e observarem que dieta com 13% de proteína suplementada com metionina, lisina e triptofano como recomendado pelo NRC (1994), proporcionaram peso dos ovos semelhantes aos de uma dieta convencional com 16% de proteína bruta.

Em contrapartida, SOHAIL et al. (2002) estudando os efeitos de dietas formuladas com três níveis de aminoácidos sulfurados totais e de proteína, (0,81 e 18,05; 0,72 e 16,66 e 0,65 e 15,55%, respectivamente), em 960 poedeiras da linhagem Hy-Line com 21 semanas de idade sobre o peso dos ovos, observaram aumento linear dessa característica à medida que se aumentava a percentagem de aminoácidos sulfurados totais da dieta. Além disso, vários outros estudos (PETERSEN, 1983 e HARMS & RUSSELL, 1998) mostraram que o peso dos ovos aumentaram conforme se elevaram os níveis de aminoácidos sulfurados na ração.

Considerando-se que no presente estudo, os níveis de metionina+cistina digestíveis de todos os tratamentos estavam dentro das exigências das aves, pode-se justificar a semelhança encontrada entre os pesos dos ovos. Além disso, pode-se comprovar a eficiência da matriz da enzima fitase em disponibilizar fósforo fítico para suprir as necessidades de fósforo da ave, assim como da possibilidade de redução protéica da dieta, quando suplementada com aminoácidos sintéticos.

5.2 – Qualidade externa dos ovos

Não foram encontrados efeitos significativos ($P>0,05$) dos níveis de proteína bruta e fitase, bem como para a interação proteína-fitase sobre a espessura da casca

dos ovos de galinhas poedeiras comerciais durante todo o período experimental (Tabela 10).

Tabela 10 – Espessura de casca (mm) dos ovos de galinhas poedeiras, alimentadas com níveis de proteína bruta na ração, com ou sem inclusão da enzima fitase, durante cinco períodos de produção (28 a 44 semanas de idade).

Tratamentos	1º período	2º período	3º período	4º período	5º período	Média
Níveis de Proteína Bruta (%)						
17	0,405	0,400	0,400	0,398	0,397	0,400
15	0,403	0,402	0,398	0,397	0,395	0,399
13	0,404	0,402	0,400	0,399	0,398	0,401
Inclusão de Fitase						
Sem fitase	0,403	0,401	0,401	0,400	0,398	0,401
Com fitase	0,406	0,402	0,401	0,399	0,399	0,401
Nível de Significância						
PB	NS	NS	NS	NS	NS	NS
F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Interação PB x F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV (%)	3,69	5,52	5,56	6,78	7,65	3,07

NS = não significativo ($P > 0,05$).

Houve uma tendência à diminuição da espessura casca à medida que a idade das poedeiras aumentou, já que com o aumento da idade das aves, o tamanho do ovo tende a aumentar e a espessura da casca do ovo diminuir, pois a quantidade de deposição de carbonato de cálcio na casca será a mesma, independente do tamanho do ovo. Além disso, é válido esclarecer que sua solidez também é afetada.

Concordando com os resultados deste experimento, VIEIRA et al. (2001) também não verificaram diferença na espessura da casca dos ovos de poedeiras leves (Hy-Line W36), quando as aves foram alimentadas com diferentes níveis de fitase (100, 200, 300 e 400 FTU) na ração.

Em contrapartida, BORMANN (1999) avaliando poedeiras de segundo período alimentadas com rações à base de milho e farelo de soja contendo dois níveis de fitase (0 e 300 FTU/kg de ração), observou efeito negativo da fitase sobre a espessura de casca. Este fato pode ser explicado por HAMILTON & SIBBALD (1977)

ao mencionarem que a redução do nível de fósforo dietético com o avanço da idade da ave melhora a qualidade da casca do ovo e por DAGHIR et al. (1985) ao observarem melhor espessura de casca quando a dieta continha 0,350% ou menos de fósforo disponível. Portanto, com o uso da fitase, há um aumento da biodisponibilidade do fósforo e, conseqüentemente dos níveis de fósforo usados nas rações, podendo piorar a qualidade da casca.

Em relação à PB da ração, é unânime a não observação de diferença significativa entre os níveis de PB da ração sobre a espessura da casca. Portanto, pode-ser inferir pela pequena quantidade de proteína na casca do ovo, que possui sua estrutura composta por carbonato de cálcio (94% do peso da casca), carbonato de magnésio (1%), fosfato de cálcio (1%) e 4% de substâncias orgânicas (NEVES, 1998). Nos 4% de substâncias orgânicas, estão inclusos as membranas da casca, composta basicamente de proteínas caracterizadas por ligações dissulfeto cruzadas, assim como ligações cruzadas de desmosina e isodesmosina derivadas da lisina, representando de 70 a 75% das proteínas de membrana e o restante em colágeno (10%) e glicoproteínas (BORON, 2004).

Outro fator que pode justificar a não observação do efeito dos tratamentos sobre a espessura da casca é o fato de ter ocorrido o mesmo para a característica peso dos ovos.

Não foi constatado diferença significativa ($P > 0,05$) entre os níveis de fitase, bem como a interação entre os níveis de fitase e PB, sobre a gravidade específica dos ovos de poedeiras comerciais no 2º, 3º e 5º período de produção (Tabela 11). Porém, a gravidade específica dos ovos diminuiu linearmente ($P < 0,05$) com a redução níveis de PB da ração, no 3º e 4º período de produção das aves (Figura 16), conforme equações apresentadas na Tabela 11.1, assim como na média de todo o período experimental (Figura 17).

Estudando a relação entre a percentagem de ovos quebrados e a gravidade específica, ABDALLAH et al. (1993), observaram que a percentagem de ovos trincados decresce com o aumento da GE, resultando em uma correlação negativa ($r = -0,96$) entre as variáveis. Segundo os autores, para cada aumento de 0,001 na GE, a

percentagem de ovos quebrados decresceu em 1,266%. Sabendo disso, deve-se considerar que no 3º período o melhor nível de PB foi de 17%. Entretanto, nos outros períodos de produção o nível de 15% de PB foi satisfatório, já que não apresentou valores reduzidos de GE ao ser comparado com o maior nível de PB (17%).

Tabela 11– Gravidade específica (g/cm^3) dos ovos de galinhas poedeiras, alimentadas com níveis de proteína bruta na ração, com ou sem inclusão da enzima fitase, durante cinco períodos de produção (28 a 44 semanas de idade).

Tratamentos	1º período	2º período	3º período	4º período	5º período	Média
Níveis de Proteína Bruta (%)						
17	1,097	1,096	1,095	1,095	1,091	1,095
15	1,097	1,096	1,093	1,095	1,092	1,095
13	1,095	1,094	1,093	1,092	1,091	1,093
Inclusão de Fitase						
Sem fitase	1,096	1,095	1,094	1,094	1,092	1,094
Com fitase	1,096	1,095	1,094	1,094	1,092	1,094
Nível de Significância						
PB	NS	NS	*L	*L	NS	*L
F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Interação PB x F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV (%)	0,11	0,15	0,14	0,20	0,21	0,09

NS = não significativo ($P > 0,05$).

*L = regressão linear significativa ($P < 0,05$).

Tabela 11.1 – Equações de regressão da gravidade específica dos ovos de poedeiras comerciais em relação aos níveis de proteína bruta da ração.

