

UFRRJ

INSTITUTO DE ZOOTECNIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

TESE

**Digestibilidade Ileal Verdadeira do Fósforo de
Ingredientes de Origem Animal para Frangos de Corte**

Felipe Dilelis de Resende Sousa

2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**DIGESTIBILIDADE ILEAL VERDADEIRA DO FÓSFORO DE
INGREDIENTES DE ORIGEM ANIMAL PARA FRANGOS DE
CORTE**

FELIPE DILELIS DE RESENDE SOUSA

*Sob a orientação da professora
Cristina Amorim Ribeiro de Lima*

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor em
Zootecnia**, ao Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, Área de
Concentração em Produção Animal

Seropédica, RJ
Setembro de 2019

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S725d Sousa, Felipe Dilelis de Resende, 1988-
Digestibilidade ileal verdadeira do fósforo de
ingredientes de origem animal para frangos de corte /
Felipe Dilelis de Resende Sousa. - Rio de Janeiro,
2019.
80 f.: il.

Orientadora: Cristina Amorim Ribeiro de Lima.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia,
2019.

1. Nutrição de monogástricos. I. Lima, Cristina
Amorim Ribeiro de, 1963-, orient. II Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós
Graduação em Zootecnia III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

FELIPE DILELIS DE RESENDE SOUSA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de Concentração em Produção Animal.

TESE APROVADA EM 03/09/2019



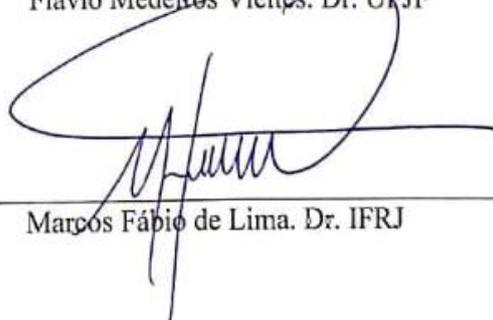
Cristina Amorim Ribeiro de Lima. Dr^a. UFRRJ
(Presidente)



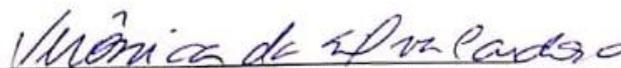
Fernando Augusto Curvello. Dr. UFRRJ



Flávio Medeiros Vieites. Dr. UFJF



Marcos Fábio de Lima. Dr. IFRJ



Verônica da Silva Cardoso. Dr^a. UFRJ

DEDICATÓRIA

*À Deus, por me conduzir na caminhada.
À minha família, especialmente aos meus
pais, base e incentivo nessa caminhada.
Aos amigos, que tornaram essa jornada mais incrível.
Aos mestres, que me inspiraram e tanto ensinaram.*

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora **Cristina Amorim Ribeiro de Lima** pela orientação, amizade, incentivo e ensinamentos.

Ao Professor Doutor **Augusto Vidal da Costa Gomes** pela amizade, apoio incondicional e crescimento profissional proporcionado.

Aos Funcionários **Marcus Ferreira Pessoa** e **Evandro César Manoel**, pela amizade, compreensão nos momentos de ausência e ajuda na realização das análises bromatológicas.

Ao Centro Integrado de Produção da UFRRJ pelo apoio no fornecimento de insumos para o experimento, na figura do Coordenador **Everton da Silva Mattos**.

Aos colegas da pós-graduação **Túlio Leite Reis**, **Débora Vaccari Quaresma**, **Leonardo Willian de Freitas**, **Lorhaine Bernardes Lima**, **Noédson Jesus Beltrão Machado** e **Christiane Silva Sousa** pela amizade e pelo apoio durante todos os momentos desse doutorado.

Aos estagiários da equipe da professora Cristina, em especial, **Cleriston Andrade Machado** e **Eduardo José Gomes Vellozo**, pelo auxílio fundamental para a condução do experimento.

Aos funcionários **Pedro Timóteo** e **Valdecir** pela ajuda na preparação e condução do experimento.

Aos funcionários **Fernando** e **Luís** pela ajuda na fabricação das dietas experimentais.

A todos os familiares e amigos que me apoiaram e contribuíram para a conclusão de mais esse ciclo.

À empresa BIOSEN, na figura de **Fernando Toledano**, por apoiar o trabalho com o fornecimento da fibra dietética Opticell[®] C5 eubiotic fibre.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela oportunidade de ter um ensino público, gratuito e de qualidade.

Ao Departamento de Nutrição Animal e Pastagens e ao Instituto de Zootecnia, por me proporcionarem apoio e liberação para realização desse curso.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

SOUSA, Felipe Dilelis de Resende. **Digestibilidade ileal verdadeira do fósforo de ingredientes de origem animal para frangos de corte.** 2019. 80f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

Objetivou-se com este trabalho determinar os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro do fósforo (CdviP) de farinhas de origem animal. Para tal, três ensaios foram conduzidos. No primeiro ensaio avaliou-se o CdviP da farinha de peixes pelo método direto, de substituição e de regressão. Seis dietas experimentais semi-purificadas foram formuladas e 3g/kg de dióxido de titânio foi adicionado em todas as dietas como indicador indigestível. 252 frangos foram alojados em gaiolas metabólicas, e as seis dietas experimentais foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, em 6 tratamentos e 6 repetições de 7 aves cada. As aves receberam a ração experimental por 3 dias, dos 19 aos 22 dias de idade. No 22º dia de idade as aves foram eutanasiadas para a coleta do conteúdo ileal. As perdas endógenas com o uso da dieta purificada foram determinadas em 128,7 mg/kg de matéria seca ingerida (MSi). Pelo método de regressão a perda endógena estimada foi negativa. Os CdviP determinados pelos métodos direto, substituição e regressão, respectivamente, foram 0,4549 0,5168 e 0,2546. O método de substituição estimou o maior CdviP, e o método de regressão a menor digestibilidade. No segundo ensaio objetivou-se determinar o CdviP de três diferentes farinhas de carne e ossos (FCOI, FCOII e FCOIII) através do método direto. Foram alojados 252 frangos em gaiolas metabólicas, e as dietas foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, em 4 tratamentos e 9 repetições de 7 aves cada. No método direto, o ingrediente teste é a única fonte de fósforo da dieta, portanto assume-se que a digestibilidade da dieta é a digestibilidade do ingrediente teste. As perdas endógenas com o uso da dieta semipurificada foram determinadas em 94,9 mg/kg de MSi. O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do fósforo para as farinhas FCOI, FCOII e FCOIII, foram 0,6495 0,4928 e 0,6858. FCOI e FCOIII tiveram digestibilidade similares, que foram superiores a digestibilidade de FCOII. No terceiro ensaio determinou-se os CdviP de três diferentes farinhas de vísceras de aves (FVI, FVII e FVIII). Para tal, 189 frangos foram alojados em gaiolas metabólicas, e as dietas foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, em 3 tratamentos e 9 repetições de 7 aves cada. Os CdviP para as farinhas foram similares, e para FVI, FVII e FVIII, foram 0,9599, 0,9606 e 0,9339. O método direto apresentou-se como a forma mais prática na determinação da digestibilidade de fósforo das farinhas de origem animal. Enquanto a farinha de peixes e a farinha de carne e ossos apresentaram valores menores de digestibilidade, as farinhas de vísceras avaliadas apresentaram alta digestibilidade em fósforo. A utilização destes valores permite a elaboração de bancos de dados mais precisos do fósforo de ingredientes para aves.

Palavras-chave: Farinha de carne e ossos. Farinha de peixes. Farinha de vísceras. Fósforo digestível.

ABSTRACT

SOUSA, Felipe Dilelis de Resende. **True ileal phosphorus digestibility in animal by-products meal for broilers.** 2019. 80f. Thesis (Doctorate in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

The objective of this study was to determine the true ileal phosphorus digestibility (CdviP) of animal by-product meals. As such, three trials were conducted. In the first trial the fish meal CdviP was evaluated by direct method, substitution method and regression method. Six semi-purified experimental diets were formulated, and titanium dioxide was added in 3g / kg in all diets as indigestible marker. 252 chickens were housed in metabolic cages, and the six experimental diets were distributed in a completely randomized design, in 6 treatments and 6 replicates of 7 birds each. The birds received the experimental diets for 3 days, from 19 to 22 days of age. At the 22st day of age the birds were euthanized for the collection of ileal content. Excreta and diets were analyzed for titanium, dry matter and phosphorus. Endogenous losses with the semi-purified diet were determined at 128.7 mg / kg MSi. By the regression method the estimated endogenous loss was negative. The CdviP determined by the direct, substitution and regression methods, respectively, were 0.4549 0.5168 and 0.2546. There was significant difference between the regression method and the substitution method. In the second test, the objective was to determine the CdviP of three different meat and bone meal (MBM1, MBM2 e MBM3) using the direct method. 252 chickens were housed in metabolic cages, and the diets were distributed in a completely randomized design, in 4 treatments and 9 replicates of 7 birds each. In the direct method, the test ingredient is the only source of phosphorus in the diet, so it is assumed that the digestibility of the diet is the digestibility of the test ingredient. The endogenous losses with the semi-purified diet were determined at 94.9 mg / kg MSi. The true ileal digestibility coefficient of the phosphorus for the MBM1, MBM2 and MBM3 were 0.6495, 0.4928 and 0.68858. MBM1 and MBM3 had similar digestibilities, which were higher than MBM2 digestibility. In the third assay the CdviP of three different poultry by-product meal (PBP1, PBM2 and PBM3) were determined. 189 chickens were housed in metabolic cages, and diets were distributed in a completely randomized design, in 3 treatments and 9 replicates of 7 birds each. The true ileal digestibility coefficient of phosphorus for PBM1, PBM2 and PBM3 was 0.9599, 0.9606 and 0.9339, respectively. The direct method shown as the most practical way to determine phosphorus digestibility of animal byproduct meal. While fishmeal and meat and bone meal are poorly available in poultry phosphorus due to their low digestibility, the evaluated viscera meal is highly digestible in phosphorus. Studies that allow the evaluation of the digestibility of the ingredients are allowed to generate a more reliable database, which allows the application of diets in digestible phosphorus to be reproduced.

