

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES FONTES DE FÓSFORO
SOBRE DESEMPENHO PRODUTIVO E CARACTERÍSTICAS
ÓSSEAS DE FRANGOS DE CORTE CRIADO DE 1 A 42 DIAS
DE IDADE**

Heloisa Varella Ribeiro

Zootecnista

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES FONTES DE FÓSFORO
SOBRE DESEMPENHO PRODUTIVO E CARACTERÍSTICAS
ÓSSEAS DE FRANGOS DE CORTE CRIADO DE 1 A 42 DIAS
DE IDADE**

Heloisa Varella Ribeiro

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nilva Kazue Sakomura

Co-orientador: Dr. Gabriel da Silva Viana

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

2019

R484a Ribeiro, Heloisa Varella

 Avaliação de diferentes fontes de fósforo sobre desempenho produtivo e características ósseas de frangos de corte criado de 1 a 42 dias de idade / Heloisa Varella Ribeiro. -- Jaboticabal, 2019

 33 p. : tabs.

 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

 Orientadora: Nilva Kazue Sakomura

 Coorientador: Gabriel da Silva Viana

 1. Frango de corte. 2. Minerais. 3. Cálcio e fósforo. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



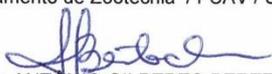
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AVALIAÇÃO DE DIFERENTES FONTES DE FÓSFORO SOBRE DESEMPENHO PRODUTIVO E CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS DE FRANGOS DE CORTE CRIADO DE 1 A 42 DIAS DE IDADE

AUTORA: HELOISA VARELLA RIBEIRO
ORIENTADORA: NILVA KAZUE SAKOMURA
COORIENTADOR: GABRIEL DA SILVA VIANA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. NILVA KAZUE SAKOMURA
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. ANTONIO GILBERTO BERTECHINI
Departamento de Zootecnia / UFLA - Lavras, MG


Dr. FLÁVIO ALVES LONGO
Empresa NOVUS / Campinas/SP

Jaboticabal, 25 de fevereiro de 2019

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

HELOISA VARELLA RIBEIRO - filha de Paulo Raquel Ribeiro e Lucia Varella Ribeiro, nasceu no dia 16 de maio de 1990, na cidade de Virgínia, Minas Gerais. Em agosto de 2010 ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, graduando-se em setembro de 2016. Em março de 2017 ingressou no curso de mestrado em Zootecnia pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal, São Paulo, onde obteve bolsa pelo CNPq, sob orientação da Prof.^a Dr^a. Nilva Kazue Sakomura.

“A grandeza não está em ser forte, mas no uso correto da força.
Grande é aquele cuja força conquista mais corações pela atração do próprio
coração.”

(Henry Ward Beecher)

DEDICO...

Aos meus pais, Paulo (*in memoriam*) e Lucia, ao meu irmão Henrique e à minha avó, Isabel pelo amor incondicional e por sempre apoiarem meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre me abençoar e capacitar nos meus sonhos.

À UNESP – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, pela possibilidade de realizar o curso de Mestrado em Zootecnia.

Ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa de estudo de Mestrado.

À empresa Nutrivet, Nutrição e Veterinária pela oportunidade e auxílio para o desenvolvimento e execução desta pesquisa. Gostaria de agradecer especialmente ao Ronaldo Perea pela confiança a mim depositada.

À Prof.^a Dr.^a Nilva Kazue Sakomura pela orientação, por compartilhar seus conhecimentos e oferecer oportunidades, que às vezes mais parecem sacrifícios, mas que no fundo só nos fazem crescer.

Ao co-orientador Dr. Gabriel da Silva Viana por ter sido meu braço direito no planejamento, execução, processamento, análise e escrita deste trabalho.

Aos amigos do aviário, Bernardo (Murango), Bruno, Camila, Felipe (Torcido), Felipe (Celulari), Fernando, Freddy, Gabriel (Macaé), Guilherme (Espiga), Jefferson, Karla, Larissa (Pioia), Leticia Pacheco, Leticia (Pomba), Mariana, Marllon, Matheus (Teteu), Mirella, Palloma, Rafael (Kuki), Raian, Rony, Thaisa (Lorota) e Warley pela amizade, colaboração e compreensão, todos foram essenciais para o desenvolvimento do meu mestrado.

Aos funcionários do aviário Andréa (Vatapá), Izildo, Renata, Robson e Vicente por todo o auxílio e dedicação na condução dos experimentos. As vezes a situação ficava difícil, como diria o Vicente, mas eles sempre estavam presentes.

Aos membros das bancas de qualificação (Prof. Dr. Edney Pereira da Silva e Dr. Matheus de Paula Reis) e de defesa (Prof. Dr. Antônio Gilberto Bertechini e Dr. Flavio Longo) pela disponibilidade, colaborações, críticas sempre construtivas e ensinamentos.

À minha família pela torcida. Gostaria de agradecer especialmente aos meus tios João Paulo Varella, Ivone Varella, Regina Varella, Sérgio Varella (*in memoriam*), Luiz Varella, José Marcos Varella, Ana Ribeiro, aos meus primos João Pedro e Fernanda e à minha cunhada Paula Cury pelo apoio e crescimento durante essa jornada.

Ao meu namorado Henrique de Sousa Nogueira pelo amor, por sempre me motivar, me aconselhar e por sempre estar comigo e me fazer sorrir nas horas mais difíceis.

À família Nogueira por me acolherem com muito amor à família. Gostaria de agradecer especialmente ao Odilon pelos sábios conselhos e pelo carinho.

Às minhas amigas Camila, Letícia e Marina por sempre me escutarem quando meu coração estava aflito e por sempre me ajudarem com uma palavra ou um sorriso.

Ao meu amigo e companheiro acadêmico Raphael Perini, que esteve comigo desde a preparação para a prova do mestrado até às aulas de estatística, pela amizade e pelas risadas.

À república Antro do HV pela amizade e companheirismo.

À minha gata Clau por alegrar meus dias e por ter sido minha anjinha durante todo o mestrado.

À todos os frangos que deram suas vidas por esse trabalho.

SUMÁRIO

CAPITULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
Introdução	1
Revisão de literatura	2
Importância biológica do fósforo	2
Fontes de fósforo na alimentação de frangos de corte: desempenho e características ósseas	4
Disponibilidade biológica de fontes de fósforo.....	6
Estratégias nutricionais na redução da excreção de fósforo.....	8
Referências bibliográficas.....	11
CAPITULO 2 – ORGANIC PHOSPHORUS AS AN ALTERNATIVE TO CONVENTIONAL PHOSPHORUS SOURCES IN BROILER DIETS	16
Abstract.....	16
Introduction	17
Materials and Methods.....	18
Results	21
Discussion.....	22
Conclusions	26
References.....	27

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação de diferentes fontes de fósforo sobre desempenho produtivo e características ósseas de frangos de corte criado de 1 a 42 dias de idade**", protocolo nº 016538/17, sob a responsabilidade da Prof.^a Dr.^a Nilza Kazue Sakomura, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 31 de outubro de 2017.

Vigência do Projeto	29/01/2018 a 12/03/2018
Espécie / Linhagem	Cobb 500
Nº de animais	1440
Peso / Idade	45g / 1 dia de vida
Sexo	Macho
Origem	Incubatório Pluma Agroavícola

Jaboticabal, 31 de outubro de 2017.


Profª Drª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES FONTES DE FÓSFORO SOBRE DESEMPENHO PRODUTIVO E CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS DE FRANGOS DE CORTE CRIADO DE 1 A 42 DIAS DE IDADE

RESUMO – Foram conduzidos dois ensaios para avaliar os efeitos da suplementação de diferentes fontes de fósforo sobre o desempenho, digestibilidade de minerais e características ósseas de frangos de corte. Um total de 1,200 frangos machos, Cobb 500® foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e dez repetições com 30 aves cada. Os tratamentos experimentais consistiram de duas dietas formuladas, diferindo entre si quanto à fonte de P: fosfato bicálcico (FB) ou farinha de carne e ossos (FCO). Nos outros dois tratamentos, a única fonte de fósforo disponível foi o ácido fosfórico conjugado com ácido ricinoleico, que foram incluídos a 1kg/ton (FO - 1,0) e 1,5kg/ton (FO - 1,5). Aos 21 e 42 dias de idade, aves e rações foram pesados para determinar o ganho de peso corporal (GP) e o consumo de ração (CR). A conversão alimentar (CA) foi obtida a partir desses dados. Aos 42 dias de idade, duas aves por unidade experimental foram selecionadas, abatidas e tiveram as tíbias removidas para posterior análise do teor de Ca, P e cinzas. Para o ensaio de digestibilidade, 240 frangos de corte machos da linhagem Cobb 500®, foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 10 repetições, sendo 6 animais por unidade experimental. Os tratamentos foram representados pelas mesmas dietas utilizadas no ensaio de desempenho. As aves receberam as dietas experimentais por 10 dias (do 15º ao 25º de idade), sendo cinco dias de adaptação e cinco dias para coleta de excretas. O consumo e as excretas foram contabilizadas para determinação da digestibilidade de Ca e P das dietas. Na fase inicial, aves alimentadas com as dietas contendo FCO apresentaram o maior GP em comparação aos outros grupos do tratamento ($P < 0,05$). Aves alimentadas com o menor nível de FO tiveram a menor CA e GP entre os tratamentos ($P < 0,05$). Aves alimentadas com dietas contendo FCO e FB não diferiram entre si em relação aos valores de CA. No período total, o GP foi maior em aves alimentadas com dietas de FCO e FB e menor em aves alimentadas com FO. Ao contrário da fase inicial, não houve diferença significativa na CA entre os tratamentos. Frangos de corte alimentados com as dietas FB e FCO apresentaram teor de cinzas ósseas igual, cujas médias foram maiores em comparação com frangos de corte alimentados com as dietas FO. Frangos de corte alimentados com dietas contendo FO apresentaram menor concentração de P e Ca nos ossos em comparação com dietas contendo frango contendo FB, mas apresentaram conteúdo igual em P e Ca para frangos de corte alimentados com dietas FCO. A digestibilidade do P foi de 71, 69, 75 e 79%, enquanto para o Ca foram 72, 72, 70 e 78% para os tratamentos FB, FCP, FO (1,0) e FO (1,5), respectivamente. Não houve diferença na digestibilidade de P e Ca quando as aves foram alimentadas com dietas contendo FB e FCO. No entanto, os resultados indicam que as aves que receberam FO (1,5) melhoraram a digestibilidade de P e Ca. O aumento no nível de FO também aumentou a digestibilidade do P ($P < 0,05$). Com base nos resultados, a digestibilidade de P e Ca foi maior quando as aves receberam dietas com ácido fosfórico conjugado com ácido ricinoleico, o que pode contribuir para a redução desses minerais para o meio ambiente.