Período de produção	Equações	R^2
3º	$y = 1,084 + 0,001x$	0,99
4º	$y = 1,083 + 0,001x$	0,75

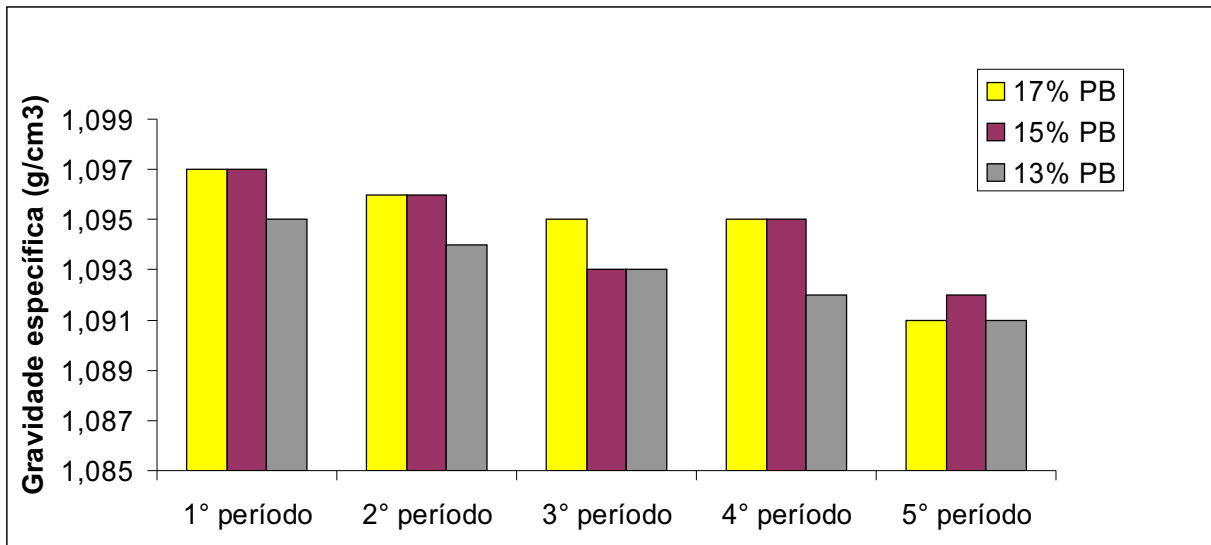


Figura 16 – Gravidade específica dos ovos de poedeiras comerciais em relação aos níveis de proteína bruta da ração.

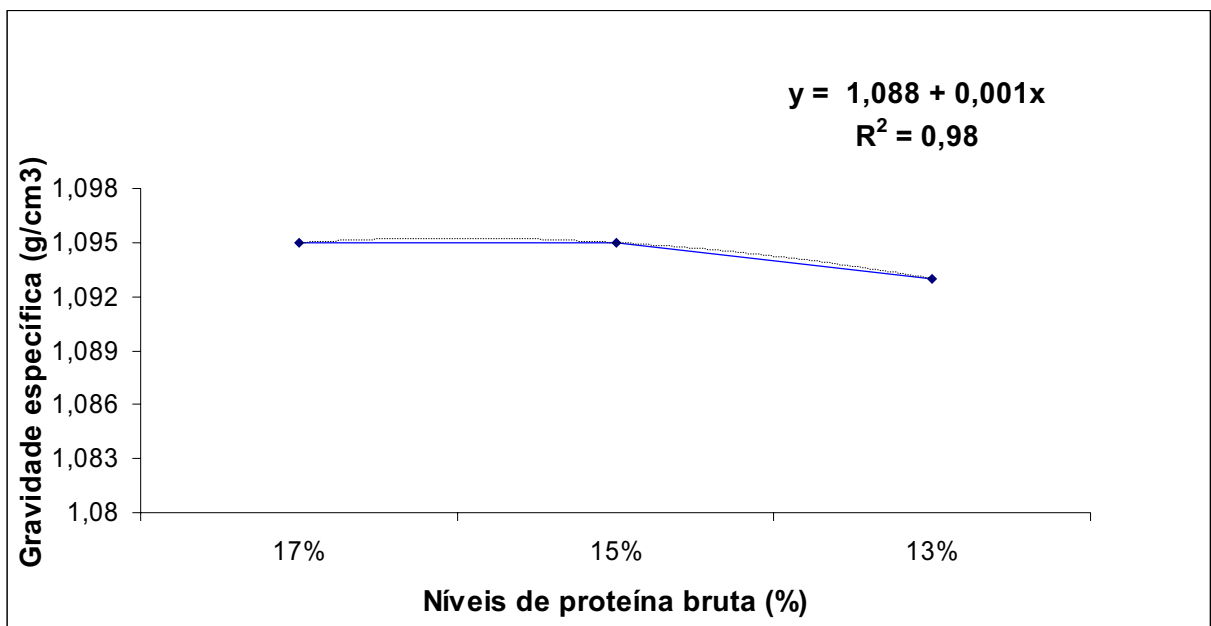


Figura 17 – Equação de regressão da média da gravidade específica dos ovos de galinhas de 24 a 44 semanas de idade em relação aos níveis de proteína bruta da ração.

Estes resultados discordam dos achados de SILVA et al. (2006), ao avaliarem a GE de poedeiras Lohmann a partir de 26 semanas de idade não observarem diferença entre os 14 e 16,5% de PB na ração suplementada ou não com aminoácidos essenciais.

Quanto a presença da fitase na ração, BOLING et al. (2000) também não verificaram diferença entre os tratamentos com e sem a presença de fitase sobre a GE dos ovos de poedeiras Dekalb Delta de 20 a 70 semanas de idade.

Não foi constatada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os níveis de PB e fitase na ração; assim como não houve interação entre estes dois fatores sobre a percentagem de casca dos ovos de galinhas nos períodos de produção avaliados (Tabela 12).

Tabela 12 – Percentagem de casca dos ovos de galinhas poedeiras, alimentadas com níveis de proteína bruta na ração, com ou sem inclusão da enzima fitase, em cinco períodos de produção (28 a 44 semanas de idade).

Tratamentos	1º período	2º período	3º período	4º período	5º período	Média
Níveis de Proteína Bruta (%)						
17	10,17	10,09	10,09	10,24	9,49	10,02
15	10,33	10,26	9,99	10,16	9,83	10,11
13	10,15	10,12	10,03	9,81	9,83	9,99
Inclusão de Fitase						
Sem fitase	10,27	10,10	10,01	9,96	9,66	10,00
Com fitase	10,17	10,21	10,07	10,19	9,78	10,08
Nível de Significância						
PB	NS	NS	NS	NS	NS	NS
F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Interação PB x F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV (%)	4,02	2,39	3,17	5,63	4,48	2,45

NS = não significativo ($P > 0,05$).

De acordo com esses dados, VIEIRA et al. (2001) não verificaram diferença entre os tratamentos com a presença de fitase na ração sobre a percentagem de casca dos ovos em poedeiras Hy-line W-36 em segundo período de produção.

A percentagem de casca parece sofrer mais influência do nível de fósforo disponível, ao invés da presença de fitase na ração, como demonstrado por RODRIGUES (1995), que encontrou melhores valores de percentagem de casca para o nível de 0,370% de fósforo disponível, semelhante ao nível estipulado em todas as rações experimentais do presente experimento.

Em relação à fonte de variação PB, COSTA et al. (2004) discordam dos achados deste estudo ao encontrar um comportamento linear dos níveis de PB analisados (15,5 a 17,5%), sugerindo que a percentagem de casca é melhor para o nível de 17,5%.