Keywords: Digestible phosphorus. Fish meal. Meat and bone meal. Poultry by-product meal.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ração pré-experimental fornecida até os 18 dias de idade das aves.	23
Tabela 2. Dietas experimentais para determinação do fósforo digestível da farinha de peixes por diferentes metodologias.....	24
Tabela 3. Composição bromatológica da farinha de peixes utilizada no ensaio e das farinhas de peixes descrita na TBAS.....	29
Tabela 4. Desempenho de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais de 19 a 22 dias de idade.	30
Tabela 5. Tabela. Digestibilidade ileal aparente de fósforo (DiAP) das dietas experimentais.	31
Tabela 6. Regressão Linear entre a excreção de fósforo (g/kg de Msi) vs o teor de fósforo de dietas (g/kg de MS) com farinha de peixes.	32
Tabela 7. Digestibilidade ileal verdadeira do fósforo da farinha de peixes pelo método direto e método de substituição.	32
Tabela 8. Dietas experimentais utilizadas na determinação da digestibilidade ileal de fósforo das farinhas de carne e ossos.	40
Tabela 9. Composição centesimal das farinhas de carne e ossos utilizadas no ensaio ¹	43
Tabela 10. Desempenho de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais de farinhas de carne e ossos de 19 a 22 dias de idade.	44
Tabela 11. Coeficiente de digestibilidade ileal aparente (CdiaP) e verdadeiro (CdiviP) de fósforo das farinhas de carne e ossos.....	44
Tabela 12. Dietas experimentais utilizadas na determinação da digestibilidade ileal de fósforo das farinhas de vísceras de aves.	52
Tabela 13. Composição centesimal das farinhas de vísceras de aves utilizadas no ensaio de digestibilidade ileal de fósforo ¹	54
Tabela 14. Desempenho de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais de farinhas de vísceras de aves de 19 a 22 dias de idade.	55
Tabela 15. Coeficiente de digestibilidade ileal aparente (CdiaP) e verdadeiro (CdiviP) de fósforo das farinhas de vísceras de aves.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gaiolas metabólicas, distribuídas em bateria metálicas, equipadas com comedouro tipo calha e bebedouro tipo copo.....	22
Figura 2. Regressão da excreção de fósforo (g/kg MSi) vs o teor de fósforo nas dietas (g/kg MS) FP4, FP7 e FP10.....	31
Figura 3. Comparação dos coeficientes de digestibilidade ileal verdadeira do fósforo (CdivP) da farinha de peixes determinado por diferentes metodologias	33

LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

ATP	adenosina trifosfato;
Ca	cálcio;
CdivP	coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do fósforo;
DNA	cido desoxirribonucleico;
FB	fosfato bicálcico;
FCO	farinha de carne e ossos;
FP	farinha de peixes;
FV	farinha de vísceras de aves;
MSi	matéria seca ingerida;
P	fósforo;
PEP	perdas endógenas de fósforo;
Pnf	fósforo não-ftico;
RNA	cido ribonucleico;
TBAS	tabelas brasileiras de aves e suínos;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Ingredientes de Origem Animal	3
2.2 Fósforo Na Nutrição De Aves	5
2.3 Metodologias Para Determinação Da Digestibilidade De Fósforo De Ingredientes	8
2.3.1 Método direto na determinação do C _d viP de ingredientes.....	9
2.3.2 Método de substituição na determinação do C _d viP de ingredientes	10
2.3.3 Método de regressão na determinação do C _d viP de ingredientes	12
2.4 Absorção De Fósforo Pelas Aves	13
2.5 Fatores Que Podem Afetar a Determinação Da Digestibilidade De Fósforo.....	14
2.5.1 Fatores dietéticos que podem influenciar a digestibilidade de fósforo	14
2.5.2 Fatores não dietéticos que podem influenciar a digestibilidade de fósforo.....	15
CAPÍTULO I	
COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE ILEAL VERDADEIRO DE FÓSFORO DA FARINHA DE PEIXES PARA FRANGOS DE CORTE POR DIFERENTES METODOLOGIAS	17
RESUMO	18
ABSTRACT	19
1 INTRODUÇÃO.....	20
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
2.1 Aves e Manejo Inicial.....	22
2.2 Dietas e Delineamento Experimental	23
2.3 Coleta e Processamento de Amostra	24
2.4 Análises Laboratoriais	25
2.5 Cálculos	26
2.5.1 Método direto	26
2.5.2 Método de substituição.....	27
2.5.3 Método de regressão.....	27
2.6 Análise Estatística	28
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4 CONCLUSÕES	34
CAPÍTULO II	
DIGESTIBILIDADE ILEAL VERDADEIRA DE FÓSFORO DE FARINHAS DE CARNE E OSSOS PELO MÉTODO DIRETO PARA FRANGOS DE CORTE	35
RESUMO	36
ABSTRACT	37
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	39
2.1 Aves e Manejo Inicial.....	39
2.2 Dietas e Delineamento Experimental	39
2.3 Coleta e Processamento de Amostra	40
2.4 Análises Químicas	41
2.5 Cálculos	41

2.6 Análise Estatística	42
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4 CONCLUSÕES	46

CAPÍTULO III

DIGESTIBILIDADE ILEAL VERDADEIRA DE FÓSFORO DE FARINHAS DE VÍSCERAS DE AVES PELO MÉTODO DIRETO PARA FRANGOS DE CORTE	47
RESUMO	48
ABSTRACT	49
1 INTRODUÇÃO	50
2 MATERIAL E MÉTODOS	51
2.1 Aves e Manejo Inicial	51
2.2 Dietas e Delineamento Experimental	51
2.3 Coleta e Processamento de Amostra	52
2.4 Análises Químicas	53
2.5 Cálculos	53
2.6 Análise Estatística	53
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4 CONCLUSÕES	57
6 CONCLUSÕES GERAIS	58
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

1 INTRODUÇÃO GERAL

O fósforo é um nutriente essencial, portanto deve ser fornecido nas dietas para os animais. Grande interesse tem surgido acerca da nutrição em fósforo, parte devido ao seu alto custo e parte pela sua presença nas excretas estar relacionada à eutrofização dos efluentes. Nutrir adequadamente em fósforo é fundamental, uma vez que, juntamente ao cálcio, desempenha papel importante no desenvolvimento e manutenção do sistema esquelético do animal. Além disso, está presente em muitos compostos orgânicos com contribuições vitais em quase todas as séries de reações bioquímicas no animal.

A maior parte das rações para frangos de corte são compostas por ingredientes de origem vegetal, nos quais o fitato é a principal forma de armazenamento de fósforo. As dietas avícolas são formuladas para atender níveis de fósforo disponível, termo usado por muitos nutricionistas e tabelas de recomendações como sinônimo para fósforo não fítico. A utilização de dados em fósforo disponível não leva em consideração a fração fosfórica do fitato que pode ser aproveitada pelo animal, assim como considera que toda fração de fósforo não fítico é 100% absorvida, uma premissa incorreta.

Trabalhos têm proposto que a digestibilidade ileal possa ser a medida mais próxima do que seria o fósforo realmente disponível para as aves, já que maior parte da absorção de fósforo acontece no duodeno e na porção proximal do jejuno. Ademais, o conteúdo fosfórico da digesta ileal não é influenciado pela urina, principal forma de excreção deste mineral para a manutenção da fosfatemia.

Diferentes metodologias têm sido empregadas na determinação dos valores de digestibilidade ileal do fósforo de ingredientes, dentre elas podem se citar o método de regressão, o método de substituição e o método direto. O método de regressão tem como base a regressão do total de fósforo encontrado na digesta ileal em relação a quantidade de fósforo ingerida oriunda do ingrediente teste, gerando uma equação linear onde a curva representará a indigestibilidade do fósforo e o intercepto será o valor estimado para a perda endógena ileal de fósforo. No método direto, o ingrediente teste é a única fonte de fósforo na dieta, portanto, considera-se que a digestibilidade de fósforo da dieta é a digestibilidade de fósforo do ingrediente. Já no método de substituição, o ingrediente teste substitui parte de uma dieta que contém fósforo, e a digestibilidade do fósforo do ingrediente é calculada pela diferença.

A proteína é o nutriente mais caro na formulação de rações para aves, assim como o fósforo é o terceiro nutriente mais caro para ser suprido. A busca por alimentos alternativos ao milho e farelo de soja para reduzir os custos produtivos, especialmente devido à alta de preços e escassez das fontes de fósforo não-fítico como também a flutuação de preços do farelo de soja e do milho, viabilizaram o uso de subprodutos de origem animal na dieta de aves. Somase a esse fator a alta na oferta de produção de produtos cárneos no Brasil, e conseqüentemente de subprodutos de origem animal para utilização na formulação de rações.

Os ingredientes de origem animal têm todo o seu teor de fósforo como fósforo não-fítico, uma vez que em ingredientes dessa origem não há presença de ácido fítico. Acreditava-se que a digestibilidade de fósforo de ingredientes de origem animal seria elevada, porém trabalhos recentes têm demonstrado que estes valores não estão próximos de 100%, como era considerado ao se formular dietas com o conceito de fósforo disponível.

Determinar os valores de digestibilidade tem grande importância na formação de bancos de dados utilizados na formulação de dietas avícolas, permitindo estimar de forma mais precisa quanto do fósforo do ingrediente tem potencial de ser absorvido pelo animal. Além disso, ao conhecer a digestibilidade destes ingredientes, seria possível formular as dietas

baseadas em níveis de fósforo digestível, permitindo maior acurácia na formulação e consequentemente menor excreção de fósforo para o ambiente.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ingredientes de Origem Animal

A proteína é o nutriente mais caro na formulação de rações para aves, assim como o fósforo é o terceiro nutriente mais caro para ser suprido. A busca por alimentos alternativos ao milho e farelo de soja para reduzir os custos produtivos, especialmente devido à alta e escassez das fontes de fósforo não-fítico como também a flutuação de preços do farelo de soja e do milho, viabilizaram o uso de subprodutos de origem animal na dieta de aves. Soma-se a esses fatores a alta da produção de produtos cárneos no Brasil, e conseqüentemente de subprodutos de origem animal para utilização na formulação de rações.

Para cada tonelada de carne preparada para consumo humano, cerca de 300 kg são descartados como não comestíveis, e deste total, 200 kg são destinados como farinhas de origem animal (LESSON e SUMMERS, 1997). As farinhas de subprodutos animais podem ser definidas como um produto não comestível, resultante do processamento de resíduos de animais, que atenda ao padrão de qualidade em relação a aspectos higiênico-sanitários e nutricionais.

O Brasil processou em 2014 aproximadamente 12,4 milhões de toneladas de subprodutos de origem Animal que não foram destinados para o consumo humano, gerando aproximadamente 5,3 milhões de toneladas de farinhas e óleos. Dentre os subprodutos mais produzidos podem-se citar a farinha de carne e ossos, correspondendo a 61,7% da produção e a farinha de vísceras com 18,3% (ABRA, 2016).

De acordo com a Associação Brasileira de Reciclagem Animal foram produzidas no ano de 2014 dois milhões de toneladas de farinha de carne e ossos, 600 mil toneladas de farinha de vísceras e 35 mil toneladas de farinha de peixes. Do total de farinhas produzidos neste mesmo ano, 80% foi destinada à indústria da produção animal e 16,5% à indústria de pet food (ABRA, 2016).

Devido às características do material, bem como sua forma de obtenção, existe grande variabilidade na composição desses ingredientes, sejam elas físicas, químicas ou microbiológicas. A variabilidade dificulta a utilização na formulação de rações, levando à obediência de uma alta margem de segurança pelos nutricionistas.

Entende-se por farinha de origem animal os resíduos de abatedouros não destinados ao consumo humano, resultantes de um processamento que atenda a um padrão de identidade e qualidade preestabelecido, nos aspectos higiênico sanitários, tecnológicos e nutricionais, podendo ser utilizadas na alimentação de animais não ruminantes (BRASIL, 2008).

Caracterizar os produtos de origem animal é o primeiro estágio para a obtenção e padronização do mesmo. De acordo com Compêndio Brasileiro de Nutrição Animal (SINDIRAÇÓES, 2013), as farinhas de origem animal utilizadas na alimentação de aves são definidas da seguinte forma:

Farinha de penas hidrolisadas (FPH): é o produto resultante da cocção, sob pressão, de penas limpas e não decompostas, obtidas no abate de aves, sendo permitida a participação de sangue desde que a sua inclusão não altere significativamente a composição da FPH.