Palavras-chave: aves, digestibilidade, meio ambiente, minerais quelatados, tíbia

EVALUATION OF DIFFERENT SOURCES OF PHOSPHORUS ON THE PERFORMANCE AND BONE CHARACTERISTICS OF BROILERS FROM 1 TO 42 DAYS OF AGE

ABSTRACT – Two trials were conducted to evaluate the effects of supplementation of different sources of phosphorus on performance, nutrient digestibility and bone characteristics of broilers. A total of 1,200 d-old male Cobb500[®] broilers were randomly assigned to one of four dietary treatments with ten replicates of 30 birds. Experimental treatments consisted of two diets formulated, differing from each other with regard to the source of available P: dicalcium phosphate (DP) or meat-bone meal (MBM). In the other two treatments, despite the phosphorus contained in cereals, the unique source of available phosphorus was the phosphoric acid conjugated with ricinoleic acid, which were included at 1kg/ton (OP – 1.0) and 1.5kg/ton (OP – 1.5). At 21 and 42 d of age, birds and feeders were weighted to determine body weight gain (BWG) and feed intake (FI). Feed conversion ratio (FCR) was obtained from these data. At 42 d of age, two broilers per pen were selected, slaughtered and tibia were removed for further analysis of calcium (Ca), P and ash content. For the digestibility assay, a total of 240 males, Cobb 500[®] were randomly distributed in four treatments and 10 replicates of six broilers each. The diets tested in digestibility trial were the same used in performance assay. Broilers received the experimental diets for 10 days (from 15 to 25 days old), five days of adaptation and five days for excreta collection. The excreta was sampled to determine dry matter, total inorganic P and Ca used to calculate digestibility of P and Ca. In the starter phase, broiler feed with diets containing MBM as main source of P exhibited the highest BWG compared with other treatment groups ($P < 0.05$). Birds fed the lowest level of OP had the lowest FI and BWG among treatments ($P < 0.05$). Birds fed diets containing MBM and DP did not differ from each other with respect to FCR values. Overall period, BWG was higher in birds fed MBM and DP diets and lower in birds fed OP. Contrary to the starter phase, FCR was unaffected by treatments in the overall period. Broilers fed DP and MBM diets exhibited equal bone ash content, whose means were higher compared with broilers fed OP (1.0) and OP (1.5) diets. Broilers fed OP diets exhibited lower P and Ca concentration in bones compared with broiler fed diets containing DP, but exhibited equal P and Ca content to broilers fed MBM diets. The digestibility of P were 71, 69, 75, and 79%, whereas for Ca were 72, 72, 70, and 78% for treatments DP, MBM, OP (1.0) and OP (1.5), respectively. There was no difference ($P > 0.05$) on digestibility of P and Ca when birds are fed with diets containing DP and MBM as the main source of phosphorus. However, the results indicate that birds receiving an OP at 1.5 kg/ton diet improved the digestibility of P and Ca, compared to the other treatments. The increase in the level of OP also increased the digestibility of P ($P < 0.05$) with no impact on Ca. Based on results, the digestibility of P and Ca was higher when birds received diets with phosphoric acid conjugated with ricinoleic acid, which may contribute to the reduction of these minerals to the environment.

Keywords: chelated minerals, digestibility, environmental, poultry, tibia bone

CAPITULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Introdução

Avanços no conhecimento científico e a modernização do setor avícola elevaram a cadeia de produção de frangos de corte a um patamar de excelência o que permitiu ao longo de anos a conquista e manutenção de importantes mercados consumidores. Dentre os elos que compõem a cadeia de produção de frangos de corte, a nutrição perfaz aproximadamente 70% dos custos finais de produção. Desta forma, a adoção de estratégias que otimizem a eficiência com a qual os nutrientes são convertidos em produtos cárneos é fundamental para obtenção de ótima produtividade sob condições de mínimo custo. Aparte da fração orgânica dos alimentos, minerais desempenham importantes funções no metabolismo animal, sendo seu aporte determinante na expressão do desempenho animal. O fósforo é um macromineral, envolvido em importantes funções estruturais e metabólicas no organismo animal. Contudo, aproximadamente 65% da fração de fósforo presente nos cereais utilizados na alimentação animal se encontra sob forma de fósforo fítico (ROSTAGNO et al., 2017), estando, portanto, indisponível para as aves.

Do reduzido teor de fósforo disponível nos alimentos decorre a necessidade da suplementação de fontes exógenas de fósforo em dietas de aves para o atendimento de suas exigências nutricionais por tal mineral. Tradicionalmente utilizado na nutrição avícola, o fosfato é um íon constituído de fósforo, extraído de rochas, cujas reservas globais tem previsão de esgotamento para os próximos 50 – 100 anos (CORDELL; DRANGERT; WHITE, 2009; NESET; CORDELL, 2012). A indústria avícola tem optado por substituir parcial ou totalmente o fosfato bicálcico da ração por farinhas de origem animal (FOA) obtidas após o processamento e tratamento físico-químico de subprodutos de abate, que garantem sua transformação em fonte de proteína, aminoácidos, cálcio e fósforo. Embora vantajosa, a inclusão de FOA enfrenta alguns entraves como a falta de padronização em sua composição nutricional e o risco de contaminação microbiológica. Ao ponderar tais fatores e o fato de que importantes mercados consumidores não admitem a importação de carne de animais alimentados com proteínas de origem animal, como por exemplo a união europeia, o uso da farinha de carne e ossos como alternativa ao uso de fosfato bicálcico tem sido reconsiderado nas plantas industriais de rações.

Fontes de minerais ligadas quimicamente a moléculas orgânicas tiveram seu uso difundido nos últimos anos em decorrência de sua superior biodisponibilidade em relação às tradicionais como carbonatos, sulfatos, óxidos e ácidos. Devido a sua maior eficiência de absorção e metabolização, tais fontes são normalmente incluídas em menor concentração nas dietas para aves quando comparadas às fontes tradicionais e garantem menor excreção mineral no meio ambiente. Ao contrário de microminerais, pouco se tem conhecimento acerca da viabilidade e benefícios da utilização de fontes de fósforo orgânicas no desempenho e mineralização óssea de frangos de corte. Ao considerar o potencial da quelação sobre o aproveitamento de minerais pelo organismo e a necessidade de validar fontes alternativas de fósforo, o uso de fontes orgânicas do mineral em questão na alimentação de aves revela-se promissora.

O ácido fosfórico é um ácido inorgânico, cuja biodisponibilidade relativa é 20% superior ao fosfato bicálcico (ROSTAGNO et al., 2017), enquanto o ácido ricinoleico é um ácido graxo ômega 9 que ocorre naturalmente no óleo da mamona. A conjugação do ácido fosfórico com ácido graxo somado à adição de fitase confere, em teoria, ao mesmo a propriedade de ser absorvido na forma de micela no intestino delgado e de liberar fósforo fítico que potencialmente poderia aumentar sua biodisponibilidade. Frente à importância biológica do fósforo e a necessidade de desenvolver estratégias que mitiguem sua excreção ambiental; objetivou-se avaliar o efeito de dietas suplementadas com diferentes fontes de fósforo disponível sobre o desempenho produtivo e características ósseas de frangos de corte, assim como sua digestibilidade.

Revisão de literatura

Importância biológica do fósforo

O fósforo desempenha papel fundamental nos diversos processos biológicos que ocorrem no organismo. Aproximadamente 80% do fósforo presente no organismo está depositado nos ossos (BERTECHINI, 2012). A deficiência de fósforo pode comprometer a formação óssea das aves, resultando em anomalias como o raquitismo em animais jovens, osteoporose, osteomalácia, discondroplasia tibial ou mesmo desmineralização óssea (QIAN et al., 1996; BERTECHINI, 2012). Além de participar da formação da matriz óssea, destaca-se sua participação na composição dos ácidos nucléicos e nos fosfolípidios que constituem a membrana celular dos

tecidos do organismo, o que lhes confere fluidez, estabilidade e permeabilidade seletiva aos mais diversos substratos. A associação de uma molécula de colina com o grupo fosfato dos fosfolipídios, forma a fosfatidilcolina, cuja participação na formação de lipoproteínas auxilia no transporte de lipídios e substâncias lipossolúveis (ex. colesterol, vitaminas lipossolúveis...) entre os diferentes tecidos no organismo. Além da participação indireta no transporte de vitaminas lipossolúveis através do mecanismo supracitado, o fósforo também está envolvido na absorção intestinal e retenção celular de algumas vitaminas do complexo B. Ao chegar no intestino delgado as vitaminas B2 (riboflavina) e B6 (piridoxina) tem seu grupamento 5'-fosfato hidrolisado por fosfatases intestinais, o que permite a passagem do lúmen intestinal para o interior dos enterócitos via transporte passivo. Após sua absorção, ambas as vitaminas são novamente fosforiladas, o que resulta em sua retenção no interior da célula (SHAPSES, 2013).

O fósforo também está envolvido no equilíbrio ácido-base do sangue, através do mecanismo tampão fosfato (GOFF, 2006). Íons fosfato são efetivos tampões que atenuam mudanças no pH sanguíneo e desta maneira mantém o equilíbrio entre bases e ácidos no sangue. Em situações onde observa-se aumento na concentração de íons H^+ no fluido extracelular, íons fosfato HPO_4^{2-} são combinados aos íons H^+ para formar $H_2PO_4^-$. Da mesma forma, frente à redução na concentração de íons H^+ no fluido extracelular, observa-se dissociação de $H_2PO_4^-$, acarretando na formação de HPO_4^{2-} e na liberação de íons H^+ no fluido extracelular (SHAPSES, 2013). Com relação ao metabolismo, o fósforo é notadamente conhecido por integrar as moléculas de ATP e GTP que são importantes carreadores de energia em reações bioquímicas que envolvem a remoção de grupos fosfato. A energia contida nestas moléculas garante a ocorrência de biossíntese e catabolismo de moléculas orgânicas, contração e motilidade de tecidos, como também, transporte celular ativo de solutos. O fosforo integra a molécula de fosfocreatina que constitui um éster fosfato de alta energia armazenado no tecido muscular. A fosfocreatina é utilizada para reestabelecer níveis de ATP no músculo através da doação de seu grupo fosfato para uma molécula de ADP na reação catalisada pela creatina quinase. Reações de fosforilação em resíduos de aminoácidos como serina, treonina ou tirosina em proteínas implicam no controle da atividade de enzimas que regulam o metabolismo animal e a adição ou remoção de grupos fosfato via ação de quinases ou fosfatases em proteínas estimulam por

exemplo a expressão do mTOR (protein target of rapamicin) que por sua vez estimula o processo de síntese proteica em diversos tecidos do organismo.

Fontes de fósforo na alimentação de frangos de corte: desempenho e características ósseas

Aproximadamente 65% do fósforo que compõe os cereais utilizados na alimentação de animais monogástricos encontra-se na forma de fósforo fítico, enquanto somente 35% da fração total encontra-se disponível para absorção e metabolização pelo organismo (ROSTAGNO et al., 2017). Por consequência, a suplementação de fósforo através de fontes minerais é essencial para garantir adequado aporte nutricional. Os fosfatos são fontes de fósforo comumente suplementados na nutrição de aves, sendo o fosfato bicálcico a forma inorgânica mais utilizada. Contudo, ao escolher a fonte de fósforo suplementar, alguns aspectos como disponibilidade e custo devem ser considerados. Apesar do fósforo proveniente das fontes inorgânicas possuir disponibilidade equivalente a 100%, somente 70% é digestível para aves (ROSTAGNO et al., 2017). Além disso, o fósforo inorgânico é, entre os elementos minerais, o mais oneroso, participando de 2,5 a 3% do custo total de uma ração (BORGES, 1997).