Em contrapartida, PAVAN et al. (2005) também não encontraram diferença entre 14 e 17% de PB na ração sobre a percentagem de casca de poedeiras Isa Brown com 52 semanas de idade. Reforçam esses resultados os relatos de ROLAND (1977) ao estudar a manipulação da proteína, da energia e do cálcio da dieta, e não verificar diferença entre os tratamentos sobre a qualidade da casca, inferindo que a quantidade de casca depositada diminuiu em um nível igual ou maior que o grau de redução do albúmen ou gema.

Os reduzidos níveis de fosfato bicálcico utilizados ao acrescentar 500 FTU/kg da enzima fitase na ração deste estudo não interferiram na qualidade da casca, o que pode ser constatado pela inexistência de diferença significativa entre os tratamentos com e sem a presença de fitase, demonstrando que a matriz nutricional preconizada para fitase atendeu plenamente as exigências das aves quanto à qualidade externa dos ovos.

O nível de 15% de PB na ração foi suficiente para uma adequada GE, já que o valor de GE nesse nível foi o mesmo de 17% de PB e os outros características avaliados (percentagem e espessura de casca) não apresentaram diferença significativa. Sugerindo que a redução de proteína bruta moderada (até 15%) não implicará em prejuízos na qualidade externa da casca dos ovos.

5.3 – Qualidade interna dos ovos

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os níveis de PB e da adição ou não de fitase na ração sobre a Unidade Haugh (UH) dos ovos de poedeiras comerciais de 28 a 44 semanas de idade. Mas, houve interação entre estas fontes de variação quando foi avaliado a UH dos ovos de galinhas no 3º e 5º períodos de produção, e na média de todo o período experimental (Tabela 13).

Em contrapartida, VIEIRA et al. (2001) encontrou efeito linear ($P<0,05$) dos níveis de fitase na ração sobre a UH, no qual foram observados valores de 91,40 com a suplementação de 100 FTU/kg, aumentando até 94,20 para 400 FTU/kg.

Quanto ao nível de PB da ração, NOVAK et al. (2004) concordam com os resultados do presente estudo, ao afirmarem que no período de 20 a 43 semanas de idade poedeiras Hy-line W-98 alimentadas com 18,9 a 14,4 gramas de proteína por galinha por dia, não apresentaram diferenças na UH.

No desdobramento da interação entre níveis de PB e presença de fitase na ração (Tabela 13.1 e 13.2), foi observado nos 3º e 5º períodos de produção que no nível de 15% de PB a presença de fitase melhorou significativamente ($P<0,05$) a UH.

Tabela 13 – Unidade Haugh dos ovos de galinhas poedeiras, alimentadas com níveis de proteína bruta na ração, com ou sem inclusão da enzima fitase, em cinco períodos de produção (28 a 44 semanas de idade).

Tratamentos	1º período	2º período	3º período	4º período	5º período	Média
Níveis de Proteína Bruta (%)						
17	94,10	94,40	88,54	88,81	88,46	90,86
15	94,74	91,98	88,92	87,39	89,17	90,04
13	94,87	94,59	90,41	88,53	89,21	91,52
Inclusão de Fitase						
Sem fitase	93,80	93,22	87,47	87,10	87,06	89,73
Com fitase	95,93	94,10	89,78	89,30	89,23	91,67
Nível de Significância						
PB	NS	NS	NS	NS	NS	NS
F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Interação PB x F	NS	NS	*	NS	*	*
CV (%)	3,04	3,43	3,07	4,48	2,50	2,37

NS = não significativo ($P > 0,05$).

* = significativo ($P > 0,05$).

Tabela 13.1 – Desdobramento da interação da Unidade Haugh dos ovos de galinhas poedeiras no 3º período de produção em relação aos níveis de proteína bruta e a inclusão ou não da enzima fitase na ração,

Níveis de Proteína Bruta (%)	Sem fitase	Com fitase	Nível de Significância
17	89,53	87,55	NS
15	88,20	90,64	*
13	89,67	91,15	NS
Nível de Significância	NS	NS	

NS = não significativo ($P > 0,05$).

* = significativo ($P < 0,05$).

Estes achados estão de acordo com os estudos de VAN DER KLIS & VERTEEGH (1991), ao afirmarem que a fitase microbiana possui efeito positivo na disponibilidade da proteína em aves, pois eles descobriram que a adição da fitase em dietas de galinhas de postura resultava em pequeno aumento, mas significativo, da digestibilidade ileal aparente do nitrogênio. Assim, as galinhas alimentadas com 15% de proteína bruta na ração, suplementada com fitase, produziram ovos de melhor qualidade interna, quando comparado com ovos de galinhas não suplementadas com fitase.

Tabela 13.2 – Desdobramento da interação da Unidade Haugh dos ovos de galinhas poedeiras no 5º período de produção em relação aos níveis de proteína bruta e a inclusão ou não da enzima fitase na ração.

Níveis de Proteína Bruta (%)	Sem fitase	Com fitase	Nível de Significância
17	89,07	87,85	NS
15	85,72	92,66	*
13	88,19	90,23	NS
Nível de Significância	NS	NS	

NS = não significativo ($P > 0,05$);

* = significativo ($P < 0,05$).

Através do desdobramento da interação entre os níveis de PB e a presença ou ausência de fitase sobre a média da UH, pode-se observar que a fitase proporcionou

melhor UH para as aves alimentadas com 15 e 13% de PB na ração, quando comparado com as aves que não receberam fitase na dieta (Tabela 13.3).

Tabela 13.3 – Desdobramento da interação entre os níveis de proteína bruta e a inclusão ou não da enzima fitase na ração, sobre a média da Unidade Haugh dos ovos de galinhas poedeiras durante os cinco períodos de produção (28 a 44 semanas de idade).

Níveis de Proteína Bruta (%)	Sem fitase	Com fitase	Nível de Significância
17	91,53	89,96	NS
15	87,78	92,30	*
13	89,70	93,34	*
Nível de Significância	NS	NS	

NS = não significativo ($P > 0,05$). * = significativo ($P < 0,05$).

Estes resultados demonstram que a adição de fitase beneficiou a utilização do nível mais baixo de PB (13%) utilizado neste estudo, podendo ter disponibilizado nutrientes contidos no milho e/ou farelo de soja anteriormente não disponíveis para as aves.

Mediante os dados apresentados na Tabela 14, verifica-se que não houve efeito ($P > 0,05$) dos níveis de proteína bruta e fitase sobre o índice gema, tampouco houve interação entre essas duas fontes de variação, durante todos o período avaliado.

O índice gema deve ser comparado entre aves de linhagem leves ou entre aves de linhagem semi-pesadas, uma vez que os ovos das poedeiras leves apresentaram em média menor quantidade de albúmen e maior quantidade de gema em comparação aos das aves semi-pesadas, dentro da mesma idade (CUPERTINO et al., 2009). Esses resultados podem estar relacionados ao tamanho dos ovos produzidos, pois as poedeiras semi-pesadas produzem ovos mais pesados e, de acordo com AHN et al. (1997), ovos de poedeiras mais jovens (ovos mais leves) possuem menor relação gema:clara em comparação aos de galinhas mais velhas (ovos mais pesados).

Tabela 14 – Índice gema dos ovos de galinhas poedeiras, alimentadas com níveis de proteína bruta na ração, com ou sem inclusão da enzima fitase, em cinco períodos de produção (28 a 44 semanas de idade).