Farinha de vísceras (FV): é o produto resultante da cocção, prensagem e moagem de vísceras de aves, sendo permitida a inclusão de cabeças e pés. Não deve conter penas, exceto aquelas que podem ocorrer não intencionalmente, e nem resíduos de incubatórios e de outras matérias estranhas à sua composição. Não deve apresentar contaminação com casca de ovo.

Farinha de penas e vísceras (FPV): é o produto resultante das penas limpas e não decompostas, hidrolisadas sob pressão e misturadas com resíduos do abate (vísceras, pescoço,

pés, de aves abatidas) cozidos, prensados para extração do óleo e moído. É permitida a participação de carcaças e sangue desde que a sua inclusão não altere significativamente a composição estipulada.

Farinha de resíduo de incubatório (FRI): é o produto resultante da cocção, secagem e moagem da mistura de cascas de ovos, ovos inférteis e não eclodidos, pintos não viáveis e os descartados, removida ou não a gordura por prensagem.

Farinha de carne e ossos bovina (FCOB): é produzida em graxarias por coleta de resíduos, ou em frigoríficos a partir de ossos e tecidos, após a desossa completa da carcaça de bovinos, moídos, cozidos, prensados para extração de gordura e novamente moídos. Não deve conter sangue, cascos, chifres, pêlos, conteúdo estomacal a não ser os obtidos involuntariamente dentro dos princípios de boas práticas de fabricação. Não deve conter matérias estranhas. Deve ter no mínimo 4 % de fósforo (P) e o cálcio não deve exceder a 2,2 vezes o nível de P e a proteína deve ter solubilidade em pepsina superior a 86%.

Farinha de carne e ossos suína (FCOS): é produzida em graxarias por coleta de resíduos, ou em frigoríficos a partir de ossos e tecidos, após desossa completa da carcaça de suínos, sendo moídos, cozidos, prensados para extração de gordura e novamente moídos. Não deve conter sangue, unhas, pêlos, conteúdo estomacal a não ser os obtidos involuntariamente dentro dos princípios de boas práticas de fabricação. Não deve conter matérias estranhas. Deve ter no mínimo 4 % de fósforo (P) e o cálcio não deve exceder a 2,2 vezes o nível de P.

Farinha de carne bovina, suína ou mista (FC): é o produto oriundo do processamento industrial de tecidos de bovinos e(ou) suínos, sem ossos. A farinha de carne é obtida semelhantemente a FCOB e FCOS, mas o nível de fósforo não será superior a 4% e terá 55 % de PB.

Farinha de ossos calcinada (FOC): é o produto obtido após coleta de ossos e processados em graxarias; ou em frigoríficos a partir de ossos oriundos da desossa, moídos, queimados com ar abundante e novamente moídos. Deve conter no mínimo 15% de fósforo.

Farinha de ossos autoclavada (FOA): é o produto seco e moído, obtido de ossos não decompostos e submetidos a tratamento térmico com pressão em autoclave ou digestor. Os resíduos de proteína e gordura podem o não ser removidos.

Farinha de sangue (FS): é o produto resultante do processo de cozimento e secagem do sangue fresco. A farinha de sangue convencional é produzida de sangue fresco, sem cerdas, urina e conteúdo digestivo, exceto em quantidades que podem ser admitidas nas boas praticas de processamento.

Farinha de peixe (FP): é o produto obtido de peixes inteiros e/ou cortes de peixes de várias espécies, não decomposto, com ou sem extração de óleo, tendo sido seco e moído. Não deve conter mais do que 10% de umidade e o teor de NaCl deve ser indicado.

O processamento das farinhas de origem animal pode ser feito através de dois sistemas básicos, através de frigoríficos com produção própria ou um sistema de coleta de resíduos por processadores independentes. O processo básico de produção, descrito por Bellaver et al. (2005), consiste em retirar os excessos de água dos resíduos não comestíveis do abate, picar e/ou triturar, levá-los aos digestores para cocção com ou sem pressão, retirar a gordura do produto por prensagem ou drenagem e moer o resíduo sólido na forma de farinha com especificações de granulometria variáveis.

A partir de 2008, a cocção com pressão tornou-se obrigatória para todos os tipos de farinhas, pois foi proibido o uso de resíduos destinados à alimentação animal sem passarem pelo tratamento térmico, com a função principal de eliminar microrganismos patogênicos. O aquecimento para farinhas segue o estabelecido pela IN 34, na qual a temperatura não pode ser inferior a 133°C, durante pelo menos 20 minutos, sem interrupção, a uma pressão absoluta não inferior a 3 bar, produzida por vapor saturado (BRASIL, 2008). Além disso, a norma

oficial estabelece que as matérias primas devam ser processadas dentro de 24 horas após o abate dos animais seja nos frigoríficos com fabricação própria seja nos processadores independentes.

A grande variabilidade da composição das farinhas de origem animal pode gerar dificuldades para nutricionistas ao formularem dietas avícolas (BELLAYER et al., 2005). Conhecer o valor nutricional do ingrediente a ser utilizado é de extrema importância para nutrir adequadamente os animais. Os indicativos de qualidade físico-químicos auxiliam na decisão dos valores nutricionais a serem utilizados na matriz nutricional destes ingredientes.

2.2 Fósforo Na Nutrição De Aves

Descoberto e isolado em 1669 na Alemanha por Brand, o fósforo é um elemento essencial necessário a todos os organismos vivos. Tem papel crucial em diversas funções, como na manutenção da pressão osmótica da célula e também no equilíbrio ácido base, no metabolismo energético e na transferência de energia através das moléculas de adenosina trifosfato (ATP), além de diversas funções fisiológicas incluindo a regulação proteica e a transferência de informação genética através do ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA).

Nos animais vertebrados é o segundo mineral mais abundante no corpo e desempenha importante função no desenvolvimento e mineralização óssea. É responsável juntamente com o cálcio pela formação mineral do esqueleto, sendo depositado na forma de hidroxapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). A maior parte do fósforo presente no organismo se apresenta na forma ligada ao oxigênio, formando o ânion fosfato. Aproximadamente 80 % do fósforo de aves em crescimento encontram-se no esqueleto, sendo o restante distribuído nos fluidos corporais e tecidos moles, como componente dos fosfolipídeos, das fosfoproteínas, dos ácidos nucleicos (DNA e RNA) e das moléculas transferidoras de energia (ATP) (ANGEL, 2007).

Segundo Angel (2007) nas duas primeiras semanas de vida o frango de corte aumenta a composição em cinzas do tecido ósseo de 19,9 % para 27,1 %, sendo o teor de fósforo presente no esqueleto no momento da eclosão 58,5 mg e aos 14 dias de idade 862,6mg. A única fonte para obtenção do fósforo para estas aves é a ração, uma vez que o conteúdo de fósforo para o desenvolvimento embrionário é limitado, e que parte do fósforo residual da gema é utilizado primariamente para a síntese de fosfolipídios (ANGEL, 2007). De acordo com Romanoff (1967) o embrião nasce com 117 mg de fósforo total, sendo 59% de fósforo inorgânico, 11% associado a lipídios e 18% associados a proteínas.

Para o desenvolvimento embrionário, o ovo é a única fonte de fósforo. A maior parte do fósforo do ovo está contida na gema, aproximadamente 112 mg/58 g de ovo. No albúmen são apenas 5,2 mg de P/58 g de ovo (ANGEL, 2007), e na casca a quantidade de P depositada é de aproximadamente 20mg (HARMS, 1982). Portanto, aves poedeiras além da exigência de fósforo para cumprimento de todas as suas funções fisiológicas de manutenção, depositam no mínimo 137mg de P/58g de ovo.

Em dietas avícolas, um dos grandes desafios é conhecer quanto do fósforo dos ingredientes, e conseqüentemente da dieta, está realmente disponível para a utilização pelos animais. Ingredientes de origem vegetal, principalmente os cereais, são as principais fontes de nutrientes utilizadas na formulação de dietas para aves. Nos cereais a maior parte do fósforo presente está complexada com o mio-inositol, formando a molécula de fitato. Em dietas comerciais a capacidade de quebra da molécula de fitato para absorção do fosfato pelas aves é baixa (LI et al., 2016), sendo desconsiderado a sua contribuição no fornecimento deste macromineral para as aves, assim, a recomendação de formulação das dietas têm sido feita, em grande parte do mundo, em fósforo não-fítico (Pnf), (NRC, 1994).

Desta forma, a demanda para fosfatos inorgânicos foi aumentada para suprir as necessidades dietéticas de Pnf das aves (VAN DER KLIS et al. 1999). Porém, a maioria dos fosfatos é derivada de rochas, que são um recurso não renovável e cada vez mais escasso e caro. Estima-se que as reservas de fósforo global podem estar esgotadas em 50 a 100 anos (NESET et al., 2012), e que as aves sejam responsáveis por aproximadamente 50% do consumo mundial de fosfatos utilizados na nutrição animal (DEVEREUX et al., 1994). Além disso, políticas de proteção ambiental têm levado à limitação do despejo de fósforo no meio ambiente, devido ao acúmulo deste mineral levar à aceleração da eutrofização de águas.

Portanto, nutricionistas têm buscado formas de atender de forma mais precisa as exigências de fósforo dos animais, e conhecer a disponibilidade do fósforo dos ingredientes para as aves é fundamental para a eficiência de utilização deste mineral.

2.2.1 Terminologia

O termo fósforo disponível tem sido utilizado por vários grupos de pesquisa e nutricionistas no mundo, sem uma padronização do que este termo realmente significa. Diferentes tabelas de composição de ingredientes diferentes utilizam conceitos diferenciados entre si para o termo fósforo disponível (NRC, 1994; CVB, 1997; INRA, 2002; FEDNA, 2010; CBV, 2016; ROSTAGNO et al., 2017).

Em 1950 (NRC, 1950) foi proposta a utilização da formulação de dietas em base de fósforo inorgânico em contrapartida ao fósforo total, visando aperfeiçoar a utilização das fontes fosfóricas, uma vez que a forma orgânica complexada com o anel de mio-inositol era considerada de baixa disponibilidade para as aves. Em 1994, o NRC traz os valores de fósforo expressos em fósforo não-fítico, que pode ser obtido através de análises químicas de fósforo total subtraídas dos valores de análises químicas de fósforo fítico. Este conceito é então amplamente utilizado na formulação de dietas avícolas pelo mundo, por estimar de forma laboratorial com análises químicas, qual seria a fração que poderia ser utilizada pelas aves com maior eficiência.

O termo tem sido utilizado como sinônimo para fósforo disponível por equipes de pesquisa pelo mundo. Inclusive nas Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2005; 2011; 2017) o termo proposto para a expressão do valor fosfórico é o termo fósforo disponível, sendo usado como sinônimo para fósforo não fítico, obtido através da seguinte equação: $\text{Fósforo disponível(\%)} = \text{fóstoro total(\%)} - \text{fósforo fítico(\%)}$. A utilização deste conceito permite a fácil obtenção de valores quantitativos, porém leva em consideração que todo o fósforo não fítico vai ser utilizado pela ave, e que todo o fósforo fítico não é capaz de ser utilizado pelas aves, pressuposições que não condizem com a utilização do fósforo de ingredientes pelas aves (TAMIN et al., 2004; LIU et al., 2016).