Como alternativa às fontes minerais tradicionais surge a farinha de carne e ossos, que tem em sua composição ossos e tecido cárneo proveniente das linhas de abate animal, que fora dos padrões de cortes e de qualidade da indústria alimentícia tem sua comercialização inviabilizada para alimentação humana (BELLAYER, 2005). Após seu processamento, estes subprodutos de graxarias são tratados física e quimicamente e dão origem à uma fonte de proteína, ácidos graxos essenciais, fósforo e cálcio de alta qualidade. Ao reconhecer os benefícios da utilização de farinha de carne e ossos para além da ótica econômica, destaca-se o apelo ambiental de sua inclusão em dietas para frangos de corte, visto que caso não utilizados como ingrediente, os resíduos provenientes da indústria de produção e processamento de carnes seriam descartados no meio ambiente ou incinerados, resultando em poluentes no ar, solo e/ou recursos hídricos.

Neste contexto, com objetivo de validar a utilização deste ingrediente como fonte de fósforo disponível para frangos de corte, diversas pesquisas foram realizadas

ao longo dos últimos anos. Caires et al. (2010) ao substituírem totalmente o fosfato bicálcico por farinha de carne e ossos em dietas isonutritivas para frangos de corte nas fases inicial, de crescimento e terminação não verificaram efeito deletério da substituição sobre o desempenho produtivo e características de carcaça das aves. De forma similar, Appelt et al. (2010) ao incluírem farinha de carne e ossos em dietas para frangos de corte em substituição parcial ao fosfato bicálcico verificaram desempenho produtivo e características de carcaça similares ao grupo de aves alimentados com dietas contendo somente fosfato bicálcico. Bozkurt, Basmacioglu e Ergül (2004) ao incluírem farinha de carne e ossos em dietas para frangos de corte na fase de crescimento/terminação não verificaram diferenças no desempenho de aves em função das diferentes fontes de fósforo. Borsoi (2011) ao substituir 25, 50, 75 e 100% do fosfato bicálcico de dietas para frangos de corte no período inicial (1 a 21 dias) e de crescimento (22 a 42 dias) por farinha de carne e ossos não verificou redução no desempenho das aves frente ao aumento no percentual de substituição do fosfato bicálcico.

O fósforo desempenha um importante papel estrutural no organismo, em função de sua participação no desenvolvimento e formação do tecido ósseo. Aproximadamente 80% do fósforo presente no corpo da ave encontra-se depositado nos ossos, de modo que a carência do macromineral na dieta ocasiona fragilidade e deformações ósseas (BERTECHINI, 2012). Visando uniformidade de lote e qualidade de carcaça na produção avícola, a deficiência mineral também ocasionaria prejuízos pois, segundo estudo conduzido por Angel (2007), os problemas ósseos representam até 3% das perdas no processo, o que reitera a essencialidade de se considerar variáveis de qualidade óssea na avaliação de níveis e/ou fontes de fósforo para aves. Embora, estudos envolvendo a inclusão de farinha de carne e ossos para aves tenham comprovado a efetividade do alimento em substituir parcial ou totalmente o fosfato bicálcico ou outras fontes minerais, poucos relatos constam na literatura acerca dos efeitos de tal estratégia nutricional sobre variáveis de qualidade óssea. Ao avaliarem a substituição de fosfato bicálcico por farinha de carne e ossos sobre o conteúdo de cinzas, cálcio e fósforo dos ossos de frangos de corte Valle (2012) não verificou efeitos deletérios da estratégia nutricional sobre as variáveis avaliadas. Estes resultados corroboram aqueles observados por Brugalli et al. (1999) que analisaram o efeito da substituição de fosfato bicálcico por farinha de carne e ossos em dietas para frangos na fase inicial.

Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), no ano de 2017, o Brasil exportou o equivalente a 4,32 milhões de toneladas de carne de frango, liderando assim o ranking de exportação. O destino para a carne brasileira inclui a União Europeia que devido a ocorrência da encefalopatia espongiforme bovina no continente, vetou o uso das farinhas de origem animal nas rações para animais (Regulamento (UE) N.º 142/2011), o que por sua vez limita a inclusão de farinha de carne e ossos na alimentação de frangos de corte. O mercado de carnes no Oriente Médio também vem apresentando restrições quanto ao uso de FOA na alimentação animal. Ao longo dos anos, a Arábia Saudita se constituiu em um dos maiores importadores de carne de frango do Brasil, entretanto, grande parte desse resultado deve-se ao cumprimento das exigências relacionadas às normas impostas pelo país, como o uso de dietas formuladas estritamente com alimentos de origem vegetal na alimentação animal. Considerando que os continentes asiático e europeu constituem uma parcela significativa de mercados consumidores, adequar a produção de frangos de corte às especificações de ambos os mercados é fundamental para a expansão das exportações brasileiras de carne e cortes de frangos de corte.

Disponibilidade biológica de fontes de fósforo

A disponibilidade biológica de um nutriente pode ser definida como a proporção ingerida capaz de ser absorvida e estar disponível para os processos fisiológicos no organismo animal (SAKOMURA et al., 2016). A absorção e metabolização do fósforo é influenciada por fatores como idade da ave, sexo, ambiente e genética. Da mesma forma, fatores nutricionais como o aporte dietético de cálcio e vitamina D, assim como a fonte de fósforo suplementada na dieta constituem fatores determinantes na biodisponibilidade do fósforo proveniente da dieta. Minerais são tradicionalmente suplementados em dietas para aves na forma de sais como sulfatos, carbonatos, cloretos ou de óxidos (HENMAN, 2001; CLOSE, 2003). Ao entrar em contato com as secreções digestivas produzidas pelo trato gastrintestinal da ave, esses sais se dissociam, podendo formar complexos com outras moléculas presentes no lúmen estomacal ou intestinal, resultando em menor absorção dos mesmos pelo organismo. Fosfatos são exemplos de sais que ao se dissociarem no trato gastrintestinal formam

complexos com microminerais ou até mesmo com o cálcio tornando o fósforo pouco ou indisponível para absorção intestinal (SECHINATO, 2003).

Íons fosfato (HPO_4^{2-}) são potencialmente absorvidos no intestino delgado por dois mecanismos distintos: transporte paracelular e transcelular (FUCHS E PETERLIK, 1979; PETERLIK et al., 1981). O transporte paracelular do fósforo ocorre por difusão passiva, enquanto o transporte transcelular depende de sódio para sua ocorrência. O principal cotransportador de fósforo na borda em escova do epitélio do intestino delgado é o NaP-IIb (HAN et al., 2009), cuja expressão é modulada pela concentração de fósforo no lúmen intestinal (NIE et al., 2013; HUBER et al., 2015). Em ensaios de biodisponibilidade normalmente considera-se como fonte padrão o fosfato bicálcico para se determinar a biodisponibilidade relativa de outras fontes. Ao avaliar a biodisponibilidade do conteúdo de fósforo de farinhas de carne e ossos com diferentes diâmetros geométricos (fina - 0,42 mm; média - 0,51 mm; grossa - 0,59 mm) para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade, Brugalli et al., (1999) verificaram que o fósforo contido nas farinhas de carne ossos apresentaram biodisponibilidade 34,70% (grossa), 30,60% (média) e 25,66% (fina) superior ao do fosfato bicálcico independentemente do tamanho de partícula das farinhas ao considerar o ganho de peso das aves. Ao considerar o peso da tíbia, os autores em questão observaram biodisponibilidade 14,33%, 9,34% e 26,99% superior para o fósforo das farinhas de tamanho de partícula grossa, média e fina, respectivamente, em comparação ao fosfato bicálcico. Com relação à composição química da tíbia, os autores constataram maior biodisponibilidade relativa de fósforo em comparação ao fosfato bicálcico em aves alimentadas com dietas contendo as farinhas de carne e ossos com tamanho de partícula média e fina.

Em geral, pesquisas com organometais envolvem microminerais, enquanto pouco ou nenhum enfoque é dado aos macrominerais como cálcio e fósforo, cujo estudo da biodisponibilidade geralmente restringe-se às fontes inorgânicas. Com base em estudos anteriores, sabe-se que minerais traço quelatados possuem biodisponibilidade superior aos sais inorgânicos, uma vez que são absorvidos por carreadores intestinais de aminoácidos e peptídeos, além de serem prontamente transportados para os tecidos (RUTZ et al., 2007). Leeson e Summers (2001) definem os minerais quelatados também chamados de orgânicos, como sendo moléculas de minerais que são ligadas a algum tipo de carreador e de possuírem a capacidade de se ligar ao metal por ligações covalentes. Devido a forma iônica apresentada pelos

minerais inorgânicos, a complexação com outros componentes da dieta dificulta a absorção de elementos como o cálcio, tornando-os indisponíveis aos animais (ARAÚJO et al., 2008). A utilização de minerais quelatados seria uma alternativa, já que são absorvidos pelas moléculas orgânicas que os ligam, evitando assim a competição entre minerais pelo mesmo sítio de absorção (KIEFER, 2005). A complexação do ácido fosfórico, cuja biodisponibilidade média é 20% superior à do fosfato bicálcico (ROSTAGNO et al., 2017) com o ácido ricinoleico, um ácido graxo de ômega 9, monoinsaturado e de baixo ponto de fusão, confere ao mesmo propriedades que influenciam diretamente na biodisponibilidade. Em geral, a conjugação de ácidos graxos insaturados de cadeia longa com os sais biliares proporciona melhor digestibilidade por facilitar o transporte e a absorção durante a formação de micelas (LESSON, 1993).

Estratégias nutricionais na redução da excreção de fósforo

Ao longo das décadas, a suplementação de fósforo nas dietas foi amplamente utilizada na otimização do desempenho animal. Tradicionalmente, as fontes minerais utilizadas nas rações de frangos de corte são oriundas de compostos inorgânicos de origem geológica. Contudo, com a crescente preocupação sobre os efeitos da excreção de fósforo no meio ambiente, a biodisponibilidade dos fosfatos tem sido questionada, uma vez que a dissociação dos sais e a formação de complexos com outras moléculas presentes no trato gastrointestinal, resulta em menor absorção dos mesmos pelo organismo. Tendo em vista a incerteza na biodisponibilidade dos minerais, os níveis de fósforo fornecidos nas dietas são frequentemente superiores aos exigidos, influenciando diretamente no custo da ração e na excreção excessiva de minerais no meio ambiente. Nesse sentido, é relevante estabelecer margens de segurança para os minerais, especialmente o fósforo, assim como a utilização de fitase e a contribuição das várias fontes que suportam o desempenho produtivo enquanto reduzem a excreção de fósforo (WALDROUP, 1999).