Tratamentos	1º período	2º período	3º período	4º período	5º período	Média
Níveis de Proteína Bruta (%)						
17	0,48	0,50	0,43	0,44	0,42	0,45
15	0,49	0,47	0,42	0,43	0,44	0,45
13	0,47	0,48	0,45	0,44	0,43	0,45
Inclusão de Fitase						
Sem fitase	0,48	0,48	0,44	0,43	0,43	0,45
Com fitase	0,48	0,48	0,43	0,45	0,43	0,45
Nível de Significância						
PB	NS	NS	NS	NS	NS	NS
F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Interação PB x F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV (%)	4,49	4,67	5,52	5,52	6,46	2,12

NS = não significativo ($P > 0,05$).

A percentagem de gema dos ovos de poedeiras comerciais não foi influenciada ($P > 0,05$) pelos níveis de PB da ração durante todo o período experimental. Assim como não houve interação entre os níveis de PB e fitase, sobre esse parâmetro. Mas, a suplementação da enzima fitase, afetou positivamente a percentagem de gema nos três primeiros períodos de produção avaliados e na média dos períodos de produção (Tabela 15).

Contrapondo estes resultados, PENZ & JENSEN (1991) reportaram um aumento na percentagem de gema com a diminuição de 16 para 13% de proteína bruta, com adição de aminoácidos sintéticos. Sabendo-se que a gema é sintetizada no fígado, se o fígado sintetizar preferencialmente aminoácidos essenciais a percentagem de proteína da gema irá melhorar com adição desses aminoácidos quando comparado com a proteína bruta.

Quanto à melhora na percentagem de gema com a presença de fitase na ração, pode-se inferir que ocorreu em função da fitase ter atuado descomplexando proteínas, aminoácidos e carboidratos associados ao ácido fítico, deixando esses nutrientes

disponíveis para absorção intestinal e utilização no fígado para a síntese de lipídeos e proteínas da gema.

Tabela 15 – Percentagem de gema dos ovos de galinhas poedeiras, alimentadas com níveis de proteína bruta na ração, com ou sem inclusão da enzima fitase, em cinco períodos de produção (28 a 44 semanas de idade).

Tratamentos	1º período	2º período	3º período	4º período	5º período	Média
Níveis de Proteína Bruta (%)						
17	26,27	23,77	26,12	24,19	26,27	25,32
15	26,94	23,12	27,29	24,99	25,88	25,64
13	24,34	24,12	27,39	25,64	26,37	25,57
Inclusão de Fitase						
Sem fitase	24,20	23,48	25,63	25,00	25,90	24,84
Com fitase	27,50	24,62	28,04	25,87	26,45	26,50
Nível de Significância						
PB	NS	NS	NS	NS	NS	NS
F	*	*	*	NS	NS	*
Interação PB x F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV (%)	7,65	3,86	6,79	6,67	10,03	3,44

NS = não significativo ($P > 0,05$).

* = significativo ($P < 0,05$).

Em contrapartida, COSTA et al. (2004) não observaram efeito dos níveis de fitase (0; 0,01 e 0,02%) sobre a percentagem de gema de ovos de poedeiras de casca marrom. Estes autores salientaram que nem sempre a suplementação de enzimas digestivas proporciona resposta positiva, já que para uma enzima atuar faz-se necessárias condições específicas.

Não houve influência ($P > 0,05$) dos níveis de PB e da fitase na ração sobre a percentagem de albúmen, como também não houve interação entre eles (Tabela 16).

Estes resultados contradizem os achados de ROMBOLOA et al. (2004), que relataram que à medida que aumentou o nível protéico da dieta, o peso do albúmen foi aumentado, verificando que o nível de, respectivamente, 17,5 e 18% de proteína bruta proporcionou melhor peso de albúmen, com maior quantidade de sólidos totais. Isso

porque os sólidos do albúmen do ovo são quase inteiramente protéicos, e a demanda de proteína e aminoácidos é grande.

Tabela 16 – Percentagem (%) de albúmen dos ovos de galinhas poedeiras, alimentadas com níveis de proteína bruta na ração, com ou sem inclusão da enzima fitase, em cinco períodos de produção (28 a 44 semanas de idade).

Tratamentos	1º período	2º período	3º período	4º período	5º período	Média
Níveis de Proteína Bruta (%)						
17	59,43	57,23	56,61	56,11	57,97	57,47
15	60,30	59,29	55,15	57,64	58,14	58,10
13	59,29	56,38	56,67	57,29	57,47	57,42
Inclusão de Fitase						
Sem fitase	60,53	59,48	57,30	56,95	56,75	58,20
Com fitase	59,15	59,10	57,05	59,26	58,97	58,71
Nível de Significância						
PB	NS	NS	NS	NS	NS	NS
F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Interação PB x F	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV (%)	9,13	5,81	8,65	11,71	9,44	4,25

NS = não significativo ($P > 0,05$).

A inconsistência entre os resultados pode ser justificada pelo fato da ração de menor nível de PB (13%) avaliado neste estudo, ser suplementada com aminoácidos sintéticos, nos quais supriram todas as necessidades protéicas do albúmen, ou seja, o aumento na percentagem do albúmen e, conseqüentemente, no peso do ovo, dependem da relação entre proteína e aminoácidos.

Quanto ao nível de fitase na dieta, COSTA et al. (2004) também não constatarem efeito de diferentes níveis da enzima fitase na ração de poedeiras comerciais sobre a percentagem de albúmen. Sabendo-se que o albúmen é constituído de aproximadamente 15% de proteína, pode-se inferir que a quantidade de proteína e/ou aminoácidos descomplexados da molécula de fitato pela enzima fitase não aconteceu em quantidade suficiente para alterar a quantidade de proteína do albúmen, e conseqüentemente, alterar a percentagem de albúmen.

5.4 – Excreção de nutrientes

A composição bromatológica das excretas pode ser observada na Tabela 17. Não foi observado diferença significativa ($P > 0,05$) sobre a MS das excretas das galinhas submetidas aos níveis de proteína bruta (PB) e fitase na ração, bem como não houve interação entre as fontes de variação sobre esse parâmetro.

O nível de nitrogênio das excretas aumentou linearmente conforme se elevou o nível de PB ($PB = \text{nitrogênio} \times 6,25$) da dieta (Figura 18), no qual os maiores valores foram obtidos para as dietas contendo 17% PB. Assim, houve redução de 10,8 e 29,4% de nitrogênio excretado nas dietas com 15 e 13% de PB, respectivamente, quando comparado com o maior nível protéico (17%).

Tabela 17 – Percentagem de nitrogênio (N), fósforo (P), cálcio (Ca) e matéria seca (MS) das excretas de galinhas poedeiras na 44ª semana de idade, alimentadas com níveis de proteína bruta na ração, com ou sem inclusão da enzima fitase.

Tratamentos	MS (%)	N (%)	P (%)	Ca (%)
Níveis de Proteína Bruta (%)				
17	94,32	6,40	1,04	8,73
15	94,97	5,71	0,98	11,78
13	94,48	4,59	1,02	12,50
Inclusão de Fitase				
Sem fitase	94,64	5,55	1,27	10,30
Com fitase	94,47	5,58	0,79	11,30
Nível de Significância				
PB	NS	*L	NS	*L
F	NS	NS	*	NS
Interação PB x F	NS	NS	NS	NS
CV (%)	8,41	8,15	10,20	13,05

NS = não significativo ($P > 0,05$).