Tabelas de composição de ingredientes como a FEDNA e a INRA utilizam o termo fósforo disponível baseados na biodisponibilidade de fósforo dos ingredientes. Neste conceito a disponibilidade corresponde à percentagem de fósforo utilizada pelo animal em comparação a uma fonte de fósforo considerada como padrão que equivale a 100% de disponibilidade, geralmente o fosfato monocálcico (INRA, 2002). Um dos critérios biológicos usados para estimar a disponibilidade é a mineralização óssea, uma vez que a maior parte do fósforo contido no corpo é encontrada no esqueleto. Parâmetros de indicação da qualidade óssea, como porcentagem de cinza de ossos (AKPE et al. 1987; COON et al., 2007), resistência à quebra (COON et al., 2007; SHASTAK et al., 2012) e densitometria óssea (ONYANGO et al., 2003; HESTER et al., 2004), são utilizadas como variáveis respostas em um ensaio de biodisponibilidade de fósforo. Porém outros critérios também podem ser utilizados, como

fósforo sérico (HEMME et al., 2005; SHASTAK et al., 2012), e dados de crescimento ou conversão alimentar (POTTER et al., 1995; JONGBLOED et al., 2002).

Para determinação da biodisponibilidade de fósforo usa-se a técnica de “slope ratio” como descrita por Ammerman et al. (1995). Nesta técnica aves jovens são alimentadas com dietas semipurificadas deficientes em fósforo ou suplementadas com níveis crescentes de fosfato monocálcico, considerada a fonte padrão, estimada como 100% de disponibilidade. Uma curva é obtida através da plotagem da quantidade de fósforo ingerida versus uma variável resposta, como o teor de cinzas da tibia. Ao mesmo tempo, diferentes grupos de animais são alimentados com dietas experimentais onde o alimento teste é a única fonte de fósforo, e uma curva dose-resposta também é obtida. Com a comparação entre os dois declives das curvas geradas na regressão pode-se determinar o valor biológico relativo do alimento teste, comparado à fonte padrão (LIMA et al., 1997)

Porém, os ensaios de biodisponibilidade só podem fornecer um valor biológico relativo ou uma classificação quando comparada a uma fonte padrão, e não medem a biodisponibilidade verdadeira ou aparente de forma quantitativa, sendo uma análise basicamente qualitativa. Portanto, os valores encontrados nestes tipos de ensaio não definem a quantidade de fósforo disponível, tendo valor limitado para aplicação na formulação de dietas (LI et al., 2016).

No CBV de 1997 foi publicada e empregada a avaliação de fósforo digestível de ingredientes para formulação de dietas avícolas, utilizadas até hoje no CBV 2016. A digestibilidade de fósforo dos alimentos para aves baseia-se na mensuração do coeficiente de absorção em ensaios de coleta total em frangos, sob condições padrão (período de coleta entre os dias 21 e 24 dias de idade, uma dieta semi-sintética com um teor de fósforo digestível estimado de 1,8 g/kg e um teor de Ca de 5,0 g/kg). O uso de valores baixos de fósforo digestível é proposto para que se considere a excreção de fósforo através da urina como insignificante, ou seja, todo o fósforo excretado tenha origem da parte da alimentação que não foi absorvido. Assume-se então que parte do fósforo fítico é capaz de ser hidrolisado e absorvido pelas aves, porém que esta hidrólise e absorção em condições experimentais não são iguais às observadas em dietas comerciais, com valores mais elevados de fósforo e cálcio. Portanto, os valores de digestibilidade de ingredientes de origem vegetal são corrigidos através da relação com valores da digestibilidade ileal de dietas comerciais, não sendo aplicadas correções em fontes de origem animal e inorgânicas (CBV, 2016).

A fim de determinar uma forma padrão de nomenclatura do teor fosfórico de ingredientes e dietas, o Grupo de Trabalho nº 2: Filiais da WPSA de Nutrição da Federação Européia (WPSA, 2013) propôs a utilização dos seguintes termos:

Fósforo Total (Pt): todo o conteúdo de fósforo no alimento analisado quimicamente, independente da forma de ligação.

Fósforo Fítico (Pf): todo o conteúdo de fósforo na forma de ácido fítico (mio-inositol-1,2,3,4,5,6-hexaquis dihidrogênio fosfato, Inositol fosfato-6) e seus sais.

Fósforo Não-fítico (Pnf): é a diferença entre o Pt analisado e o Pf analisado. A fração Pnf é composta de diferentes compostos orgânicos e inorgânicos. A composição da fração Pnf varia entre os ingredientes, resultando em que a disponibilidade de Pnf para os animais não é constante. Por esta razão, e pelo fato de parte da fração fítica poder ser utilizada pelas aves, não é apropriado o uso dos termos Pd e Pnf como sinônimos.

Fósforo Retido (Pr): é a parte do Pt do alimento que é depositado no corpo do animal. Para a determinação do Pr são necessários estudos com a determinação quantitativa da ingestão e excreção de P (fezes e urina). Também pode ser determinado usando um indicador indigestível.

Fósforo digestível (Pdig): é a parte do Pt do alimento que não é recuperado nas fezes. A determinação do Pdig necessita de estudos com animais com a determinação quantitativa do P ingerido e da excreção de P nas fezes. Também pode ser determinado usando um indicador indigestível. Por definição, a determinação do Pdig necessita de aves colostomizadas para a exclusão da urina. Todavia, o conteúdo de P na urina é desprezível quando o consumo de P é inferior à exigência das aves. Se o Pdig for determinado com um nível de P abaixo da exigência, o valor de Pdig vai ser muito próximo ao valor de Pr.

Fósforo digestível pré-cecal (Pdpc): é a parte do Pt do alimento que não é recuperado no conteúdo terminal do íleo. É determinado através de metodologia de coleta ileal com o uso de indicadores indigestíveis nas dietas.

Biodisponibilidade relativa de P: usa a resposta de dados ósseos (cinzas, força de quebra, etc) ou outro dado biológico (ganho de peso, fósforo inorgânico sérico, etc). Respostas para uma determinada fonte de fósforo são comparadas com as respostas de uma fonte de fósforo considerada padrão.

Dentre as formas acima descritas de quantificar o teor de fósforo de ingredientes o grupo de pesquisa (WPSA, 2013) propôs que a digestibilidade pré-cecal possa ser a medida mais próxima do que seria o fósforo realmente disponível para as aves, já que maior parte da absorção de fósforo acontece no duodeno e na porção proximal do jejuno. Ademais, o conteúdo fosfórico da digesta ileal não é influenciado pela urina, principal forma de excreção deste mineral para a manutenção da fosfatemia (PENIDO et al., 2012).

O P retido reflete tanto a digestibilidade de P quanto a utilização pós-absortiva, uma vez que excrementos de aves incluem fezes e urina. Portanto a oferta dietética de P relativa à exigência e estado metabólico do animal podem afetar a utilização do Pt dos ingredientes. Adeola e Applegate (2010) citam diversos trabalhos que avaliaram o valor de Pr e Pdpc, observando diferenças entre esses coeficientes de digestibilidade do P, sendo em alguns trabalhos o coeficiente de Pr maior que o de Pdpc, e em outros os coeficientes de Pr menores que os de Pdpc. A padronização do valor de disponibilidade fosfórica como Pdpc também visa diminuir a utilização mútua de outros tipos de medição do valor fosfórico de ingredientes, portanto é desencorajada a utilização e determinação de valores de Pr (WPSA, 2013). Ademais, os valores de Pr podem ser influenciados pela atividade microbiana pós ileal, enquanto o Pdpc tem menor influência desta microbiota (SHASTAK e RODEHUTSCORD, 2013).

2.3 Metodologias Para Determinação Da Digestibilidade De Fósforo De Ingredientes

Ensaio de metabolismo de coleta de conteúdo ileal têm sido amplamente utilizados para determinar a digestibilidade de aminoácidos de ingredientes para aves (ADEDOKUN et al., 2008). Para analisar a digestibilidade de fósforo os ensaios de coleta ileal têm sido priorizados aos ensaios de retenção de P, uma vez que os valores determinados não são afetados pela atividade microbiana do intestino grosso e por não sofrer influência da excreção de P urinário (SHASTAK e RODEHUTSCORD, 2013).

Para determinação da digestibilidade ileal é necessário o uso de indicadores indigestíveis. Dentre os principais indicadores utilizados neste tipo de ensaio podem ser citados o óxido crômico, o dióxido de titânio e a cinza ácida insolúvel. Estes indicadores têm como característica não alterar a digestibilidade dos nutrientes e ser recuperado em altas taxas nas excretas, bem próxima à quantidade incluída na dieta (SALES e JANESSEN, 2003; OLUKOSI et al., 2012).

As aves são criadas até uma determinada idade recebendo ração para atender as exigências nutricionais preconizadas pelo manual da linhagem. Após um período de

adaptação às dietas experimentais as aves são então sacrificadas para coleta do conteúdo ileal. Tanto as rações quanto o conteúdo da digesta ileal são analisadas para fósforo e para o indicador escolhido.

A relação entre a concentração do indicador, tanto na dieta quanto na digesta, são utilizadas para calcular o fator de indigestibilidade, de acordo com a seguinte equação: $FI = [Ti_f/Ti_d]$. Onde, FI é o fator de indigestibilidade ileal aparente, Ti_d é a concentração de indicador na dieta, Ti_f é a concentração de indicador na digesta ileal.

De posse do fator de indigestibilidade do indicador, é possível correlacionar estes valores com as concentrações de P na dieta e na digesta ileal, obtendo-se então o coeficiente de digestibilidade ileal aparente do P (CdiaP) da dieta, de acordo com a seguinte equação: $CdiaP = 1 - [FI \times (P_f/P_d)]$. Onde, CdiaP é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente de P; FI é o fator de indigestibilidade; P_f é a concentração de P na digesta ileal e P_d é a concentração de P na dieta.

A partir da determinação dos CdiaP das dietas fornecidas as aves, são três as principais metodologias descritas na literatura na avaliação da digestibilidade de ingredientes: método direto, método da substituição e o método de regressão.

Porém, nem todo o P presente na digesta se origina da dieta, pois parte deste fósforo é de origem endógena, como o P derivado de sucos salivares, gástricos, pancreáticos, biliares, outras secreções e células da mucosa descamadas (FAN et al., 2001). A digestibilidade determinada é, portanto, "aparente" e não levam em consideração as perdas de P endógenas. Três questões principais são colocadas em relação ao uso dos valores de digestibilidade aparente de P em formulações de dietas: os valores de digestibilidade aparente são altamente variáveis dentro do mesmo ingrediente; a digestibilidade aparente de P subestima a verdadeira utilização do P do ingrediente pelas aves; e os valores de digestibilidade aparente de P medidos em ingredientes isolados nem sempre são aditivos quando usados em formulações de dietas (FAN et al., 2001).