Dois terços do P nos cereais utilizados na ração animal estão presentes na forma de fosfatos de mio-inositol ligados ao ácido fítico (LI et al., 2000), estando, portanto, indisponíveis aos animais monogástricos, o que torna necessária a inclusão de fontes exógenas de fósforo nas dietas para o atendimento de suas exigências

nutricionais. Entre as enzimas exógenas produzidas industrialmente, a fitase é a enzima que mais se destaca em virtude da alta eficiência na liberação de fitato e na subsequente disponibilidade de P para absorção (MENEGETTI, 2009; WALDROUP, 1999). Desde os estudos pioneiros (NELSON; FERRARA; STORER, 1968), a biotecnologia permitiu o desenvolvimento da fitase (mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase) e conseqüentemente, o conhecimento sobre a eficiência da enzima. A fitase além de uma alternativa econômica, uma vez que o fósforo é indicado como o terceiro nutriente mais caro da ração (BOLLING et al., 2000), influencia indiretamente na diminuição da excreção de minerais, tendo em vista a maior disponibilidade de nutrientes para a ave. Elucidando a relação negativa entre a digestibilidade do cálcio e o fitato, Ravindran et al. (2006) comprovaram a redução da disponibilidade do mineral com o aumento da concentração de fitato em dietas para frangos de corte. Assim como o fósforo, os cátions bivalentes também possuem capacidade de quelação com a molécula de fitato, tornando-os indisponíveis ao organismo.

No Brasil, é recorrente o uso de dejetos de aves como adubo, uma vez que os solos do país são pobres em fósforo (RODRIGUES et al., 2007). No entanto, a aplicação excessiva na adubação pode saturar a capacidade do solo e ultrapassar o nível máximo de fósforo necessário ao desenvolvimento de plantas, o que acarreta a lixiviação dos minerais e conseqüentemente, a eutrofização das águas (DONATO, 2009). Meneghetti et al. (2011) observaram diminuição linear na excreção de P na fase inicial de frangos de corte submetidos a dietas contendo diferentes níveis de fitase. Este fato elucidada a ação da fitase em disponibilizar fósforo fítico para os frangos, reduzindo em até 44% do P total presente nas excretas. Estes resultados corroboram com os de Silva (2004) que constatou redução de mais de 50% na excreção de P total das aves que consumiram rações com teores reduzidos de fósforo disponível suplementadas com fitase.

Tradicionalmente, as rações para frangos de corte são compostas por milho e farelo de soja, no entanto, devido ao preço instável dos ingredientes, a utilização de outras matérias primas são recorrentes na produção. Considerando que a atividade da fitase é influenciada por fatores ligados a composição da dieta, assim como a idade das aves, estado fisiológico e aditivos (BERTECHINI, 2012), Conte et al., (2002) avaliaram a biodisponibilidade de fósforo do farelo de arroz em dietas para frangos de corte. Observaram que o ingrediente entre os alimentos de origem vegetal, possui

uma das maiores porcentagens de P total, contudo, devido ao seu teor de fitato, apresenta um dos menores coeficientes de disponibilidade do mineral. A excreção de fósforo foi superior em todos os tratamentos com farelo de arroz, no entanto, com a utilização de níveis crescentes de fitase, foi proporcionado maior disponibilidade do fósforo oriundo do farelo de arroz. A fitase ao hidrolisar o complexo fitato-mineral, libera minerais para absorção, o que aumenta sua digestibilidade e conseqüentemente, reduzindo a excreção de minerais (SEBASTIAN et al., 1996).

Embora as dietas compostas por milho e farelo de soja possuam alta digestibilidade de nutrientes, segundo Bellaver et al. (1983), pode ocorrer uma variação de 18% a 60% na disponibilidade do P e esta variação se deve principalmente a fase fisiológica do animal e ao tipo de alimento. Avaliando a concentração de fósforo na cama de frangos de corte aos 42 dias, Laurentiz et al. (2007) verificaram que a cama de aves alimentadas com dietas reduzidas no teor de fósforo e suplementadas com fitase, apresentou redução de fósforo total na cama quando comparada ao tratamento controle. Do mesmo modo, ao avaliar o teor de minerais na cama de frangos no período de 1 a 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo níveis reduzidos de fósforo disponível e suplementadas com fitase, Silva et al. (2006) concluíram a redução no impacto ambiental, como consequência da redução nos teores de minerais como o fósforo na cama das aves.

Embora estudados desde a década de 60, a utilização de minerais quelatados na nutrição animal é recente e a discussão de sua importância está baseada na maior disponibilidade de minerais em relação às fontes inorgânicas tradicionais. Esta característica possibilita a redução no percentual de inclusão de tais fontes resultando em menor excreção mineral no meio ambiente. Segundo Paik (2001), a utilização de 62,5 ppm de cobre na forma biocomplexada possui o mesmo efeito de uma suplementação de 200 ppm de sulfato de cobre em rações para aves. Tendo em vista que minerais na forma iônica podem se complexar com outros nutrientes da dieta, tornando-os indisponíveis aos animais, a suplementação de minerais fornecidos nas dietas é frequentemente superior aos da exigência afim de garantir o desempenho produtivo das aves, resultando no aumento de nutrientes excretados. Em pesquisa comparando a biodisponibilidade de zinco proveniente de fontes orgânicas e inorgânicas, Wedekind et al. (1992) observaram que o zinco complexado a metionina apresentou disponibilidade de 206% comparada com 100% de disponibilidade do

sulfato de zinco, enquanto que em estudos mais recentes, Tucker (2008) relatou a disponibilidade de zinco orgânico em 183% quando comparado ao mineral na forma iônica. A absorção dos minerais quelatados tem a efetividade dependente da capacidade de se complexar com elementos que possuam cargas ou de competir por outros carreadores no conteúdo do trato gastrointestinal (KRATZER; VOHRA, 1986).

A manutenção dos recursos de fósforo foi identificada como um dos maiores desafios para a produção sustentável de alimentos (NESET; CORDELL, 2011). Para o setor avícola, isso significa a adoção de estratégias nutricionais que possam minimizar o fornecimento de minerais poluentes e maximizar a sua eficiência pelos animais. Quando considerado o teor poluente dos subprodutos de abatedouros, as farinhas de origem animal desempenham um papel importante na reutilização de nutrientes e na preservação do meio ambiente. No entanto, tendo em vista a exportação de carne de frango, as farinhas de carne e ossos têm seu uso limitado na formulação de dietas. Assim, os minerais quelatados compõem uma alternativa para reduzir a excreção de fósforo, uma vez que são adicionados em menores quantidades nas rações e apresentam melhor disponibilidade de minerais quando comparados as fontes de fósforo tradicionalmente utilizadas pela indústria.

Referências bibliográficas

ABPA, 2018. Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório Anual 2018. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais/2018>>. Acesso em: 30 set. 2018.

ANGEL, R. Metabolic disorders: limitations to growth of and mineral deposition into the broiler skeleton after hatch and potential implications for leg problems. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 16, n. 1, p. 138-149, 2007.

APPELT, M.D.; NUNES, R.V.; POZZA, P.C.; SILVA, W.T.M.; VENTURI, I.; APPELT, C.G.V.N. Níveis de probiótico em rações de origem animal e vegetal para frangos de corte Levels of probiotics in animal and vegetal origin feed for broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n.4, p.765–771, 2010.

ARAUJO, J.A.; SILVA, J.H.V.; AMÂNCIO, A.L.L.; LIMA, C.B.; OLIVEIRA, E.R.A. Fontes De Minerais Para Poedeiras. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.23, n.3, p.53–60, 2008.

BARBOSA, A.A.; MORAES, G.H.K.; TORRES, R.A.; REIS, D.T.C.; RODRIGUES, C.S.; MÜLLER, E.S. Avaliação da qualidade óssea mediante parâmetros morfométricos , bioquímicos e biomecânicos em frangos de corte Evaluation of bony quality through biochemical , morphometrics and biomechanical aspects of broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n. 4, p.772–778, 2010.

BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. Editora UFLA: Lavras, 2012. p. 219-234.

BOLING, S.D.; DOUGLAS, M.W.; JOHNSON, M.L.; WANG, X.; PARSONS, C.M.; KOELKEBECK, K.W.; ZIMMERMAN, R.A. The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens. **Poultry Science**, v.79, n.2, p.224–230, 2000.

BORGES, F.M.; VELOSO, J.; BAIÃO, N.C.; CARNEIRO, M.I. Avaliação de fontes de fósforo para frangos de corte em crescimento, considerando-se o fósforo disponível. **Arq. bras. med. vet. zootec**, v.49, n. 5, p. 629-38, 1997.

BOZKURT, M.; BASMACIOGLU, H.; ERGÜL, M. Effect of dietary concentration meat and bone meal on broiler chickens performance. **International Journal of Poultry Science**, v.3, n.11, p.719-723, 2004.

BRITO, J.Á.G. DE; BERTECHINI, A.G.; FASSANI, É.J; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T. DE. Uso de microminerais sob a forma de complexo orgânico em rações para frangas de reposição no período de 7 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1342–1348, 2006.

BROOKS, M.A.; GRIMES, J.L.; LLOYD, K.E.; VERISSIMO, S.; SPEARS, J.W. Bioavailability in chicks of zinc from zinc propionate. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.22, n.2, p. 153–159, 2013.

BROOKS, M.A.; GRIMES, J.L.; LLOYD, K.E.; VALDEZ, F.; SPEARS, J.W. Relative bioavailability in chicks of manganese from manganese propionate. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.21, n.1, p.126–130, 2012.

BRUGALLI, I.; SILVA, D.J.; ALBINO, L.F.T.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S.; SILVA, M.A. Exigência de fósforo disponível e efeito da granulometria na biodisponibilidade de fósforo da farinha de carne e ossos para pintos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.6, p.1288–1296, 1999.

CAIRES, C.; FERNANDES, E.; FAGUNDES, N.; CARVALHO, A.; MACIEL, M.; OLIVEIRA, B. The use of animal byproducts in broiler feeds: use of animal co-products in broilers diets. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.12, n.1, p.41–46, 2010.

CONTE, A.J.; TEIXEIRA, A.S.; FIGUEIRÊDO, A.V.; VITTI, D.M.S.S.; FILHO, J.C.S. Efeito da fitase na biodisponibilidade do fósforo do farelo de arroz em frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.4, p.547–552, 2002.

CORDELL, D.; DRANGERT, J.O.; WHITE, S. The story of phosphorus: Global food security and food for thought. **Global Environmental Change**, v.19, n.2, p. 292–305, 2009.

DA SILVA, Y.L.; RODRIGUES, P.B.; DE FREITAS, R.T.F.; BERTECHINI, A.G.; FIALHO, E.T.; FASSANI, E.J.; PEREIRA, C.R. Redução de proteína e fósforo em rações com fitase para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade. Desempenho e teores de minerais na cama. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n. 3, p.840–848., 2006.