*= significativo ($P < 0,05$).

*L = regressão linear significativa ($P < 0,05$).

Resultados semelhantes foram encontrados por OHGUCHI et al. (1999), ao estudarem a redução da excreção de nitrogênio em galinhas poedeiras recebendo

dietas de baixo teor protéico, suplementadas com aminoácidos no período de produção (20 a 64 semanas), concluíram que a excreção de nitrogênio foi 25% menor para a dieta com 14% de PB em relação à dieta com 17% de PB.

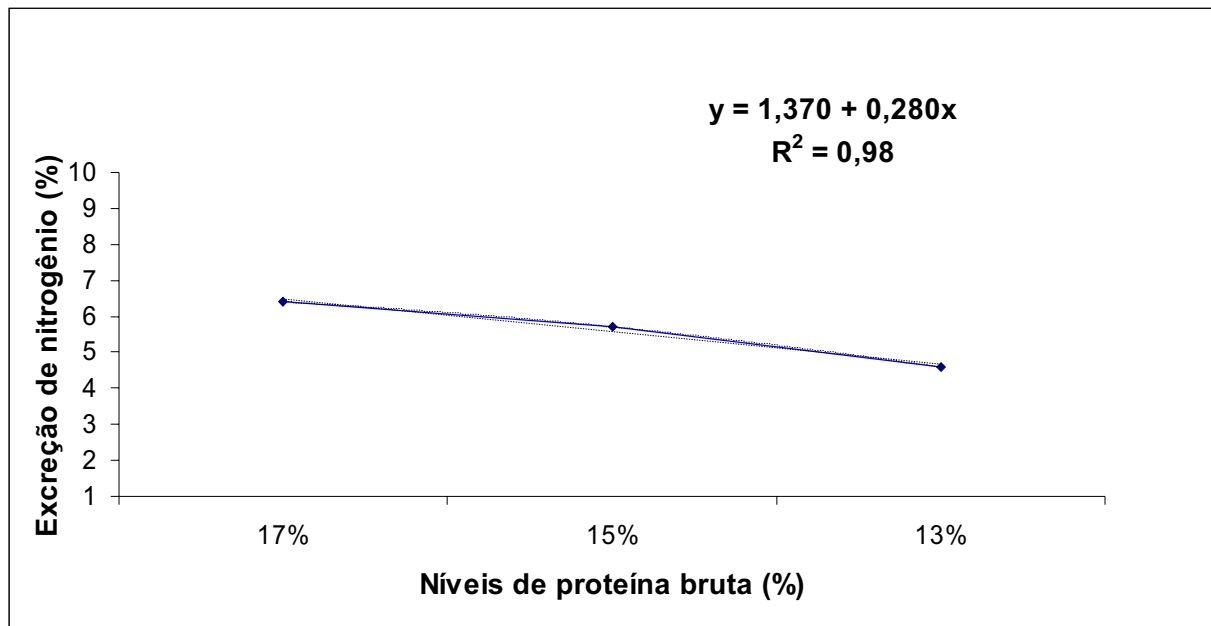


Figura 18 – Equação de regressão da percentagem de excreção de nitrogênio de galinhas poedeiras com 44 semanas de idade em relação aos níveis de proteína bruta da ração.

Logo, evidencia-se que quanto maior o nível de proteína bruta ingerida, maior o desbalanceamento de aminoácidos, e consequentemente, maior quantidade de aminoácidos sendo desaminados e o nitrogênio eliminado no ambiente na forma de ácido úrico na urina. Porém, o aproveitamento de nitrogênio ocorre de forma inversa, pois quanto menor o nível de proteína bruta na dieta, ou seja, quanto menor a disponibilidade do nitrogênio na dieta, melhor é o seu aproveitamento.

Em relação à enzima fitase, não houve influência da sua adição sobre a excreção de nitrogênio. Em contrapartida, no trabalho de UM & PAIK (1999) e CASARTELLI et al. (2005) foi observado à diminuição da excreção de nitrogênio quando se adicionou fitase em rações isoprotéicas à base de milho e soja de poedeiras

comerciais. Fato que pode ser justificado pela maior disponibilidade da proteína da dieta quando a fitase quebra o complexo entre fitato e proteína existente nos vegetais, e conseqüentemente, excreta menos nitrogênio para o ambiente.

A divergência entre os resultados do presente estudo e dos autores mencionados acima pode ser em virtude da menor quantidade da enzima fitase (50g de enzima por tonelada de ração) adicionada às rações deste experimento, não sendo suficiente para disponibilizar as proteínas e/ou aminoácidos complexados com as moléculas de fitato.

A excreção de fósforo diminuiu 37,8% quando foi adicionado fitase na ração das poedeiras. Este resultado se deve, principalmente, à maior quantidade de fósforo fítico disponibilizado pelos ingredientes de origem vegetal, que seriam eliminados para o meio ambiente, já que não poderiam ser absorvidos no organismo das aves sem a presença da enzima fitase.

Os resultados obtidos para excreção do fósforo estão de acordo com os obtidos por BOLING et al. (2000) e KESHAVARZ (2003), porém estes autores observaram um decréscimo mais expressivo na excreção de fósforo (50 e 56%, respectivamente), quando forneceram rações com níveis de fosfato bicálcico reduzidos em até 67 e 78%, respectivamente, e suplementadas com 300 FTU de fitase/kg de ração, sem comprometimento do desempenho das poedeiras. Fato que pode ser explicado em razão da retenção de fósforo dietético ser maior, quanto menor o nível de fósforo na ração (KESHAVARZ, 2000)

A quantidade de cálcio excretado aumentou linearmente ($P < 0,05$) com a redução do nível protéico da ração, de acordo com a equação apresentada na Figura 19. Portanto, faz-se necessária a realização de outros experimentos com níveis mais reduzidos de proteína bruta para estimar um nível exato de excreção de cálcio.

Não houve diferença significativa na excreção de cálcio quando suplementou-se fitase na ração, tampouco quanto à interação entre os níveis de PB e fitase.

Sabendo que a molécula de fitato se complexa preferencialmente com cátions bivalentes, como é o caso do cálcio, era esperado que com a inclusão da enzima fitase houvesse maior disponibilidade e absorção de cálcio pelas aves, excretando menor

quantidade para o meio ambiente. Como esse fato não ocorreu, pode-se inferir que a quantidade de enzima fitase utilizada não foi suficiente para descomplexar o cálcio da molécula de fitato ou as condições de atuação da fitase não foram favoráveis para que ela exercesse sua função plenamente.