Assim, as correções para perdas endógenas são necessárias para a determinação dos coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro de P (CdiviP). Para a determinação das perdas endógenas são utilizadas dietas livres de fósforo (MUTUCUMARANA et al., 2016) no método direto e de substituição, partindo do mesmo pressuposto da utilização de dietas livres de nitrogênio em determinações de aminoácidos digestíveis (ADEDOKUN et al., 2011). Já no método de regressão não é necessária a utilização de uma dieta purificada, sendo a perda endógena calculada como o intercepto da curva (DILGER e ADEOLA, 2006). A forma de obtenção e cálculo dos CdiviP de cada método será melhor explicitada posteriormente.

2.3.1 Método direto na determinação do CdiviP de ingredientes

No método direto, o ingrediente teste serve como a única fonte de P na dieta. O cálculo do coeficiente de digestibilidade ileal aparente (Cdia) de P na dieta é assumido como o valor de digestibilidade de P do ingrediente teste. No entanto, como descrito para aminoácidos e proteínas (LEMME et al., 2004), quando o método direto é usado para determinar a digestibilidade de P em ingredientes com baixo teor de P, a digestibilidade aparente de P pode ser subestimada, devido à proporção relativamente maior de P endógeno na digesta. O coeficiente de digestibilidade de P calculado pelo método direto é "aparente", ou seja, considera que todo o fósforo presente na digesta teve como origem o ingrediente. Esta limitação pode ser solucionada através da correção para a estimativa de perdas de P endógenas (PEP), obtendo-se então, o valor de digestibilidade verdadeiro.

Para este tipo de determinação as aves deverão receber duas dietas, uma dieta livre de fósforo para a determinação das perdas endógenas, e uma dieta onde o ingrediente teste seja a

única fonte de fósforo na dieta. Para cada ingrediente extra a ser avaliado é necessário a formulação de apenas mais uma dieta teste, sendo necessária apenas uma dieta para determinação das perdas endógenas.

Calcula-se então o coeficiente de digestibilidade ileal aparente do P (C_{diaP}) da dieta teste como descrito anteriormente. Os cálculos para a determinação das perdas endógenas, em grama perdida por quilograma de matéria seca ingerida, são realizados de acordo com os dados obtidos a partir da dieta livre de fósforo, aplicando-se a seguinte equação: $PEP = P_{digesta} \times (I_{dieta}/I_{digesta})$. Onde, PEP representa as perdas endógenas em gP/kgMS ingerida; P_{digesta} é o conteúdo de fósforo da digesta em g/kgMS; I_{dieta} é o conteúdo do indicador indigestível na dieta em g/kgMS; e I_{digesta} é o conteúdo de indicador indigestível presente na digesta em g/kgMS.

O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira do P (C_{dviP}) do ingrediente teste é calculado de acordo com a seguinte fórmula, proposta por Fan et al. (2008): $C_{dviP} = C_{diaP} + (PEP/P_{dieta})$. Onde, C_{dviP} é o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira do P; C_{diaP} é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente do P da dieta teste; PEP representa as perdas endógenas em gP/kg MS ingerida; e P_{dieta} é o conteúdo de fósforo da dieta em g/kgMS.

Bunzen (2009) determinou o C_{dviP} de diferentes ingredientes para frangos de corte através do método direto, relatando valores de 57% para o farelo de soja e 74% para o fosfato bicálcico. As perdas endógenas foram determinadas com o fornecimento de uma dieta purificada livre de fósforo, e estimadas em 142 miligrama de fósforo por quilograma de matéria seca ingerida (mg P/kg MSI). As dietas teste foram obtidas com a inclusão dos ingredientes teste em substituição ao amido, em quantidade suficiente para obter-se o valor de 0,10% de fósforo total na dieta.

Mutucumarana et al. (2016) utilizaram o método direto para a determinação do C_{dviP} de quatro diferentes farinhas de carne e ossos. Os autores relatam valores que variaram de 44% a 62%, indicando que apesar de o conteúdo de fósforo dessas farinhas sejam totalmente de fósforo não fítico, essas farinhas não tem um alto aproveitamento pelas aves como seria o esperado. As perdas endógenas foram determinadas em 354 mg/kgMS ingerida.

Variações encontradas nas perdas endógenas pelo método direto podem ter relação com fatores dietéticos, como níveis nutricionais utilizados nas dietas purificadas, bem como fatores relacionados ao estado fisiológico das aves (AL-MASRI, 1994; SILVA et al, 2011). Poucos trabalhos estão disponíveis na literatura, ao conhecimento destes autores, avaliando o C_{dviP} de ingredientes para aves pelo método direto.

Wu et al. (2004) determinaram o C_{diaP} pelo método direto do sorgo, milho, trigo e cevada, relatando os seguintes valores, respectivamente, 36%, 70%, 51% e 61%. Não foram estimadas as perdas endógenas neste experimento, por isso os valores foram expressos em digestibilidade aparente.

2.3.2 Método de substituição na determinação do C_{dviP} de ingredientes

No método de substituição, o C_{diaP} nos ingredientes teste é avaliado usando duas dietas, uma dieta referência e uma dieta teste. A dieta de referência pode consistir de dois ou mais ingredientes comuns (por exemplo, milho e farelo de soja), enquanto a dieta teste consiste em uma mistura (por exemplo, 60:40) de proporções predeterminadas da dieta referência e do ingrediente teste. O método de substituição pressupõe que não há interação entre a dieta referência e o ingrediente teste, e que os valores de C_{diaP} são aditivos (LEMME et al., 2004). O método de substituição também é referenciado na literatura como método da diferença, uma vez que a digestibilidade do nutriente do ingrediente teste é calculado pela diferença entre a digestibilidade da ração referência e dieta teste (ADEOLA, 2001).

Este método tem sido muito utilizado para determinação do valor energético de ingredientes para aves (COATES et al., 1977; OLUKOSI et al., 2017), e para o cálculo de digestibilidade de proteína bruta, matéria seca e extrato etéreo. Para a determinação de aminoácidos digestíveis também foi avaliado o seu uso, porém o método direto foi o que se consolidou (RAVIDRAN et al., 2017). Para determinação da digestibilidade ileal de fósforo são escassos os trabalhos na literatura com o uso do método de substituição (VAN HARN et al., 2017). Em trabalho recente, Anwar et al. (2018) avaliaram o uso do método de substituição para determinação da digestibilidade ileal de cálcio com aves.

Assim como no método direto, o coeficiente de digestibilidade de P calculado pelo método de substituição é "aparente", ou seja, considera que todo o fósforo presente na digesta teve como origem o ingrediente. Para obter-se então o valor de digestibilidade verdadeiro devem-se estimar as perdas de P endógenas. Portanto, no método de substituição para a determinação do CdviP será necessária a formulação de 3 dietas. Para cada ingrediente a mais a ser avaliado será necessária a formulação de nova dieta teste, sendo aproveitados os valores da dieta referência e da dieta livre de fósforo.

Devido à necessidade de se atender à exigência de fósforo sem excessos para que não haja comprometimento da digestibilidade deste nutriente, as dietas referências têm sido substituídas por dietas basais, deficientes em P, na determinação dos CdviP pelo método de substituição. Além disso, fontes ricas em fósforo, como é o caso de fontes inorgânicas são adicionadas em substituição a um inerte na dieta basal, em quantidade suficiente para atender a exigência do animal (VAN HARN et al., 2017).

Calcula-se então o coeficiente de digestibilidade ileal aparente do P (CdiaP) das dietas basal ou referência e da dieta teste, como descrito anteriormente. Os cálculos para a determinação das perdas endógenas, em grama perdida por quilograma de matéria seca ingerida, para determinação do coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira do P (CdviP) das dietas experimentais são realizados de acordo com a descrição prévia na seção 3.1.

O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira do P (CdviP) do ingrediente teste é calculado de acordo com a fórmula proposta por Anwar et al. (2018): $A = [(T \times T_p) - (B \times B_p) / A_p]$. Onde, A é o coeficiente de digestibilidade do fósforo do ingrediente teste; A_p é a proporção de fósforo na dieta teste oriundo do ingrediente teste; B é o coeficiente de digestibilidade do fósforo da dieta basal; B_p é a proporção de fósforo na dieta teste oriundo da dieta basal; T é o coeficiente de digestibilidade de fósforo da dieta teste; e T_p é a soma de $A_p + B_p$.

Bunzen (2009) determinou os valores do CdviP de fósforo de vários ingredientes para frangos de corte através do método de substituição. A dieta basal continha 0,25% de fósforo total. Os ingredientes foram substituídos à ração referência, de modo a fornecerem 0,15% de Pt, nos ingredientes de origem vegetal, e 0,20% nos demais ingredientes. As perdas endógenas foram determinadas com o fornecimento de uma dieta purificada livre de fósforo, e estimadas em 138mg P/kg MSI. O CdviP encontrados foram: 44% para o milho, 57% para o farelo de soja, 51% para o farelo de trigo, 57% para a farinha de carne e ossos, 62% para o fosfato bicálcico e 62% para o fosfato monocálcico.

Cinco fontes de fósforo, sendo três de origem orgânica e duas de origem inorgânica, foram avaliadas por Van Harn et al. (2017). Os autores determinaram o CdviP para frangos de corte, através do método de substituição, do Calfos, Delfos, farinha de ossos suína, fosfato bicálcico e fosfato monocálcico, sendo os coeficientes 86,9%, 94,5%, 78,2%, 82,4% e 88,5%, respectivamente. Os altos valores dos CdviP de Delfos e Calfos, quando comparados à farinha de ossos, são justificados pelos autores devido ao processamento químico e termo-físico ao qual os ossos foram submetidos, principalmente o Delfos, sendo este produto o resultado da

dissolução da matriz óssea em ácido clorídrico, seguido de precipitação do fósforo liberado com hidróxido de cálcio.

Até o presente momento, ao conhecimento dos autores deste trabalho, estes são os únicos trabalhos a determinar o CdviP pelo método de substituição disponíveis na literatura.

2.3.3 Método de regressão na determinação do CdviP de ingredientes

No método de regressão, no mínimo três dietas semipurificadas ou de dietas basais, deficientes em fósforo, são formuladas com inclusões graduais do ingrediente teste, para as dietas conterem concentrações graduais de fósforo, onde o ingrediente teste é a única fonte de variação dietética de fósforo. Este método baseia-se no estabelecimento de uma relação linear entre o consumo do nutriente avaliado e a sua quantidade obtida na digesta ileal (MUTUCUMARANA et al., 2015).

A excreção total de fósforo por ingestão de matéria seca (PE-MSI) na digesta ileal (g/kg MSI) é submetido à regressão com o conteúdo de fósforo na dieta com base na matéria seca (MS). A indigestibilidade verdadeira e as perdas endógenas são a inclinação e interceptação, respectivamente, da regressão linear. A indigestibilidade verdadeira do P é uma medida indireta da ineficiência em que P dietético é extraído. A digestibilidade verdadeira é calculada subtraindo-se de 100 o percentual de indigestibilidade verdadeira de fosforo (DILGER e ADEOLA, 2006).