DA SILVA, Y.L. **Redução dos níveis de proteína e fósforo em rações com fitase para frangos de corte: desempenho, digestibilidade e excreção de nutrientes.** 2004. 210 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - UFLA, Lavras, 2004.

DONATO, D.C.Z. **Desempenho , balanço metabólico , digestibilidade de minerais e mineralização óssea por frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes níveis de cálcio e suplementadas com fitase.** 2009. 97 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - USP, Pirassununga, 2009.

FERNANDES, A.R.; DE PAIVA, H.N.; DE CARVALHO, J.G.; DE MIRANDA, J.R.P. Crescimento e absorção de nutrientes por mudas de freijó (*Cordia goeldiana* Huber) em função de doses de fósforo e de zinco. **Revista Árvore**, v.31, n.4, p.599-608, 2007.

HENRY, P.R.; AMMERMAN, C.B.; MILES, R.D. Relative bioavailability of manganese in a manganese-methionine complex for broiler chicks. **Poultry Science** v.68, n.1, p.107-112, 1989.

JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA. Regulamento (UE) N.º 142/2011. Portugal: Regulamento, 2001.

KIEFER, C. Minerais quelatados na nutrição de aves e suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 2, n.3, p.206-220, 2005.

KRATZER, F.H.; VOHRA, P. Role of phytic acid and other phosphates as chelating agents. **Chelates in Nutrition** p. 49-61, 1986.

KWIECIEN, M.; WINIARSKA-MIECZAN, A.; ZAWISLAK, K.; SROKA, S. Effect of copper glycinate chelate on biomechanical, morphometric and chemical properties of chicken femur. **Annals of Animals Science**, v.14, n.1, p.127-139, 2014.

LAN, G.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S.; HO, Y.W. Effects of freeze-dried *Mitsuoella jalaludinii* culture and Natuphos® phytase supplementation on the performance and nutrient utilisation of broiler chickens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.92, n.2, p.266–273, 2011.

LEESON, S. Recent advances in fat utilization by poultry. **Recent advances in animal nutrition in Australia**, p. 170-181, 1993.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Scoot's Nutrition of the Chicken.** Guelph: Canada, 2001.

LI, Y.C.; LEDOUX, D.R.; VEUM, T.L.; RABOY, V.; ERTL, D.S. Effects of low phytic acid corn on phosphorus utilization, performance, and bone mineralization in broiler chicks. **Poultry Science**, v.79, n.10, p.1444–1450, 2000.

MENEGHETTI, C.; BERTECHINI, A.G.; RODRIGUES, P.B.; FASSANI, E.J.; BRITO, J.A.G.; REIS, M.P.; GARCIA JR, A.A.P. (2011). Altos níveis de fitase em rações para frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.3, p.624–632, 2011.

MILES, R.D.; HENRY, P.R. Relative trace mineral bioavailability. **Ciência Animal Brasileira**, v.1, n. 2, p. 73-93, 2000.

NAHM, K.H. Efficient feed nutrient utilization to reduce pollutants in poultry and swine manure **Critical Reviews in Environmental Science and Technology** , v.32, n.1, p.1-16, 2002.

NELSON, T. S.; FERRARA, L. W.; STORER, N. L. Phytate phosphorus content of feed ingredients derived from plants. **Poultry Science**, v. 47, n. 4, p. 1372-1374, 1968.

NESET, T.S.S.; CORDELL, D. Global phosphorus scarcity: Identifying synergies for a sustainable future. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92,n.1, p.2–6, 2012.

NOLLET, L.; VAN DER KLIS, J.D.; LENSING, M.; SPRING, P. The Effect of Replacing Inorganic With Organic Trace Minerals in Broiler Diets on Productive Performance and Mineral Excretion. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.16, n. 4, p.592–597, 2007.

OLIVEIRA, R.P. **Avaliação do desenvolvimento da discondroplasia tibial em frangos de corte submetidos à dieta com 25 hidroxicolecalciferol: características ultraestruturais**. 2008. 85 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - USP, Pirassununga, 2008.

OLIVEIRA, R.P.; SANTOS, E.T.; SGAVIOLI, S.; GARCIA, R.G.; BARALDI-ARTONI, S.M.; FARIA, D.E. Níveis de Vitamina D Sobre o Desempenho e Desenvolvimento Ósseo de Linhagens de Frangos de Corte. **Ars Veterinaria**, v.31, n.1, p.1–6, 2015.

PAIK, I. Application of chelated minerals in animal production. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.14, n. SPI, p.191–198, 2001.

PIERCE, J.; AO, T.; CHARLTON, P.; TUCKER, L.A. Organic minerals for broilers and laying hens: reviewing the status of research so far. **World's Poultry Science Journal**, v. 65, n.3, p. 493–498, 2009.

QIAN, H.; VEIT, H.P.; KORNEGAY, E.T.; RAVINDRAN, V.; DENBOW, D.M. Effects of Supplemental Phytase and Phosphorus on Histological and Other Tibial Bone Characteristics and Performances of Broilers Fed Semi-Purified Diets. **Poultry Science**, v.75, n.5, p.618–626, 1996.

RAVINDRAN, V.; MOREL, P.C.; PARTRIDGE, G.G.; HRUBY, M.; SANDS, J.S. Influence of an Escherichia coli-Derived Phytase on Nutrient Utilization in Broiler Starters Fed Diets Containing Varying Concentrations of Phytic Acid. **Poultry Science**,v.85, n.1, p.82–89, 2006.

ROSTAGNO, H. S; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I.; DONZELE, J.L.; SAKMOURA, N.K.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M.L.; RODRIGUES, P.B.; PERAZZO, F.G.; BARRETO, S.L.T. OLIVEIRA, R.F.;BARRETO, S.L.T AND BRITO, C.O. Tabelas brasileiras para aves e suínos. 4th ed. UFV, Viçosa, 2017.

RUTZ, F.; PAN, E.A.; XAVIER, G.B. Efeito de minerais orgânicos sobre o metabolismo e desempenho de aves. **Revista Aveworld**, v.7, n. 3, p.2010, 2007.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S.P.; CHAVEZ, E.R.; LAGUE, P.C. The Effects of Supplemental Microbial Phytase on the Performance and Utilization of Dietary Calcium, Phosphorus, Copper, and Zinc in Broiler Chickens Fed Corn-Soybean Diets. **Poultry Science**, v.75, n.6, p.729–736, 1996.

SWIATKIEWICZ, S.; KORELESKI, J.; ZHONG, D.Q. The bioavailability of zinc from inorganic and organic sources in broiler chickens as affected by addition of phytase. **Journal Animal Feed Science**, v.10, n.2, p. 317-328, 2001.

TUCKER, L. (2008) Trace minerals in poultry nutrition-3 Redefining mineral nutrition-What we've learned so far. **World Poultry**, v.24, n.4, p.18-19, 2008.

VALLE, F.L.P. **Uso de fitase em dietas comerciais para frangos de corte contendo ou não ingrediente de origem animal**. 2012. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - UFP, Curitiba, 2012.

WALDROUP, P. Nutritional approaches to reducing phosphorus excretion by poultry. **Poultry Science**, v.78, n.5, p.683–691, 1999.

WEDEKIND, K.J.; HORTIN, A.E.; BAKER, D.H. Methodology for assessing zinc bioavailability: efficacy estimates for zinc-methionine, zinc sulfate, and zinc oxide. **Journal of animal science**, v.70, n.1, p.178–187, 1992.

CAPITULO 2 – Organic phosphorus as an alternative to conventional phosphorus sources in broiler diets

Abstract - Two experiments were conducted to assess the effects of different phosphorus sources on performance, bone characteristics, and diet digestibility in broilers. A total of 1,200 one-d-old male Cobb 500[®] broilers were randomly assigned to one of four dietary treatments with ten replicates of 30 birds. Experimental treatments comprised two diets with different sources of available P, either dicalcium phosphate (DP) or meat-bone meal (MBM); in the other two treatments, the sole source of additional P was organic P (OP) in the form of phosphoric acid conjugated with ricinoleic acid, which was supplemented at 1 kg/t or 1.5 kg/t. At an age of 21 and 42 d, broilers and feeders were weighed to determine performance, and after the experiments, two broilers per pen were selected for further analysis of bone mineral content. In a second experiment, broilers were fed the same diets used in the first to measure digestibility of P and calcium. Despite higher weight gain in the starter phase, the performance of broilers fed DP and MBM were similar at 42 d of age. Broiler performance was impaired when OP was provided at the lowest level. Although performance of the OP-fed individuals differed from the treatment groups fed with MBM and DP, the higher level of OP improved performance, compared to the lower level. Broilers fed DP- and MBM-supplemented diets showed similar bone ash content. Broilers fed OP showed P and Ca content similar to that of broilers fed MBM. The highest level of OP improved P and Ca digestibility compared to the other treatments. These results suggest that OP fed at high concentrations may improve P digestibility which should result in sufficient bone mineralization.

Key Words: environmental pollution, enzyme, organic mineral, poultry

Introduction

In order to increase economic profitability, poultry producers generally aim to increase the efficiency of conversion of animal feed to food products for human consumption. Phosphorus (P) is required in a wide array of metabolic pathways such as bone mineralization and cellular energy metabolism (Bar et al., 2003). Poultry diets that are marginally deficient in P are often associated with performance impairments (Dos Santos et al., 2013) and insufficient bone mineralization (Lee et al., 2017).

Two thirds of P in cereals used in animal diets occurs as myo-inositol phosphates bound to phytic acid (Rostagno et al., 2005), which is poorly utilized by monogastric animals. Dietary P requirements of poultry are typically not met by cereals; therefore, inorganic P sources such as dicalcium phosphate (DP) are frequently added to basic diets. DP supplementation is a widespread practice; however, this feeding method has been reconsidered as global reserves of DP are limited, and DP is an expensive additive, which lowers the profit margin (Cordell et al., 2009). Animal products such meat and bone meal (MBM) have been included in diets in order to substitute DP partially or completely. Such strategies indeed proved to be effective regarding animal performance and for lowering feed costs; however, discrepancies in nutritional composition, microbiological contamination risks, and the resistance of some countries (e.g., countries in the European Union) to allow the production of poultry meat using dietary components derived from carcasses of other production animals limits the applicability of MBM in commercial poultry diets.

As an alternative strategy, phytases have been used in cereal-based poultry diets. However, despite releasing phytate-bound P fraction of ingredients, phytase as the sole additive P source in cereal-based diets typically does not meet the P requirements of poultry. Trace minerals bound to organic molecules have been shown

to exhibit higher bio-availability compared to traditional inorganic salts such oxides and sulfates (Swiatkiewicz et al., 2014). To our knowledge, no study has been conducted previously to assess the effects of organic mineral complexes on P and trace mineral utilization. This study was conducted to evaluate a complex of phosphoric acid with ricinoleic acid in phytase-supplemented diets as an alternative P source to DP and MBM and to assess digestibility of Ca and P in different diets.