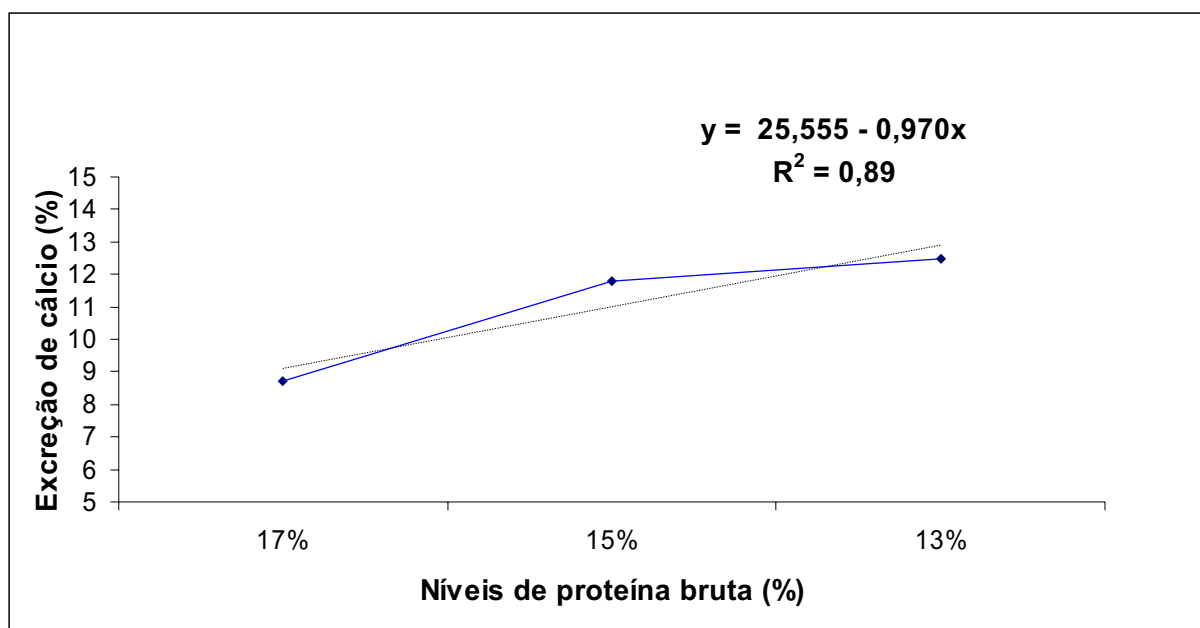


Figura 19 – Equação de regressão da porcentagem de excreção de cálcio de galinhas poedeiras com 44 semanas de idade em relação aos níveis de proteína bruta da ração.

Semelhantemente, UM & PAIK (1998) reportaram que a suplementação de fitase na dieta de poedeiras comerciais não apresentou diferença significativa na excreção de cálcio, mesmo quando a quantidade ingerida de cálcio foi menor para as aves que continham a fitase na ração, como demonstrado no estudo de CASARTELLI et al. (2005). Contudo, MITCHELL & EDWARDS JR. (1996) afirmam que, para uma maior solubilização do fitato, é necessário manter os níveis de fósforo e cálcio inorgânicos na ração nos limites mínimos necessários, já que pode haver reação do cálcio com o ácido fítico, formando o fitato de cálcio, que precipita e não pode ser atacado pela fitase.

No presente estudo, reduziu-se até 29,4% de nitrogênio e 37,8% de fósforo das excretas as aves, reduzindo significativamente o impacto ambiental causado pela

avicultura de postura. Com isso, também se diminui até 72% de inclusão do fosfato bicálcico na formulação da ração, que é uma fonte de fósforo não renovável.

5.5 – Análise econômica

A apreciação econômica refere-se aos ingredientes utilizados, já que estes representam o maior custo na produção, atingindo cerca de 60 a 75% na produção de poedeiras comerciais. A discussão foi feita em função do nível de proteína bruta e da adição da enzima fitase nas dietas.

Através da análise dos custos das rações e dos custos da produção de ovos, verifica-se que é mais viável utilizar a enzima fitase nas rações, independente do nível de PB utilizado (Tabela 18), pois ao adicionar 500 FTU de fitase/ kg de ração, reduziu-se, em média, 70% de fosfato bicálcico e 23% de óleo de soja na ração, em virtude da valorização da matriz da enzima fitase. Logo, ao adicionar fitase na dieta, o custo da ração diminuiu cerca de 5,33%, os custos de produção de ovos reduziram 3,20% por quilograma de ovos e 3,14% por dúzia de ovos produzidos.

Ao avaliar os níveis de PB sobre os custos das rações e da produção de ovos, foi observado que a medida que se reduziu o nível de PB da ração, diminuíram os custos da ração (Tabela 18). Entretanto, não ocorreu o mesmo para os custos com a produção de ovos, já que os níveis de 15 e 17% de PB na ração proporcionaram uma melhor produção de ovos, quando comparado com 13%.

Tabela 18 – Custo das rações e da produção de ovos das dietas formuladas com três níveis de proteína bruta (17, 15 e 13%), com ou sem adição da enzima fitase.

Variáveis	Fitase	Níveis de Proteína Bruta		
		17 %	15 %	13%
Custo da ração (R\$/kg)	Sem	0,579	0,562	0,548
	Com	0,548	0,531	0,520
Custo/ kg de Ovos (R\$/kg)	Sem	1,146	1,152	1,173
	Com	1,112	1,089	1,160
Custo/ dúzia de Ovos (R\$/12)	Sem	0,811	0,815	0,827
	Com	0,806	0,765	0,806

Portanto, ao analisar os custos de acordo com a produção de ovos, pode-se observar que o nível de 15% de PB reduziu 2,07 % no custo por quilograma de ovos produzidos e 5,09% no custo por dúzia de ovos produzidos, em relação ao segundo valor mais baixo (17%).

Esse custo elevado para a dieta formulada com menor nível de PB (13%), foi em razão da necessidade de maior suplementação de aminoácidos sintéticos em relação às outras rações (17 e 15%) para que a quantidade de aminoácidos digestíveis se mantivesse dentro da exigência das galinhas poedeiras. Neste caso, o triptofano onerou a ração, já que estava com valor elevado na época em que foi adquirido.

VI - CONCLUSÃO

Ao analisar as características de desempenho e qualidade interna e externa dos ovos, determina-se utilizar a enzima fitase para reduzir a utilização de proteína bruta e a excreção de fósforo em rações de galinhas poedeiras semi-pesadas, de 24 a 44 semanas de idade, assim como reduzir a proteína bruta da ração para 15%, sem comprometer sua vida produtiva. Assim, contribui para redução do impacto ambiental causado pela avicultura, através da redução da excreção de nitrogênio e fósforo, em respectivamente, 10,8 e 37,8%, quando comparado com rações convencionais; sendo também economicamente viável.

VII - REFERÊNCIAS

ABDALLAH, G.A.; HARMS, R.H.; EL-HUSSEINY, O. Various methods of measuring shell quality in relation to percentage of cracked eggs. **Poultry Science**, v.72, p.2038-2043, 1993.

AHN, D.U.; KIM, S.M.; SHU, H. Effect of egg size and strain and age of hens on the solids content of chicken eggs. **Poultry Science**, v.76, p.914-919, 1997.

ANDERSON, P.A. **Digestibility and Amino Acid Availability in Cereals and Oilseeds**, 1985. p.31- 45.

ANDRADE, L. et al. O uso de rações com diferentes níveis de proteínas suplementadas com aminoácidos na alimentação de poedeiras na fase inicial de produção. **Poultry Science**, supl. 5, p.66, 2003.

ASADA, K.; KASAI, Z. Formation of myo-inositol and phytin in ripening rice grain. **Plant and Cell Physiology**, v.3, p.397, 1962.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 14^o ed. Washington, DC, 1984. 1094p.

ASSUENA, V. **Desempenho, densitometria óssea, excreção de fósforo e nitrogênio e viabilidade econômica de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de inclusão da enzima fitase**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Jaboticabal: UNESP, 2007

BAKER, D. H. Amino acid nutrition of pigs and poultry. In: COLE, D. J. A.; HARESING, W.; GARNWORTH, P. C. **Recent developments in pig nutrition**. 2. ed. Lough barangh: Nottingham University, 1993. p.60-75.