Embora a perda endógena e o CdviP do ingrediente alimentar específico sejam simultaneamente determinados, a complexidade técnica do método de regressão é uma desvantagem para não obter aceitação mais ampla na pesquisa nutricional. Alguns estudos de regressão com frangos relataram perdas endógenas negativas de P, resultando em estimativas de digestibilidade verdadeira mais baixas do que seus correspondentes aparentes (IYAYI, 2013; LIU et al., 2013, MUTUCUNARAMA et al., 2015), sendo tais resultados biologicamente impossíveis de acontecer e relatado como uma limitação da técnica de regressão, a qual extrapola os dados a partir da relação linear entre consumo e excreção do nutriente em estudo. Ademais, a técnica é mais trabalhosa e mais onerosa, pois há a necessidade de formular no mínimo três dietas experimentais, sendo uma dieta basal, mais duas dietas com diferentes níveis de inclusão do ingrediente teste, acarretando em um maior número de aves, análises e quantidade de dieta experimental (WPSA, 2013).

Entretanto, é uma técnica robusta, pois não utiliza um único nível de inclusão do ingrediente, considerando então a interação que possa haver entre o ingrediente teste e os outros ingredientes da dieta. Permite ainda a extrapolação para 0% de fósforo ingerido, determinando simultaneamente as perdas endógenas (DILGER e ADEOLA, 2006).

Além disso, o método de regressão foi o método recomendado pelo Grupo de Trabalho nº 2: Filiais da WPSA de Nutrição da Federação Européia (WPSA, 2013) para determinação dos coeficientes de digestibilidade ileal verdadeira do fósforo de ingredientes para aves. Sugestões de formulação das dietas experimentais podem ser observadas no artigo publicado pelo grupo de trabalho (WPSA, 2013).

São calculados então o coeficiente de digestibilidade ileal aparente do P (CdiaP) de cada dieta experimental, como descrito nas seções anteriores.

O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do P (CdviP) será calculado de acordo com o procedimento descrito por Dilger e Adeola (2006) para a estimativa da digestibilidade, através dos seguintes cálculos:

O valor total de P na digesta ileal, expressa como g/kg de ingestão de matéria seca (MSI), será calculada pela seguinte equação: $Pf-MSI (g/kg) = Pf-MSf \times (TiI/Tif)$. Onde, Pf-MSI e Pf-MSf representam as concentrações de P na digesta com base na MS ingerida e na

MS excretada, respectivamente, e TiI e Tif representam a concentração de indicador presente na dieta e digesta, respectivamente.

Para gerar a regressão linear, os valores da concentração de P na digesta (variável dependente) serão submetidas à regressão contra as concentrações de P dietético na MS (variável independente), com uso do modelo estatístico a seguir: Pf-MSI (g/kg) = (TPI × PI) + IEPL. Onde Pf-MSI representa a concentração de P na digesta com base na matéria seca ingerida, PI representa a concentração de P na dieta com base na MS, TPI representa a indigestibilidade verdadeira de P e IEPL representa as médias estimadas de perdas de P endógeno com base na MS. Nesta equação, TPI e EPL são a inclinação e a interceptação, respectivamente, da regressão linear simples de Pf-MSI em PI.

A indigestibilidade de P verdadeiro é uma medida indireta da ineficiência em que o P é extraído pelas aves. A digestibilidade ileal verdadeira de P será calculada da seguinte forma: $CdviP = 1 - VPI$. Onde, CdviP e VPI representam o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro e o coeficiente de indigestibilidade pre-cecal verdadeiro de P, respectivamente.

Diversos trabalhos podem ser encontrados na literatura utilizando o método de regressão para determinação do CdviP de ingredientes comumente utilizados na alimentação avícola. Bikker et al. (2016) determinaram a digestibilidade do fosfato bicálcico, fosfato deflourizado e fosfato monobicálcico em 59%, 31,5% e 70,7%, respectivamente. Mutucumarana et al. (2015) determinaram a digestibilidade de diferentes farinhas de carne e ossos, e encontraram valores de 42 a 69% usando o método de regressão. Vários trabalhos estão disponíveis sobre o uso do método de regressão para ingredientes de origem vegetal (Kupcikova et al., 2017; Pekel et al., 2017; Witzig et al., 2018)

Um dos primeiros autores a propor a utilização do método de regressão para determinação da digestibilidade ileal de fósforo foram Dilger e Adeola (2006). Os autores avaliaram o CdviP de dois tipos de farelo de soja, um convencional e outro com baixo teor de fitato, encontrando valores de 94% de digestibilidade para ambos os ingredientes. Os autores justificam o alto valor encontrado devido ao baixo teor de fósforo utilizado nas dietas experimentais, em torno de 5 a 20% da exigência das aves, o que poderia ter levado à um máximo aproveitamento do fósforo proveniente da dieta.

Além do nível de fósforo da dieta, diferentes questões em relação à determinação da digestibilidade de fósforo foram levantadas por diversos autores para justificar a variabilidade de resultados encontrados entre diferentes trabalhos sobre o mesmo ingrediente na literatura. Dentre eles a relação Ca:P, teor de fitato na dieta, utilização de fitase, entre outros.

2.4 Absorção De Fósforo Pelas Aves

A absorção de fósforo pelas aves no lúmen intestinal acontece com o fósforo na forma inorgânica, tanto a forma bivalente HPO_4^{2-} , quanto à forma monovalente $H_2PO_4^-$ (QUAMME, 1985). Em frangos a absorção ocorre por todo o intestino delgado, com a maior parte sendo absorvida até a porção proximal do jejuno (HURWITZ & BAR, 1970).

Dois mecanismos são sugeridos para a absorção de fósforo no intestino delgado: transporte ativo, o qual ocorre através de co-transportadores dependentes de sódio; e transporte passivo, dependente da difusão através do gradiente de concentração. O transporte ativo é a principal forma de absorção de fósforo no intestino das aves, e ocorre principalmente no duodeno, enquanto no jejuno e íleo a maior parte da absorção ocorre através de transporte passivo (HU et al., 2018).

O transporte ativo é dependente de energia, usando energia proveniente da sódio-potássio ATPase (Na/K-ATPase). A captação do sódio e do fósforo na membrana apical dos enterócitos é mediado por co-transportadores de sódio/fosfato (NaPi) (FIGUEIREDO JR et

al., 2018). Os transportadores foram identificados e classificados em Tipo I, II e III com base na sequência homológica (TAKEDA et al., 1999). O transportador NaPi Tipo I não tem papel bem definido e, suas características sugerem que não seja um transportador importante para região da membrana borda em escova (YAN et al., 2007). Os co-transportadores NaPi do tipo II estão envolvidos na regulação tanto da absorção intestinal como na reabsorção a nível renal, e de acordo com sua estrutura, distribuição tecidual e pH de atuação são divididos em NaPi IIa, IIb e IIc. O tipo IIa e IIc são expressos principalmente nas membranas apicais das células epiteliais dos túbulos renais, enquanto o co-transportador do tipo IIb é expresso primariamente nas membranas da borda em escova do epitélio do intestino delgado (FOSTER et al., 2011), e é considerado o principal co-transportador NaPi.

Estudos recentes sugerem que co-transportadores de NaPi do tipo III, também podem estar presentes membrana apical do enterócito de frangos e envolvidos na absorção de fósforo, é o caso dos co-transportadores PiT1 e PiT2 (HU et al., 2018).

Fósforo dietético e vitamina D3 são considerados os fatores fisiológicos mais importantes na regulação da absorção intestinal de fósforo (FIGUEIREDO JR et al., 2018). Baixas concentrações dietéticas de fósforo estão relacionadas a maior expressão gênica de co-transportadores do tipo NaPi IIb, aumentando a eficiência de absorção do fósforo (HU et al., 2018). Em relação a vitamina D, estudos demonstram que frangos suplementados com análogos dessa vitamina aumentaram a retenção e absorção de fósforo, assim como maior expressão gênica do co-transportador NaPi IIb nos segmentos do intestino (HAN et al., 2009).

2.5 Fatores Que Podem Afetar a Determinação Da Digestibilidade De Fósforo

Como sinalizado anteriormente, o fósforo é um dos minerais mais abundantes no corpo, e seus níveis séricos são regulados por um complexo conjunto de processos que ocorrem no intestino, esqueleto e rins. Os reguladores principais atualmente conhecidos da homeostase do fósforo incluem o hormônio paratireoide (PTH), calcitriol e fosfatoninas (PENIDO et al., 2012). Além disso, o metabolismo fosfórico está estreitamente relacionado com o metabolismo de cálcio. No lúmen intestinal, devido à alta carga negativa do grupamento fosfato, este mineral pode se quelatar com outros nutrientes, diminuindo a sua solubilidade e impossibilitando a absorção pelo animal (SELLE ET AL., 2009). Portanto, tanto fatores dietéticos, quanto fatores relacionados ao estado fisiológico da ave, entre outros, podem influenciar a digestibilidade de fósforo.

2.5.1 Fatores dietéticos que podem influenciar a digestibilidade de fósforo

Dentre os fatores dietéticos que podem influenciar a determinação da digestibilidade de fósforo, os principais fatores são: o cálcio, o fitato, a fitase e a vitamina D₃.

Níveis elevados de Ca na dieta, podem aumentar o pH no intestino e, como resultado, diminuir a absorção de fósforo (KESHAVARZ, 1986). Além disso, é capaz de se complexar com o fitato, diminuindo a capacidade de ação da fitase (PLUMSTEAD et al., 2008). Perryman et al., (2016 a) demonstraram diferentes efeitos de estratégias de alimentação, com Ca alto (0,95%) ou baixo (0,13%) e uma estratégia de relação fixa Ca:P (2,1:1), e observaram diferentes valores de C_{dviP} do milho. Em outro estudo, Perryman et al., (2016b), avaliaram a relação Ca:P de 1,4:1 e uma estratégia de fixar (0,35%) o Ca, e concluíram que ao utilizar a estratégia da relação Ca:P foram gerados valores de perdas endógenas negativas pelo método de regressão, o que não aconteceu ao fixar o cálcio em 0,35% da dieta, ao avaliarem o C_{dviP} do milho.

O fitato é a principal forma de armazenamento de P nos alimentos vegetais e é considerado um fator anti-nutritivo. Esta molécula possui cargas negativas, sendo capaz de se quelatar com minerais no lúmen intestinal, e os quelatos formados tem menor capacidade de sofrer ação da fitase (PLUMSTEAD et al., 2008), diminuindo a absorção de fósforo da dieta.

A utilização de fitase exógena é uma prática comum na formulação de dietas avícolas, tendo impacto direto sobre o aproveitamento fosfórico da dieta. Amerah et al.(2014) avaliaram a inclusão de fitase em dietas com diferentes suplementações de cálcio, e concluíram que a inclusão de fitase exógena aumentou a degradação do fitato, levando a uma maior digestibilidade de fósforo. O C_{dviP} do farelo de amendoim e do feijão-fradinho foram determinados por Iyayi et al. (2013) pelo método de regressão com ou sem a suplementação de fitase exógena. A fitase melhorou o C_{dviP} de ambos os ingredientes, de 29% para 83% no feijão-fradinho e de 67 para 75% no farelo de amendoim.

A vitamina D3 está relacionada com o melhor aproveitamento dietético de fósforo (BIEHL e BAKER, 1997). A sua forma ativa, calcitriol, atua diretamente no intestino delgado estimulando a absorção de cálcio e fósforo (PENIDO et al., 2012). Ademais, a suplementação com vitamina D3 ativa acarretou em um melhor aproveitamento do fósforo fítico, como sugerido por Edwards Jr. (1993). Han et al. (2012) também observaram maior retenção de fósforo em dietas suplementadas com um análogo da vitamina D3, 1 α -hydroxycholecalciferol (1 α -OH D3), indicando que a absorção de fósforo melhorou com a inclusão da vitamina. Han et al. (2018) relatam que a vitamina regula a expressão gênica do co-transportador de fósforo da membrana, observando maior expressão gênica em dietas suplementadas com 25-OH-D3.