Materials and Methods

This study was conducted in Jaboticabal, São Paulo (21° 14' 05" S, 48° 17' 09" W), Brazil. Animal experiments were conducted according to the institutional committee for animal use (process 016538/17). A total of 1,200 1-d-old male Cobb 500[®] broilers were obtained from a commercial hatchery. The broilers were housed in pens containing wood-shavings within an environmentally-controlled room. After hatching, the broilers were weighed to segregate them into treatment groups of similar initial body weight. Broilers were randomly assigned to one of four treatment groups, using ten replicates of 30 individuals, each. Throughout the 42-d feeding experiment, broilers had free access to water and feed (in form of mash). The lighting regime was continuous lighting for 24 h/d.

Four diets were formulated to meet the nutritional requirements recommended by Rostagno et al. (2017), apart from dietary available P (Table 1 and 2). Diets differed with respect to the source of P used, which was either DP, MBM, or organic P (OP). Diets supplemented with DP and MBM contained the exact amount of P recommended by Rostagno et al. (2017) for broilers during the starter phase (1-21 d of age; 0.441% P) and during the grower-finisher phase (22-42 d of age; 0.335% P). In the other two diets, OP was included at 1.0 or 1.5 kg/t as the sole P source other than P contained in the basic diet. OP consisted of phosphoric acid in a complex with ricinoleic acid and

a commercial phytase. According to the manufacturer's specifications, OP at 1.0 kg/t contained an amount of 0.350% of P and 0.270% of Ca. Thus, the P content of feed ingredients and the addition of OP at 1.0 kg/t diet amounted to 0.460% P/kg diet during the starter phase and to 0.449% P/kg diet during the grower-finisher phase; supplementation with 1.5 kg/t OP amounted to 0.635% P/kg diet during the starter phase and to 0.624% P/kg diet during the grower-finisher phase (Table 1 and 2). Commercial phytase with 800 FTU/kg was added to diets supplemented with DP and MBM, considering the matrix of 0.140% for Ca and 0.135% for P.

At 21 and 42 d of age, the broilers and feeders were weighed to determine body weight gain (BW) and feed intake (FI). Feed conversion ratio (FCR) was calculated based on these data. At 42 d of age, two broilers per pen were selected based on body weight ($\pm 5\%$ of the average weight of pen), stunned by electronarcosis, and killed by severing the jugular vein. The right and left tibia were removed, cleaned to remove tissue remnants, dried (at 105 °C for 16 h), and de-fatted in ether for 48 h (method number 932.15; AOAC, 1990). The tibia were weighed, ground, and stored for further analysis of Ca, P, and ash content, according to standard procedures (method number 6869; ISO, 2000; method number 6491; ISO, 1998; method number 942.05; AOAC, 1990).

A total of 240 15-d-old male Cobb 500® broilers were randomly assigned to one of four treatments with ten replicates of six broilers, each. The experiment was performed in an environmentally-controlled room with 40 individual cages (0.5 × 0.5 m). Each cage was equipped with a nipple drinker, an individual trough-type feeder, and an excreta collection tray. Throughout the 10-d experiment, the broilers had unlimited access to water and feed (in form of mash). The lighting regime was continuous lighting for 24 h/d. For excreta collection, the broilers were fed the

experimental diets for 10 d (from 15 to 25 d of age), with 5 d of adaptation and 5 d for total excreta collection (Sibbald and Summers, 1960). At the beginning and the end of the collection period, ferric oxide (1%) was used as a marker. Excreta from broilers within one respective cage were pooled and frozen immediately. The diets tested in the digestibility experiment were the same used in the performance experiment.

The excreta samples were weighed, homogenized, and freeze-dried for 72 h. After drying, the samples were ground using a ball mill for further chemicals analyses. Dry matter (DM), calcium (Ca), and total P were measured in samples of experimental diets and excreta. DM content was determined using standard procedures (method number 934.01; AOAC, 2005). Ca and total P were determined using atomic absorption spectrometry employing standard spectrometric methods (method number 6869; ISO, 2000; method number 6491; ISO, 1998).

Calculations

Apparent digestibility coefficients values were calculated as follows, based on DM:

$$ADC = \frac{\text{mineral intake (g)} - \text{mineral excreta (g)} \times 100}{\text{mineral intake (g)}}$$

where ADC is the apparent digestibility coefficient; mineral intake and mineral excreta (g) represent the analyzed P and Ca concentrations of diet and excreta samples, respectively.

Statistical analyses

Collected data were analyzed using a one-way ANOVA and a GLM procedure in SAS (Statistical Analysis System, version 9.4) software. Means were compared using a Tukey's multiple range test. Statistical significance is reported at $P < 0.05$.

Results

In the starter phase, broiler fed diets containing MBM exhibited the highest weight gain compared with broilers fed diets supplemented with DP or OP ($P < 0.05$; Table 3). Broilers fed diets containing OP showed the lowest mean weight gain among all treatment groups ($P < 0.05$), and the lower OP level resulted in lower weight gain. FI was similar in broilers fed diets containing MBM and DP, but higher than in the OP-supplemented diet group ($P < 0.05$). Broilers fed the lower level of OP showed the lowest FI among all treatments. From 1-21 d of age, OP supplementation led to a poorer FCR, compared with other treatment groups, regardless of the level of supplementation. No difference was observed in FCR between broilers fed diets containing either MBM or DP. In the grower-finisher period, FI showed the same pattern as in the starter period. Weight gain was higher in broilers fed MBM and DP diets than in those fed the OP diets. In contrast to the starter phase, broilers fed OP-supplemented diets did not differ from each other with respect to weight gain during the grower-finisher period ($P > 0.05$). Feed conversion ratio was not significantly affected by treatments during the grower-finisher period ($P > 0.05$).

No differences in ash content were observed between DP and MBM diets (Table 4); however, their mean ash content was higher compared to broilers fed OP diets ($P < 0.05$). Broilers fed the DP diet had higher P and Ca concentrations in the tibia ($P < 0.05$), compared with broilers fed diets containing MBM and OP, and no significant differences in P content were observed between their tibia ($P > 0.05$).

No difference in digestibility of Ca was observed between broilers fed diets supplemented with DP, MBM, or OP at 1 kg/t (Table 5). However, the results indicated that digestibility of P improved in broilers receiving a diet with OP at 1 kg/t, compared to the DP and MBM treatments. Similarly, apparent digestibility of P increased by 5% at the higher level of OP supplementation, compared with the lower OP level ($P < 0.05$).

Discussion

Based on previous evidence indicating that trace minerals in organic complexes or chelates have a higher bioavailability than conventional inorganic salts used in poultry diets, we hypothesized that this concept may also improve P utilization in broilers. The source of organic phosphorus (OP) used in the current study was obtained by complexing phosphoric acid, which has been reported to have better bioavailability than DP (Rostagno et al., 2017), with ricinoleic acid. In contrast to the initial hypothesis, our results suggested that the OP diet resulted in poorer performance than diets containing DP and MBM. In the starter phase, FI was reduced by approximately 12% and 8% under supplementation with OP at 1 kg/t and 1.5 kg/t, respectively, compared to broilers fed diets supplemented with DP. As expected, the overall pattern was similar, and broilers fed diets containing OP at 1 kg/t and 1.5 kg/t consumed 9% and 5% less, respectively, than broilers fed diets containing DP.

There is strong evidence that FI is reduced when diets are marginally deficient in P. Gillis et al. (1948) reported that P deficiency in young chicks led to a decrease in food consumption. Further investigations have also shown that low-P diets result in reduced food consumption in broilers (Lalpanmawia et al., 2014; Lan et al., 2012). In the current study, in both diet treatments supplemented with OP, P was theoretically not a limiting factor, as according to the manufacture's specifications, supplementation with 1 kg/t should provide an amount of 0.35% of P. This amount of P in addition to the fraction of non-phytate P from cereals would exceed the recommendations of Rostagno et al. (2017) for P in broiler diets for the starter and grower-finisher phases. However, our results suggest that diets supplemented with OP may have been deficient in P owing to an overestimation of the nutrient matrix of OP. This conclusion is supported by the fact that broilers fed diets with OP at 1.5 kg/t showed higher FI, which was, however, below the FI of broilers fed the DP- and MB-containing diets.

As a consequence of reduced FI, weight gain was lower in broilers fed OP-supplemented diets. Broilers fed the highest level of OP (1.5 kg/t) showed better weight gain, their performance, however, was below that of broilers fed other P sources. Such responses support the assumption that the nutrient matrix of OP was probably lower than what was presumed for the formulation of the diets. Broiler weight gain in the starter phase was higher in the MBM group than in the DP group. This result supports previous findings that including animal protein in broiler diets improves performance (Hossain et al., 2013). Creatine is an animal protein that is important for cellular energy metabolism (Lemme et al., 2007). The creatine synthesis pathway is initiated in the kidneys where guanidinoacetic acid is formed from glycine and arginine, and it ends in the liver where guanidinoacetic acid is methylated by S-adenosylmethionine to form creatine, which is phosphorylated and stored in cells (Wyss and Kaddurah-Daouk, 2000). In muscle cells, stored creatine prevents depletion of adenosine triphosphate by providing high-energy phosphates to produce adenosine triphosphate from adenosine diphosphate (Wyss and Kaddurah-Daouk, 2000). Animal protein products are typically rich in creatine, thus feeds which contain animal protein may spare the utilization of Gly, Arg, and Met for creatine synthesis, which could be beneficial for broiler growth. Despite better weight gain in the starter phase, the performance of broilers fed MBM- and DP-supplemented diets was similar regarding the overall experimental period. Our results support previous findings that partially or entirely substituting DP by MBM in broiler diets does not compromise performance (Bozkurt et al., 2004; Appelt et al., 2010; Caires et al., 2010; Borsoi, 2011).

Tibia ash content has been reported as the most sensitive indicator of mineral deficiencies, nutritional imbalances, or diseases (Nelson and Walker, 1964; Sakomura and Rostagno, 2016), therefore bone characteristics have been commonly used as

biomarkers to assess the bioavailability of P in mineral sources (Heuser and Norris, 1926; Akpe et al., 1986; Fernandes et al., 1999; Coon et al., 2007). In the current study, we found that broilers fed MBM- and DP-supplemented diets had higher ash contents in the tibia than broilers fed OP-supplemented diets. However, regarding Ca and P content of broiler tibia, OP was as effective as MBM to produce sufficient bone mineralization. Previous studies suggested that usage of P derived from DP is better than of P contained in MBM (Orban et al., 1992; Scott et al., 1962); however, broilers fed MBM-supplemented diets showed the same content of both minerals in the tibiae as those fed DP-supplemented diets. Our results support the findings of Brugalli et al. (1999) and Valle (2010), who found no adverse effects of MBM on Ca and P contents in broiler tibia. It has been suggested that more P is required to support skeletal development and to maintain adequate bone integrity than for optimal growth (NRC, 1994; Waldroup, 1999). However, our results indicate that P requirements for maximal performance are probably higher than those for optimal bone mineralization, as broilers fed MBM-supplemented diets showed better growth performance than those fed OP-supplemented diets, but showed no difference regarding the content of Ca and P in the tibia.