BALANDER, R. J.; FLEGAL, C. J. The effect of phytase on egg production and specific gravity in laying hens. **Poultry Science**, v.77, p.3, 1997.

BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 225p.

BIEHL, R.R.; BAKER, D.H. Efficacy of supplemental 1 α -hydroxycholecalciferol and microbial phytase for young pigs fed phosphorus- or amino acid-deficient corn-soya bean meal diets. **Journal of Animal Science**, v.74, p.2960- 2966, 1996.

BLAKE, J.P.; DONALD, J.O.; CONNER, D.E. Small-scale composting of poultry carcasses. In: NATIONAL POULTRY WASTE MANAGEMENT SYMPOSIUM, 4., 1994, **Proceedings...**, p. 261-266, 1994.

BOLING, S.D. et al. The effects of various dietary levels of phytase and available phosphorus on performance of laying hens. **Poultry Science**, v.79, p.535-538, 2000.

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

BORON, L. **Citrato de cálcio da casca do ovo: biodisponibilidade e uso como suplemento alimentar**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis: UFSC, 2004.

BORMANN, M.S. **Efeitos da adição de fitase, com diferentes níveis de fósforo disponível, em rações de poedeiras de segundo período.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras. Lavras: UFLA, 1999.

BORRMANN, M.S.L. et al. Efeitos da adição de fitase com diferentes níveis de fósforo disponíveis em rações de poedeiras de segundo período. **Ciências Agrotécnicas.**, v.25, p.181-187, 2001.

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

CARMINO, F. et al. Efeito de diferentes níveis de proteína na ração sobre o desempenho de poedeiras leves em produção no período de 20 a 33 semanas de idade. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 28., 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 1992. p. 309.

CASARTELLI, E. M. et al. Effect of phytase in laying hen diets with different phosphorus sources. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.7, p.93-98, 2005.

CHAMPE, B. C. Enzimas. In: CHAMPE, B. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica ilustrada.** 2 ed. São Paulo: Artes Médicas, p. 53-66, 1989.

CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.13, p.297–335, 1980.

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

COSGROVE, D.J. Inositol Phosphates: Their Chemistry, Biochemistry and Physiology. **Elsevier Science Publishing Co.**, New York, NY, 1980.

COSTA, F.J.P. et al. Níveis de proteína bruta e energia metabolizável na produção e qualidade dos ovos de poedeiras da linhagem Lohmann Brown. **Ciência Agrotécnica**, v.28, n.6, p.1421-1427, 2004.

COUSINS, B. Enzimas na nutrição de aves. In: Simpósio Internacional Acav - Embrapa Sobre Nutrição de Aves, 1999, Concórdia, SC. **Anais...** Concórdia: Embrapa-Cnpas, 1999. P.115-129.

COWAN, W.D. Understanding the manufacturing distribution, application, and overall quality of enzymes in poultry feeds. **Journal Applied Poultry Research**, v.1, p.33-99, 1993.

CUPERTINO et al. Exigência nutricional de lisina digestível para galinhas poedeiras de 54 a 70 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.33-99, 1993.

DARI, R.L. **A utilização de fitase na alimentação de aves**. Conferência Apinco de Ciências e Tecnologias Avícolas, Campinas, p.127-143, 2004.

DAGHIR, N.J.; FARRAN, M.T.; KAYSI, J.A. Phosphorus requirements of laying hens in a semiarid continental climate. **Poultry Science**, v.67, p.1382–1384, 1985.

DUKE, G.E. Digestão nas aves. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. (Eds) **Dukes – Fisiologia dos animais domésticos**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856p.

D'MELLO, J.P.F. **Farm animal: metabolism and nutrition**. Edimburg: Cabi, 2003. 438p.

EECKHOUT, W.; DE PAEPE, M. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feed stuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v.47, p.19-29, 1994.

ENGELLEN, A.J; HEEFT, F.C. Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal of Aoac International**, v.77, p.760-764, 1994.

GIFFORD, S.R.; CLYDESDALE, F.M. Interactions among calcium, zinc and phytate with three protein sources. **Journal of Food Science**, v.55, p.1720-1724, 1990.

GORDON, R.W.; ROLAND D.A. Performance of commercial laying hens fed various phosphorus levels, with and without supplemental phytase. **Poultry Science**, v.76, p. 1172-1177, 1997.

HAMILTON, R.M.G.; SIBBALD, I.R. The effects of dietary phosphorus on productive performance and egg quality of ten strains of white leghorns. **Poultry Science**, v.56, p. 1221–1228, 1977.

HAMILTON, R. M. G. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. **Poultry Science**, v. 61, p. 2022-2039, 1982.

HARMS, R. H. The influence of nutrition on eggshell quality. Part 2: Phosphorus. **Feedstuffs**, v. 54, p. 25-26, 1982.

HARMS, R.H.; RUSSELL, G.B. The influence of methionine on commercial laying hens. **Journal of Applied Poultry Research**, v.7, p.45-52, 1998.

JONES, D.B.; CSONKA, F.A. Proteins of the cottonseed. **Journal of Biological Chemistry**, v.64, p.673- 683, 1925.

JONGBLOED, A.W.; MROZ, Z.; KEMME, P.A. The effect of supplementary *Aspergillus Niger* phytase in diet for pigs on P, and phytic acid in different sections of the alimentary tract. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1159-1168, 1992.

KESHAVARZ, K.; JACKSON, M. E. Performance of growing pullets and laying hens fed low-protein, amino acid supplemented diets. **Poultry Science**, v.71, p. 905-918, 1992.

KESHAVARZ, K. Nonphytate phosphorus requeriment of laying hens with and without phytase on a phase feeding program. **Poultry Science**, v.79, p.613-798, 2000.

KESHAVARZ, K. The effect of different levels of nonphytate phosphorus with and without phytase on the performance of four strains of laying hens. **Poultry Science**, v.82, p.71-99, 2003.

KESHAVARZ, K.; AUSTIC, R.E. The use of low-protein, low-phosphorus, amino acid and phytase supplemented diets on laying hen performance and nitrogen and phosphorus excretion. **Poultry Science**, v.83, p.83-75, 2004.

KOELKEBECK, K.W. et al. Effect of supplementation of a low-protein corn molt diet with amino acids on early postmolt laying hen performance. **Poultry Science**, v.72, p.1528-1536, 1993.

LAURENTIZ, A. C. **Manejo nutricional das dietas de frangos de corte na tentativa de reduzir a excreção de alguns minerais de importância ambiental**. 2005. 131 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D.; CASTON, L. Response of brown-egg strain layers to dietary calcium or phosphorus. **Poultry Science**, v.72, p.1510-1514, 1993.

LESSON, S. Enzimas para aves. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO PARA AVES, 1999. Campinas. **Anais...** Campinas, FACTA, p.173-185, 1999.

LESSON, S. et al. Efficacy of new bacterial phytase in poultry diets. *Canadian Journal of Animal Science*, v.80, p.527-528, 2000.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Scott's nutrition of the chicken**. 4.ed, Ghelph: University Books, 2001. 591 p.

LIM, H. S. et al. Effects of phytase supplementation on the performance, egg quality and phosphorous excretion of laying hens fed different levels of dietary calcium and nonphytate phosphorous. **Poultry Science**, v.82, p.92-99, 2003.

MACEDO, J.A.B. **Águas e Águas**. Água-reaproveitamento, fonte, legislação e características. São Paulo: Varela, 2001. 505p.