2.5.2 Fatores não dietéticos que podem influenciar a digestibilidade de fósforo

Um “ring test” (RODEHUTSCORD et a., 2017), um experimento onde várias equipes desenvolvem a mesma pesquisa com o intuito de validar uma metodologia, foi realizado para avaliar o C_{dviP} do farelo de soja, pelo método de regressão. Para tal, três dietas com diferentes níveis de inclusão de farelo de soja foram misturadas em uma única fábrica especializada em dietas experimentais e enviadas para dezessete estações experimentais em diversos locais do mundo(RODEHUTSCORD et a., 2017). Os frangos de corte foram criados de acordo com a rotina de manejo específica de cada estação experimental. Foram então alimentados com as dietas experimentais por um período mínimo de 5 dias antes da coleta do conteúdo da metade posterior do íleo. Todas as dietas e amostras de digesta foram analisadas no mesmo laboratório(RODEHUTSCORD et a., 2017).

O C_{dviP} do farelo de soja foi determinado por regressão linear, sendo observada variação entre as estações, de 19 a 51%(RODEHUTSCORD et a., 2017). Como a mesma ração e o mesmo laboratório foram utilizados para o teste, segundo os autores, as diferenças não seriam devido a fatores dietéticos ou laboratoriais. Várias hipóteses foram levantadas pelos autores a partir das diferenças observadas entre as estações experimentais, entre elas: a linhagem da ave utilizada, a idade dos animais, o sexo das aves, o tempo de adaptação às dietas experimentais e até mesmo o método de eutanásia(RODEHUTSCORD et a., 2017).

Também foram realizadas análises de fitato nas dietas e na digesta de quatro estações selecionadas para determinar a taxa de desaparecimento ileal do fitato. Rodehutscord et al. (2017) relatam que os C_{dviP} foram maiores onde a taxa de desaparecimento do fitato foi maior, sugerindo que os fatores que influenciaram a hidrólise do fitato foram os principais contribuintes para a variação no C_{dviP} entre as estações, relacionando esses fatores às condições de alimentação e alojamento (boxes ou gaiolas) das aves na fase pré-experimental,

o que poderia ter causado uma diferenciação na colonização da microbiota intestinal entre as estações (RODEHUTSCORD et al., 2017).

A expressão do co-transportador ativo de fósforo na membrana intestinal, NaPi-IIb, é influenciado pela idade da ave, alcançando um pico com três semanas de idade e redução até a sexta semana de vida (LI et al, 2017). Han et al. (2018) também encontraram maior expressão do co-transportador NaPi-IIb em aves com 3 semanas de idade. Com a maior expressão do principal transportador de fósforo da membrana em um determinado momento de vida da ave, acredita-se que a idade pode influenciar a digestibilidade de fósforo.

CAPÍTULO I

COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE ILEAL VERDADEIRO DE FÓSFORO DA FARINHA DE PEIXES PARA FRANGOS DE CORTE POR DIFERENTES METODOLOGIAS

RESUMO

Este estudo foi conduzido com o objetivo de determinar a digestibilidade ileal verdadeira do fósforo (CdviP) da farinha de peixes através dos métodos direto, substituição e regressão. Seis dietas experimentais semi-purificadas foram formuladas, uma dieta à base de amido de milho e açúcar livre de cálcio e fósforo (Dieta Livre), uma dieta semelhante a Livre, com inclusão de 4% de farinha de peixes (FP4), uma com 7 % de inclusão (FP7), uma com 10% de inclusão (FP10), uma dieta semelhante a Livre com fósforo oriundo do fosfato bicálcico (FB) e por última uma dieta com metade do fósforo da dieta sendo fornecido pelo fosfato bicálcico e metade pela inclusão da farinha de peixes (FB+FP). A dieta Livre foi utilizada para determinar as perdas endógenas de fósforo, necessárias para a correção do valor aparente por valores verdadeiros na metodologia direta e de substituição. As dietas FP4, FP7 e FP10 foram utilizadas para determinar o coeficiente de digestibilidade pelo método de regressão. FP10 também foi utilizada para determinação da digestibilidade pelo método direto. As dietas FB e FB+FP foram utilizadas para determinar o CdviP pelo método de substituição. Dióxido de titânio foi adicionado em 3g/kg em todas as dietas como indicador indigestível. 252 frangos foram alojados em gaiolas metabólicas, e as dietas foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, em 6 tratamentos e 6 repetições de 7 aves cada. As aves receberam a ração experimental por 3 dias, dos 19 aos 22 dias de idade. No 22º dia de idade as aves foram eutanasiadas para a coleta do conteúdo ileal. Excretas e dietas foram analisadas para titânio, matéria seca, cálcio e fósforo. A digestibilidade aparente de fósforo das dietas experimentais foi calculada pelo método do indicador. As perdas endógenas com o uso da dieta purificada foram determinadas em 128,7 mg/kg de MSi. Pelo método de regressão a perda endógena estimada foi negativa. Os CdviP determinados pelos métodos direto, substituição e regressão, respectivamente, foram 0,4549 0,5168 e 0,2546. Não houve diferença significativa entre o método direto e o método de substituição. A menor digestibilidade de fósforo encontrada com o método de regressão pode estar relacionada às perdas endógenas negativas. De acordo com este ensaio o método direto é o mais indicado para este tipo de determinação.

Palavras-chave: Fósforo digestível. Método direto. Método de regressão. Método de substituição.

ABSTRACT

This study was conducted with the objective of determining the true ileal digestibility of phosphorus (C_{dvi}P) from fish meal with broilers through direct method, substitution method and regression method. Six semi-purified experimental diets were formulated, a diet based on corn starch and sugar Livre of calcium and phosphorus (Diet Livre), a diet similar to Livre, with inclusion of 4% of fish meal (FP4), a diet with 7% inclusion (FP7), a diet with 10% inclusion (FP10), a diet similar to Livre with phosphorus from dicalcium phosphate (FB), and finally a diet with half of the dietary phosphorus being supplied by dicalcium phosphate and half by the inclusion of fish meal (FB + FP). The Livre diet was used to determine the endogenous phosphorus losses, necessary for the correction of the apparent value in the direct and substitution methodology. The FP4, FP7 and FP10 diets were used to determine the coefficient of digestibility by the regression method. FP10 was also used to determine the digestibility by the direct method. The diets FB and FB + FP were used to determine the C_{dvi}P by the substitution method. Titanium dioxide was added in 3g / kg in all diets as indigestible indicator. 252 broilers were housed in 36 metabolic cages, and the diets were distributed in a completely randomized design, in 6 treatments and 6 replicates of 7 birds each. The birds received the experimental ration for 3 days, from 19-22 days post-hatch. At the 22 days old the birds were euthanized for the collection of ileal content. Ileal content and diets were analyzed for titanium, dry matter, calcium and phosphorus. The apparent phosphorus digestibility of the experimental diets was calculated by the indicator method. Endogenous losses with the purified diet were determined to be 128.7 mg / kg MSi. By the regression method the estimated endogenous loss was negative. The C_{dvi}P determined by the direct, substitution and regression methods, respectively, were 0.4549 0.5168 and 0.2546. There was no significant difference between the direct method and the substitution method. The lower phosphorus digestibility found with the regression method may be related to negative endogenous losses. According to this assay the direct method is the most suitable for this type of determination.

Keywords: Digestible phosphorus. Direct method. Regression method. Substitution method.

1 INTRODUÇÃO

O fósforo desempenha diversas funções no organismo animal, desde a formação óssea a transferência de informação genética. Portanto, é um elemento essencial e deve ser fornecido nas dietas avícolas. A preocupação recente sobre os recursos finitos para obtenção dos fosfatos inorgânicos utilizados na formulação de dietas, o impacto ambiental causado pelo excesso de fósforo despejado no meio ambiente e os custos crescentes para o fornecimento deste mineral têm levado a indústria a procurar maneiras mais eficientes de utilizar esse elemento.

Diferentes propostas de metodologias têm sido utilizadas para mensurar a disponibilidade de fósforo de ingredientes para aves, dentre eles, o fósforo não fítico (NRC, 1994; ROSTAGNO et al., 2017), o fósforo retido (CBV, 2016) e a biodisponibilidade de fósforo de ingredientes (INRA, 2002). Em esforços recentes, diversos pesquisadores estudaram formas de avaliar qual seria a maneira mais eficaz de determinar a disponibilidade do fósforo para aves. O grupo de trabalho em nutrição da WPSA (2013) indicou a digestibilidade ileal de fósforo como o método de escolha para determinar a disponibilidade de fósforo dos ingredientes para aves. Uma situação similar existe com a disponibilidade de aminoácidos, onde a digestibilidade ileal é usada para estimar a disponibilidade (ADEOLA et al., 2016).

Diferentes metodologias estão disponíveis para a determinação da digestibilidade ileal de fósforo dos ingredientes, que são método direto, método de substituição e método de regressão, e são derivados de metodologias utilizadas para determinação de digestibilidade de aminoácidos (LEMME et al., 2004). Para determinação do fósforo de ingredientes de origem animal, tem relatos na literatura do uso do método direto (MUTUCUMARANA et al., 2016) e o uso do método de regressão (MUTUCUMARANA et al., 2015), não sendo encontrados trabalhos que utilizaram o método de substituição. Porém o método de substituição tem sido utilizado para outros ingredientes com alto teor de fósforo (VAN HARN et al., 2017)

Cada método possui suas limitações, além de vantagens e desvantagens. No método direto e no método de substituição é necessária a formulação de uma dieta isenta de fósforo para determinação das perdas endógenas e posterior substituição do valor aparente para o valor verdadeiro, enquanto que no método de regressão a perda endógena é determinada pelo intercepto da equação linear gerada (ANWAR et al., 2018), porém o método de regressão é mais oneroso e laborioso, devido à necessidade de formulação de várias dietas para um único ingrediente. A correção para os valores de digestibilidade verdadeira se faz necessária, pois estes estão relacionados à maior aditividade em dietas com vários ingredientes (SHE et al., 2017).

Na literatura poucos trabalhos estão disponíveis comparando a aplicação de diferentes metodologias. Diferenças entre o método direto e o método de regressão foram encontradas, e estas podem estar associadas ao ingrediente teste (MUTUCUMARANA et al., 2016). Essas diferenças não são exclusivas na determinação da digestibilidade de fósforo, com outros nutrientes também acontecem, como por exemplo com a digestibilidade de cálcio do fosfato bicálcico (ANWAR et al., 2018).

A farinha de peixes é um subproduto utilizado na formulação de dietas avícolas, principalmente como fonte de aminoácidos essenciais e proteína bruta. Não são reportados na literatura valores da sua digestibilidade de fósforo para aves, porém tem sido quantificado para suínos (GONZALEZ-VEGA et al., 2015).

O objetivo com este trabalho foi determinar a digestibilidade ileal verdadeira de fósforo da farinha de peixes para frangos de corte com diferentes metodologias, bem como estimar as perdas endógenas de fósforo com o uso de dieta semipurificada e pelo método de regressão.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal do Brasil, e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, sob o número de processo 23083.021049/2018-66.