As indicated in Table 5, FI of P in broilers fed diets containing MBM and DP were similar and were higher than in broilers fed the OP-supplemented diets. Regardless of the dosage, the OP treatment groups showed the same intake of P, even though group fed the highest amount of OP exhibited higher weight gain compared with those fed the lowest amount of OP. These responses may provoke the question of why broilers that consumed the same amount of P derived from the same P source differed regarding performance. This may be explained by the composition of the feed additives: the OP source consisted of a complex of phosphoric acid and ricinoleic acid

associated with a fungal phytase. When included at higher levels, OP did not change Pt content of the starter diets (0.497% Pt at 1 kg/t OP vs. 0.484% Pt at 1.5 kg/t OP) or of the grower-finisher diets (0.475% Pt at 1 kg/t OP vs. 0.473% Pt at 1.5 kg/t OP). Moreover, FI was significantly higher; however, the effective difference due to the increase in OP supplementation was considerably small and therefore had little effect on Pt intake. Taken together, these results indicate that improved broiler performance traits were presumably associated with increased P uptake due to the increase in phytase at higher OP levels. In contrast to P retention, no differences were observed in dietary Ca digestibility, indicating that Ca-retaining efficiency was similar in broilers fed DP, MBM, or OP at 1 kg/t.

Phytase-supplemented diets are commonly used in the poultry industry in order to increase dietary phytate-bound P availability and to reduce feeding costs. Recently, the concept of phytase super-doses to decrease phytate esters (myo-inositols) by almost complete destruction of the phytate molecule has been shown to be more effective for improving animal performance than the traditionally recommended lower doses (Holloway, 2016; Walk et al., 2014). In the current study, broilers fed diets with higher OP levels presumably benefited from the higher release of phytate-bound P from cereals. This higher bioavailability, even though not sufficient to match the performance of broilers fed MBM and DP, likely ameliorated adverse effects of the lower OP doses. Furthermore, P excretion in broilers fed the higher level of OP was lower than in the lower-OP group, which indicated increased P retention. Both groups of OP-fed broilers produced lower values of P excretion compared with broilers fed MBM- and DP-supplemented diets. Lower P excretion reflected digestibility coefficients of Pt, which were higher in broilers fed OP diets, and predominantly so in broilers fed the higher OP level. Improved efficiency of P and Ca use in broilers fed diets that are

marginally deficient in both minerals has been previously reported by Bar et al. (2003), who observed an increase in Ca and P absorption through an increase in intestinal calbindin D28k expression. This protein, also known as Ca-binding protein, is responsible for the trans-cellular diffusion of Ca across the brush border towards enterocytes (Wasserman and Taylor, 1966). Proszowiec-Weglarz and Angel (2013) demonstrated that dietary Ca at excessive levels inhibits intestinal Ca uptake, whereas low plasma Ca levels stimulate the release of parathyroid hormone, which triggers a chain-reaction including an activation of 1,25(OH)₂D₃, an increase in intestinal Ca uptake through the increase in calbindin expression, and reabsorption of Ca in the kidneys.

P modulates both growth and proliferation of autotrophs, particularly algae and cyanobacteria, which may lead to hypoxia or anoxia of a water body and may increase mortality of aquatic organisms (Correll, 1998). Based on our P excretion results, the use of OP improved the utilization of dietary P, which may help mitigate adverse long-term effects of livestock on the environment.

Conclusions

Regarding our initial hypothesis that OP as the sole source of P should produce similar performance to that of broilers fed MBM and DP, we suggest two major conclusions: 1) although broilers fed conventional P sources showed better performance, OP supplementation at a higher level resulted in sufficient bone mineralization and improved digestibility of dietary P; 2) supplementation with the OP source examined herein should be reconsidered and further studies are needed, as our results suggest that when included at higher levels, this supplement may produce satisfactory performance.

Acknowledgements

The authors thank the Nutrivet Nutrição e Veterinária for the development of this research, Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for financial support grant number n°132670/2017-8 and Ajinomoto Biolatina and Evonik Industries for donating the amino acids used in the current research.

References

- Akpe, M. P., Waibel, P. E., Larntz, K., Metz, A. L., Noll, S. L. and Walser, M. M. 1987. Phosphorus Availability Bioassay Using Bone Ash and Bone Densitometry as Response Criteria. *Poultry Science*, doi:10.3382/ps.0660713v
- AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. AOAC International, Arlington, VA, USA.
- AOAC. Association Analytical Chemistry. 2005. Official methods of analysis. 18 ed. AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA.
- Appelt, M.D.; Nunes, R.V.; Pozza, P.C.; Silva, W.T.M.; Venturi, I. and Nunes, C.G.V. 2010. Níveis de probiótico em rações de origem animal e vegetal para frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39: 765-771.
- Bar, A.; Shinder, D.; Yosefi, S. and Vax, E. 2003. Metabolism and requirements for calcium and phosphorus in the fast-growing chicken as affected by age. *British Journal of Nutrition*, doi: 10.1079/jf104826n
- Borsoi, R. B. 2011. Desempenho zootécnico e financeiro com o uso da farinha de carne e ossos em substituição ao fosfato bicálcico em rações de frangos de corte. *Dissertação (M.Sc.)*. Universidade de Vila Velha, Vila Velha, ES, Brazil.
- Bozkurt, M.; Basmacioglu, H. And Ergül, M. 2004. Effect of dietary concentration meat and bone meal on broiler chickens performance. *International Journal of Poultry Science*, 3:719-723
- Brugalli, I.; Silva, D.J.; Albino, L.F.T.; Gomes, P.C.; Rostagno, H.S. and Silva, M.A.1999. Exigência de fósforo disponível e efeito da granulometria na biodisponibilidade de fósforo da farinha de carne e ossos para pintos de corte. *Revista brasileira de zootecnia*, 28:1288-1296
- Caires, C.; Fernandes, E.; Fagundes, N.; Carvalho, A.; Maciel, M. and Oliveira, B. 2010. The use of animal byproducts in broiler feeds: use of animal co-products in broilers diets. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, doi:10.1590/s1516-635x2010000100006
- Coon, C. N.; Seo, S.; Manangi, M. K. The determination of retainable phosphorus, relative biological availability, and relative biological value of phosphorus sources for broilers. 2007. *Poultry science*, doi: 10.1093/ps/86.5.857

- Cordell, D.; Drangert, J.O. and White, S. 2009. The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Global Environmental Change*, doi:10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009
- Correll, D. L. 1998. The Role of Phosphorus in the Eutrophication of Receiving Waters: A Review. *Journal of Environment Quality*, doi:10.2134/jeq1998.00472425002700020
- Dos Santos T.T.; Srinongkote, S.; Bedford, M.R. and Walk, C.L. 2013. Effect of high phytase inclusion rates on performance of broilers fed diets not severely limited in available phosphorus. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, doi:10.5713/ajas.2012.12445
- Fernandes, J., Lima, F., Mendonca, C., Mabe, I., Albuquerque, R. and Leal, P. 1999. Relative bioavailability of phosphorus in feed and agricultural phosphates for poultry. *Poultry Science*, doi:10.1093/ps/78.12.1729
- Gillis, M. B.; Norris, L. C. and Heuser, G. F. 1948. The Utilization by the Chick of Phosphorus from Different Sources. *The Journal of Nutrition*, doi:10.1093/jn/35.2.195
- Heuser, G. F., and Norris, L. C. 1926. Rickets in Chicks: I. Variations in the Antirachitic Potency of Different Brands of Cod Liver oil. *Poultry Science*, doi:10.3382/ps.0060009
- Holloway, C. 2016. Impact of super-dosing phytase on growth performance, energy and nutrient utilization, and phytate breakdown. *Dissertação (M.Sc.)*. Iowa State University, Ames, Iowa, United States of America.
- Hossain, M.; Islam, A. and Iji, P. 2013. Growth responses, excreta quality, nutrient digestibility, bone development and meat yield traits of broiler chickens fed vegetable or animal protein diets. *South African Journal of Animal Science*, doi:10.4314/sajas.v43i2.11
- ISO – International Organization for Standardization. 2000. *Animal feeding stuffs*. 1st. ISO, Geneva, Switzerland.
- ISO – International Organization for Standardization. 1998. *Animal feeding stuffs*. 2nd. ISO, Geneva, Switzerland.
- Lalpanmawia, H.; Elangovan, A. V.; Sridhar, M.; Shet, D.; Ajith, S. and Pal, D. T. 2014. Efficacy of phytase on growth performance, nutrient utilization and bone mineralization in broiler chicken. *Animal Feed Science and Technology*, doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.03.004
- Lan, G.; Abdullah, N.; Jalaludin, S. and Ho, Y. W. 2012. Effects of freeze-dried *Mitsuokella jalaludinii* culture and Natuphos® phytase supplementation on the performance and nutrient utilisation of broiler chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, doi:10.1002/jsfa.4570

- Lee, S. A.; Nagalakshmi, D.; Raju, M. V. L. N.; Rama Rao, S. V. and Bedford, M. R. 2017. Effect of phytase superdosing, myo-inositol and available phosphorus concentrations on performance and bone mineralisation in broilers. *Animal Nutrition*, doi:10.1016/j.aninu.2017.07.002
- Lemme, A.; Ringel, J.; Sterk, A. and Young, J.F. 2007. Supplemental guanidino acetic acid affects energy metabolism of broilers. p. 339-342. In: *Proceedings 16th European Symposium on Poultry Nutrition*. Strasbourg, France.
- National Research Council, 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th ed. National Academy Press, Washington, DC, United States of America.
- Nelson, T. S. and Walker, A. C. 1964. *The Biological Evaluation of Phosphorus Compounds: A Summary*. *Poultry Science*, doi:10.3382/ps.0430094
- Orban, J. I., & Roland, D. A. 1992. The Effect of Varying Bone Meal Sources on Phosphorus utilization by 3-Week Old Broilers¹. *The Journal of Applied Poultry Research*, doi:10.1093/japr/1.1.75
- Proszkowiec-Weglarz, M. and Angel, R. 2013. Calcium and phosphorus metabolism in broilers: Effect of homeostatic mechanism on calcium and phosphorus digestibility. *The Journal of Applied Poultry Research*, doi:10.3382/japr.2012-00743
- Rostagno, H. S; Albino, L.F.T.; Hannas, M.I.; Donzele, J.L.; Sakmoura, N.K.; Saraiva, A.; Teixeira, M.L.; Rodrigues, P.B.; Perazzo, F.G.; Barreto, S.L.T. Oliveira, R.F.; Barreto, S.L.T and Brito, C.O. 2017. *Brazilian tables for poultry and swine – Composition of feedstuffs and nutritional requirements*. 4th ed. Animal Science Department UFV, Viçosa, MG, Brazil.
- Rostagno, H. S; Albino, L.F.T.; Donzele, J.L.; Gomes, P.C.; Oliveira, R.F.; Lopes, D.C.; Ferreira, A.S.; Barreto, S.L.T. and Euclides, R.F. 2005. *Brazilian tables for poultry and swine – Composition of feedstuffs and nutritional requirements*. 2nd ed. Animal Science Department UFV, Viçosa, MG, Brazil.
- Sakomura, N.K. and Rostagno, H.S. 2016. *Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos*. 2nd ed. Jaboticabal, Funep.
- Scott, M. L., Butters, H. E., & Ranit, G. O. 1962. Studies on the Requirements of Young Poult for Available Phosphorus. *The Journal of Nutrition*, doi:10.1093/jn/78.2.223
- Sibbald, I. R.; Summers, J. D. and Slinger, S. J. 1960. Factors Affecting the Metabolizable Energy Content of Poultry Feeds. *Poultry Science*, doi:10.3382/ps.0390544
- Świątkiewicz, S.; Arczewska-włosek, A. and Józefiak, D. 2014. The efficacy of organic minerals in poultry nutrition: review and implications of recent studies. *World's poultry science journal*, doi:10.1017/s0043933914000531