MAENZ, D. D. Enzymatic characteristics of phytases as they relate to their use in animal feeds. In: BEDFORD, M. R., PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition**. New York: CAB International, 2001. p. 61-84.

MAIORKA, A.; MACARI, M. Absorção de minerais. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p.167-172.

MASSAHUD, N. **Métodos de análise foliar**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1997 (notas de aulas).

MELUZZI A. et al. Effects of dietary vitamin E on the quality of table eggs enriched with n-3 long-chain fatty acids. **Poultry Science**, v.79, p.539-545, 2000.

MITCHELL, R.D.; EDWARDS J.R. Additive effects of 1,25-dihidroxicolecalciferol and phytase on phytate phosphorus utilization and related parameters in broiler chickens. **Poultry Science**, v.75, p.111-119, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. NRC. **Nutrient requirements of Poultry**. 9.ed. Washington: National Academic Press, 1994.

NELSON, T. S. et al. The availability of phytate phosphorus in soybean meal before and after treatment with a mold phytase. **Poultry Science**, v.47, p.1842-1848, 1968.

NEVES, M.A. **Alternativas para valorização da casca de ovo como complemento alimentar e em implantes ósseos**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis: UFSC, 1998.

NOVAK, C.L.; YAKOUT, H.S.; SCHEIDELER, S. The combined effects of dietary lysine and total sulfur amino acid level on egg production parameters and egg components in Dekalb delta laying hens. **Poultry Science**, v.83, p.977-984, 2004.

OHGUCHI, H.; YAMAMOTO, R.; MIZUNO, K. Reducing nitrogen excretion of hens by feeding low protein, amino acid supplemented diets. **Research Bulletin of the Aichi ken Agricultural Research Center**, n.31, p.297-303, 1999.

PALHARES, J.C.P. **Uso da cama de frango na produção de biogás**. Circular Técnica. Concórdia, n.41, 2004.

PARDI, H.S. **Influencia da comercialização na qualidade dos ovos de consumo**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal Fluminense. Rio de Janeiro: UFF, 1977.

PAVAN, A.C. et al. Níveis de proteína bruta e de aminoácidos sulfurosos totais sobre o desempenho, a qualidade dos ovos e a excreção de nitrogênio de poedeiras de ovos marrons. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.568-57, 2005.

PIZZOLANTE, C.C. **Estabilidade da fitase e sua utilização na alimentação de frangos de corte**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa. UFLA: Lavras, 2000.

PENZ Jr., A. M. Enzimas em rações de aves e suínos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35. 1998, Botucatu, SP. **Anais...** Botucatu, SP: SBZ, p.165-178, 1998.

PENZ Jr., A.M., JENSEN, L.S. Influence of protein concentration, amino acid supplementation, and daily time of access to high or low-protein diets on egg weight and components in laying hens. **Poultry Science**, v.70, p.2460-66, 1991.

PETER, W. Investigations on the use of phytase in the feeding of laying hens. In: WORD'S POULTRY CONGRESS, 19, 1992, Amsterdam. **Proceedings...** Amsterdam: BASF, 1992.

PETERSEN, C.F.; SAUTER, E.A.; STEELE, E.E. Use of methionine intake restriction to improve egg shell quality by control of egg weight. **Poultry Science**, v.62, p.2044-2047, 1983.

PUNNA, S.; ROLAND, D.A. Influence of supplemental microbial phytase on first cycle laying hens fed phosphorus-deficient diets from day one of age. **Poultry Science**, v.78, p.1407-1411, 1999.

RAVINDRAN, V. et al. Phytates: occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. **Poultry and Avian Biology Reviews**, v.6, p.125-143, 1995.

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

RAVINDRAN, V. et al. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorus levels. **British Poultry Science**, n.41, p.193-200, 2000a.

RIZZO, M.F.; DEPONTI, B.J.; SILVA, F.H. et al. Alimentação de poedeiras com diferentes níveis de proteína e lisina: 2. Utilização e excreção de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.6, p.27, 2004.

RODRIGUES, P.B. **Fatores nutricionais que influenciam a qualidade do ovo no segundo período de produção**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras. Lavras: UFLA, 1995.

ROLAND, D. A. Influence of protein, energy and calcium on egg shell weight and shell quality of the laying hen. In: WORLD'S POULTRY CONGRESS, 16, 1978, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: 1977. p.1073-1077.

ROLAND, D.A. et al. Effect of nongenetically modified phytase supplementation on commercial leghorns. **Journal of Applied Poultry Research**, v.12, p.257-263, 2003.

ROMBOLOA, L.G. et al. Alimentação de poedeiras com diferentes níveis de proteína e lisina: desempenho e qualidade dos ovos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2004, Santos. **Anais...** Santos: APINCO, 2004. p.23.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 189p.

SAS. **INSTITUTE SAS® user' guide**: statistics. Cary, NC, 2002.

SAYLOR, W.W. Técnicas de reducción de fosforo: manejo, nutricio en pollo de engorda. *Indústria Avícola*, v. 48, p.24-31, 2001.

SCHEIDELER, S.A.; AL-BATSHAN, H. Basics of calcium, phosphorus nutrition in layers studied. **Feedstuffs**, v.66, p.6-15, 1994.

SEBASTIAN, S. et al. Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization of broiler chickens. **Poultry Science**, v.75, p.1516-1523, 1996.

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

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

SILVA, D.J. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa, MG: UFV, 1990, 166p.

SILVA, J.H.V. et al. Exigência de lisina para aves de reposição de 0 a 6 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1777-1785, 2000a.

SILVA, J.H.V. et al. Exigência de lisina para aves de reposição de 7 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1786-1794, 2000b.

SILVA, Y.L. 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, p.840-848, 2006.

SIMON, P.C.M. et al. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pig. **British Journal of Nutrition**, v.64, p.525-540, 1990.

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

SISKE, W.; ZEMAN, L.; KLECKER, D. The egg shell: a case study in improving quality by altering mineral metabolism naturally. In: Altech's Annual

Symposium Biotechnonology In The Feed Industry, 16., 2000, Nottingham.
Proceedings... Nottingham: Nottingham University Press, 2000. p.327-346.

SNOW, J.L.; DOUGLAS, M.W.; PARSONS, C.M. Phytase effects on amino acids digestibility in molted laying hens. **Poultry Science**, v.82, p.474-477, 2003.

SOHAIL, S.S.; BRYANT, M.M.; ROLAND, D.A. Influence of supplemental lysine, isoleucina, threonine, triptophan and total sulfur amino acids on egg weight of Hy-Line W-36 hens. **Poultry Science**, v.81, p.1038-1044, 2002.

UM, J.S.; PAIK, I.K. Effects of microbial phytase supplementation on egg production, eggshell quality, and mineral retention of laying hens fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, v.78, p.75-79, 1999.

VAN DER KLIS, J.D.; VERSTEEGH, H.A.J. Ileal absorption of phosphorus in lightweight white laying hens using microbial phytase and various calcium contents in laying hen feed. **Spelderholt Publication**, n.5, p.63-74, 1991.

VIEIRA, R. S. A. et al. Desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais de segundo período alimentadas com rações contendo fitase. **Ciência e Agrotécnica**, v.25, p.1413-1422, 2001.

VOISEY, P.W.; HUNT, J.R. Measurements of eggshell strength. **Textile Studies**. n.5, p.135-182, 1974.