- Valle, F. L. P. 2012. Uso de fitase em dietas comerciais para frangos de corte contendo ou não ingrediente de origem animal. Dissertação (M.Sc.). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brazil.
- Waldroup, P. W. 1999. Nutritional approaches to reducing phosphorus excretion by poultry. *Poultry Science*, 78: 683-691
- Walk, C. L.; Santos, T. T. and Bedford, M. R. Influence of superdoses of a novel microbial phytase on growth performance, tibia ash, and gizzard phytate and inositol in young broilers, doi: 10.3382/ps.2013-03571
- Wasserman, R. H. and Taylor, A. N. 1966. Vitamin D3-Induced Calcium-Binding Protein in Chick Intestinal Mucosa. *Science*, doi:10.1126/science.152.3723.791
- Wyss, M. and Kaddurah-Daouk, R. 2000. Creatine and Creatinine Metabolism. *Physiological Reviews*, doi:10.1152/physrev.2000.80.3.1107

Table 1- Ingredients and nutrient composition of the diets (g kg⁻¹ as fed) given to broilers from 1 to 21 days of age

Item	Starter Phase			
	DP	MBM	OP (1.0)	OP (1.5)
Ingredient (g kg ⁻¹)				
Corn (7,86%)	506.73	541.23	518.15	518.15
Soybean meal (45%)	419.21	378.51	417.17	417.17
Soybean oil	38.39	26.82	34.53	34.53
Dicalcium phosphate	9.56	0.00	0.00	0.00
Meat bone meal (43%)	0.00	34.47	0.00	0.00
Organic phosphorus	0.00	0.00	1.00	1.50
Limestone	10.21	2.49	13.30	13.30
Salt	5.25	4.76	5.25	5.25
Choline chloride	1.00	1.00	1.00	1.00
DL-Methionine	3.31	3.47	3.30	3.30
L- Lysine HCl	1.54	2.02	1.57	1.57
L-Threonine	0.60	0.78	0.60	0.60
L-Valine	0.13	0.37	0.13	0.13
Min/Vit. Supplement ¹	4.00	4.00	4.00	4.00
Phytase	0.08	0.08	0.00	0.00
Nutrient composition calculated				
AMEn (MJ kg ⁻¹)	12.61	12.61	12.61	12.61
Crude protein (g kg ⁻¹)	234.00	234.00	234.00	234.00
Calcium (g kg ⁻¹)	9.25	9.25	9.25	10.58
P availability (g kg ⁻¹)	4.41	4.41	4.60	6.35
Sodium (g kg ⁻¹)	2.22	2.22	2.22	2.22
Lysine (g kg ⁻¹)	12.82	12.82	12.82	12.82
Met + Cis (g kg ⁻¹)	9.48	9.48	9.48	9.48
Valine (g kg ⁻¹)	9.87	9.87	9.87	9.87
Threonine (g kg ⁻¹)	8.46	8.46	8.46	8.46
Tryptophan (g kg ⁻¹)	2.69	2.53	2.68	2.68
Composition analyzed				
Crude protein (g kg ⁻¹)	250.00	224.60	242.50	236.80
Total Ca (g kg ⁻¹)	12.61	11.46	13.60	13.76
Total P (g kg ⁻¹)	7.84	7.80	4.97	4.84

¹ Vitamin A: 3.130.000 UI/kg; Vitamin D: 760.000 UI/kg; Vitamin E: 11.500 UI/kg; Vitamin B1: 820mg/kg; Vitamin B2: 2.040 mg/kg; Vitamin B12: 5.000 mcg/kg; Vitamin K3: 620 mg/kg; Pantothenate Calcium: 4.100 mg/kg; Niacina: 12,40g/kg; Folic acid: 280 mg/kg; Biotin: 28mg/kg; Zinc: 17,18 g/kg; Iron: 13,21 g/kg; Manganese: 18,50 g/kg; Copper: 2.650 mg/kg; Iodine: 270 mg/kg; Cobalt: 50 mg/kg; Selenium: 80mg/kg; Etoxiqum: 25 mg/kg; B.H.A: 20 mg/kg; Salinomycin: 15 g/kg; Veículo Q.S.P: 1.000mg/kg.

Table 2 - Ingredients and nutrient composition of the diets (g kg⁻¹ as fed) given to broilers from 22 to 42 days of age

Item	Growing-finishing Phase			
	DP	MBM	OP (1.0)	OP (1.5)
Ingredient (g kg ⁻¹)				
Corn (7,86%)	592.60	610.10	601.00	600.50
Soybean meal (45%)	333.90	313.20	332.40	332.40
Soybean oil	46.60	40.80	43.80	43.80
Dicalcium phosphate	4.93	0.00	0.00	0.00
Meat bone meal (43%)	0.00	17.76	0.00	0.00
Organic phosphorus	0.00	0.00	1.00	1.50
Limestone	8.03	4.06	7.94	7.94
Salt	4.80	4.54	4.79	4.79
Choline chloride	1.00	1.00	1.00	1.00
DL-Methionine	2.44	2.52	2.44	2.44
L- Lysine HCl	1.37	1.62	1.40	1.40
L-Threonine	0.24	0.33	0.24	0.24
L-Valine	-	-	-	-
Min/Vit. Supplement ¹	4.00	4.00	4.00	4.00
Phytase	0.08	0.08	0.00	0.00
Nutrient composition calculated				
AMEn (MJ kg ⁻¹)	13.29	13.29	13.29	13.29
Crude protein (g kg ⁻¹)	201.00	201.00	201.00	201.00
Calcium (g kg ⁻¹)	6.96	6.96	6.96	8.29
P availability (g kg ⁻¹)	3.35	3.35	4.49	6.24
Sodium (g kg ⁻¹)	2.03	2.03	2.03	2.03
Lysine (g kg ⁻¹)	10.69	10.69	10.69	10.69
Met + Cis (g kg ⁻¹)	7.91	7.91	7.91	7.91
Valine (g kg ⁻¹)	8.35	8.23	8.34	8.34
Threonine (g kg ⁻¹)	7.06	7.06	7.06	7.06
Tryptophan (g kg ⁻¹)	2.25	2.17	2.25	2.25
Composition analyzed				
Crude protein (g kg ⁻¹)	186.90	206.30	196.90	211.60
Total Ca (g kg ⁻¹)	11.40	9.41	8.38	8.32
Total P (g kg ⁻¹)	6.30	6.16	4.75	4.73

¹ Vitamin A: 3.130.000 UI/kg; Vitamin D: 760.000 UI/kg; Vitamin E: 11.500 UI/kg; Vitamin B1: 820mg/kg; Vitamin B2: 2.040 mg/kg; Vitamin B12: 5.000 mcg/kg; Vitamin K3: 620 mg/kg; Pantothenate Calcium: 4.100 mg/kg; Niacina: 12,40g/kg; Folic acid: 280 mg/kg; Biotin: 28mg/kg; Zinc: 17,18 g/kg; Iron: 13,21 g/kg; Manganese: 18,50 g/kg; Copper: 2.650 mg/kg; Iodine: 270 mg/kg; Cobalt: 50 mg/kg; Selenium: 80mg/kg; Etoxiqum: 25 mg/kg; B.H.A: 20 mg/kg; Salinomycin: 15 g/kg; Veículo Q.S.P: 1.000mg/kg.

Table 3 - Performance of broilers fed diets supplemented with different phosphorus sources

Item	Treatments				SD	SEM ¹
	DP	MBM	OP (1.0)	OP (1.5)		
Starter phase, 21 d of age						
Weight gain (g bird ⁻¹)	970 ^b	1010 ^a	830 ^d	880 ^c	0.08	0.013
Feed intake (g bird ⁻¹)	1160 ^a	1190 ^a	1020 ^c	1070 ^b	0.08	0.012
Feed conversion (g g ⁻¹)	1.18 ^b	1.17 ^b	1.22 ^a	1.21 ^a	0.04	0.006
Overall period, 42 d of age						
Weight gain (g bird ⁻¹)	3160 ^a	3180 ^a	2920 ^b	2980 ^b	0.14	0.022
Feed intake (g bird ⁻¹)	4570 ^a	4640 ^a	4200 ^c	4360 ^b	0.21	0.034
Feed conversion (g g ⁻¹)	1.45 ^a	1.46 ^a	1.44 ^a	1.46 ^a	0.05	0.007

¹Standard error of the mean; Means within rows not sharing a common superscript were significantly different

Table 4 – Bone ash, calcium, and phosphorus percentage in the tibia of broilers fed diets supplemented different P sources at 42 days old

Item	Treatments				SD	SEM ¹
	DP	MBM	OP (1.0)	OP (1.5)		
Ash (%)	41.55 ^a	41.00 ^a	38.73 ^b	38.75 ^b	2.51	0.397
Phosphorus (%)	8.49 ^a	8.12 ^{ab}	7.92 ^b	7.93 ^b	0.44	0.070
Calcium (%)	16.23 ^a	15.64 ^{ab}	15.01 ^b	15.16 ^b	0.94	0.147

¹Standard error of the mean; Means within rows not sharing a common superscript were significantly different

Table 5 – Intake, excretion and apparent digestibility P and Ca in broilers fed diets supplemented different P sources

Item	Treatments				SD	SEM ¹
	DP	MBM	OP (1.0)	OP (1.5)		
P intake (g)	17.26 ^a	17.24 ^a	13.50 ^b	13.27 ^b	2.05	0.324
P excretion (g)	5.02 ^a	5.24 ^a	3.30 ^b	2.78 ^c	1.14	0.180
P digestibility (%)	70.92 ^c	68.75 ^c	75.50 ^b	79.09 ^a	4.38	0.693
Ca intake (g)	31.25 ^a	26.35 ^c	23.83 ^d	28.98 ^b	3.34	0.527
Ca excretion (g)	8.53 ^a	7.21 ^b	7.05 ^b	6.39 ^b	1.03	0.163
Ca digestibility (%)	72.70 ^b	72.59 ^b	70.32 ^b	77.96 ^a	2.60	0.412

¹Standard error of the mean; Means within rows not sharing a common superscript were significantly different