2.1 Aves e Manejo Inicial

Foram adquiridos 500 pintos de corte de um dia de idade, machos, da linhagem Cobb 500, adquiridos de um fornecedor local. As aves foram alojadas em galpão de alvenaria, sobre cama de maravalha, aquecimento por campânula a gás, bebedouros do tipo pressão infantil e comedouro tipo bandeja. A ração fornecida, descrita na Tabela 1, até o início do período experimental foi formulada para atender as exigências nutricionais de acordo com a Tabela Brasileira de Aves e Suínos (TBAS) (ROSTAGNO et al., 2017).

Aos 14 dias de idade todas as aves foram pesadas, das quais 252 foram selecionadas para equivalência do peso médio e distribuídas aleatoriamente nas gaiolas metabólicas para compor as unidades experimentais. Cada gaiola experimental foi equipada com um comedouro tipo calha de 90 cm e um bebedouro tipo copo. As gaiolas têm dimensões de 90 cm de comprimento, 45 cm de largura e 40 cm de altura. As gaiolas são dispostas em baterias metálicas de três andares, cada bateria com 12 gaiolas (Figura 1). Dos 14 aos 19 dias de idade as aves foram adaptadas às gaiolas experimentais.

Aos 19 dias de idade as aves foram pesadas novamente para determinação do peso inicial, e iniciou-se o fornecimento das dietas experimentais. Ração e água foram fornecidas à vontade. No 22º dia de idade as aves foram novamente pesadas, e o consumo de ração computado para cálculo das variáveis ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar.



Figura 1. Gaiolas metabólicas, distribuídas em bateria metálicas, equipadas com comedouro tipo calha e bebedouro tipo copo.

Durante o período experimental o programa de luz utilizado foi o de luz natural. O local do experimento contava com 3 ventiladores para circulação de ar. A temperatura durante o período experimental foi registrada, com registros de máxima de 26°C e mínima de 22°C.

Tabela 1. Ração pré-experimental fornecida até os 18 dias de idade das aves.

Ingrediente	Quantidade (%)
Milho grão	50,66
Farelo de soja	42,20
Óleo de soja	3,36
Fosfato bicálcico	1,67
Calcário	0,81
Sal comum	0,51
DL-metionina	0,32
L-lisina HCl	0,11
Suplemento mineral ¹	0,10
Suplemento vitamínico ²	0,10
Cloreto de colina	0,083
L-treonina	0,047
BHT ³	0,01
Nutrientes calculados	
Cálcio	0,878
Fósforo disponível	0,419
Energia metabolizável	2975
Proteína bruta	23,31
Sódio	0,218
Lisina digestível	1,252
Metionina digestível	0,627
Met+Cis digestível	0,937
Treonina digestível	0,835
Triptofano digestível	0,300
Valina digestível	1,194

1 Composição por kg de produto: Ferro (min) 60 g/kg; cobre (min) 13 g/kg; manganês (min) 120 g/kg; zinco (min) 100 g/kg; iodo (min) 2.500 mg/kg; selênio (min) 500 mg/kg.

2 Composição por kg de produto: Vitamina A (min) 7.500.000 UI/kg; vitamina D3 (min) 2.500.000 UI/kg; vitamina E (min) 1.200 mg/kg; vitamina K3 (min) 1.200 mg/kg; tiamina (min) 1.500 mg/kg; riboflavina (min) 5.500 mg/kg; piridoxina (min) 2000 mg/kg; vitamina B12 (min) 12.000 mcg/kg; niacina 35g/kg; panteonato de cálcio (min) 10 g/kg; biotina (min) 67 mg/kg.

2.2 Dietas e Delineamento Experimental

A farinha de peixes foi obtida de um fornecedor (Kenya Farinha de Peixes, Itajaí, SC, Brasil) e analisada para determinação da composição bromatológica. Para a condução deste estudo 6 dietas foram formuladas (Tabela 2). A dieta Livre, uma dieta purificada livre de fósforo e cálcio, foi formulada para a determinação das perdas endógenas. As dietas FP 4, FP 7 e FP 10, foram formuladas para conter diferentes níveis de farinhas de peixe, respectivamente, de 4%, 7% e 10%, resultando em níveis crescentes de fósforo. A dieta FB foi formulada para atender a exigência de fósforo (0,419%) com o uso de fosfato bicálcico. A dieta FB+FP, foi formulada para que 50% do fósforo da dieta fossem fornecidos pela inclusão da farinha de peixes, o que resultou em uma inclusão de 4,74% de farinha de peixes.

Tabela 2. Dietas experimentais para determinação do fósforo digestível da farinha de peixes por diferentes metodologias.

Ingrediente	Dietas experimentais					
	Livre	FP 4	FP 7	FP 10	FB	FB+FP
Amido		56,67	53,75	50,85	57,38	54,20
Açúcar	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Farinha de peixes		4,00	7,00	10,00	-	4,74
Fibra dietética*	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de soja	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Fosfato bicálcico	-	-	-	-	2,40	1,20
Calcário	-	-	-	-	0,73	0,52
Cloreto de potássio		1,08	1,05	1,02	1,12	1,07
Bicarbonato de sódio		0,696	0,64	0,5852	0,81	0,72
TiO ₂	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300
Suplemento vitamínico	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Suplemento mineral	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Cloreto de colina	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055
Valores calculados						
Energia metabolizável	3349	3438	3421	3404	3349	3372
Proteína bruta	0,350	2,50	4,10	5,70	0,350	2,88
Fósforo nf	-	0,177	0,310	0,440	0,419	0,419
Cálcio	-	0,324	0,566	0,8090	0,878	0,878
Ca:P	-	1,83	1,82	1,84	2,01	2,01
Valores analisados						
Fósforo	0,008	0,191	0,289	0,482	0,408	0,459
Cálcio	0,035	0,559	0,955	1,728	1,597	1,979
Ca:P	4,73	2,93	3,30	3,58	3,91	3,93

¹ Composição por kg de produto: Ferro (min) 60 g/kg; cobre (min) 13 g/kg; manganês (min) 120 g/kg; zinco (min) 100 g/kg; iodo (min) 2.500 mg/kg; selênio (min) 500 mg/kg.

² Composição por kg de produto: Vitamina A (min) 7.500.000 UI/kg; vitamina D3 (min) 2.500.000 UI/kg; vitamina E (min) 1.200 mg/kg; vitamina K3 (min) 1.200 mg/kg; tiamina (min) 1.500 mg/kg; riboflavina (min) 5.500 mg/kg; piridoxina (min) 2000 mg/kg; vitamina B12 (min) 12.000 mcg/kg; niacina 35g/kg; panteonato de cálcio (min) 10 g/kg; biotina (min) 67 mg/kg.

* Opticell® C5 eubiotic fibre (BIOSEN, Salto, SP, Brazil). Composição: 65% fibra bruta.

As dietas FP4, FP7 e FP10 foram utilizadas para determinação da digestibilidade de fósforo através do método de regressão. As dietas FP 10 e dieta Livre foram utilizadas para determinação através do método direto. As dietas FB, FB+FP e dieta Livre foram utilizadas para determinação através do método de substituição.

Dióxido de titânio foi adicionado em todas as dietas ao nível de 0,3% como indicador indigestível, para o cálculo do fator de indigestibilidade.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 6 tratamentos (dietas experimentais) e 6 repetições de 7 aves cada, totalizando 252 aves e 36 unidades experimentais.

2.3 Coleta e Processamento de Amostra

Aos 22 dias de idade as aves foram eutanasiadas por asfixia em câmara de CO₂ para coleta do conteúdo ileal. Duas horas antes do início do abate as aves foram estimuladas a consumir ração, através de estímulos mecânicos e visuais, fornecendo ração nova e também movimentando a ração presente no comedouro.

Após a eutanásia a cavidade abdominal das aves foi exposta para coleta do intestino. Após a coleta do intestino foram identificados o divertículo de Meckel e a junção ileocecocólica, sendo as estruturas que definem respectivamente o início e o fim do íleo das aves. O íleo foi então exposto, e o conteúdo da metade distal (a metade próxima à junção ileocecocólica) foi coletado por leve pressão digital, e depositado em vasilhame plástico identificado por gaiola experimental. Portanto, o conteúdo ileal de sete aves compôs a amostra de cada unidade experimental.

Para a realização da pré-secagem as amostras foram levadas à estufa ventilada a 55° C por 72h. Posteriormente, foi triturada mecanicamente com o uso de pistilo e graal em cerâmica, até que o conteúdo pudesse passar por uma peneira de um milímetro de abertura. O material moído foi guardado em recipientes hermeticamente fechados para posteriores análises de matéria seca, matéria mineral, fósforo, cálcio e titânio.

2.4 Análises laboratoriais

As análises químicas foram realizadas no laboratório de análises bromatológicas do Instituto de Zootecnia e no laboratório de cromatografia do Instituto de Agronomia da UFRRJ.

A matéria seca foi determinada através de secagem em estufa de esterilização por 24h, à 105° C (método 930.15; AOAC, 2005), com pesagem após permanecer por uma hora no dessecador. A proteína bruta foi determinada através do método de Kjeldahl (método 954.01; AOAC, 2005), utilizando-se o fator de correção 6,25. O teor de gordura foi determinado pelo método Soxhlet (método 991.36; AOAC, 2005), fazendo a extração do mesmo com éter de petróleo. A matéria mineral das amostras foi determinada gravimetricamente, através do procedimento padrão da AOAC (método 942.05; AOAC, 2005). As amostras foram queimadas em cadinhos de porcelana em forno mufla por 4 horas após atingir a temperatura de 580°C.

Para determinação dos teores de cálcio e fósforo, as cinzas geradas na análise de matéria mineral sofreram uma digestão ácida para preparo da solução mineral (Detmann et al., 2012). As cinzas foram transferidas quantitativamente para béquer de 250ml forma baixa, com o uso de 40 ml de solução de HCl 1:1. O bequer foi levado a chapa aquecedora em capela de exaustão, coberto por um vidro de relógio de 80 mm de diâmetro. O material foi aquecido até que houvesse redução de 1/3 do volume. A solução foi filtrada em papel de filtro faixa preta quantitativo tipo Whatmann 41, para balão de 100 mL. O conteúdo do bequer foi lavado quantitativamente com água destilada aquecida, e o volume do balão completado volumetricamente.

Para determinação do fósforo o método utilizado foi o colorimétrico (Detmann et al., 2012), com uso de molibdato de amônio e vitamina C. A curva padrão foi determinada com uso da solução de K₂PO₄, correspondente a 0,1mg/mL de fósforo. Em um balão de 50 ml são adicionados cinco ml de molibdato de amônio ácido, um ml da solução mineral e 2 mL de vitamina C 4%, o volume é então completado volumetricamente, aguarda-se 6 minutos para desenvolvimento da cor e procede-se a leitura em colorímetro UV visível a 725 nm.

A determinação de cálcio foi realizada através de colorimetria em espectrofotômetro de absorção atômica.

O teor de titânio foi determinado pela metodologia colorimétrica descrita por Detmann et al. (2012), onde 250 mg de amostra foi digerida com ácido sulfúrico e mistura catalítica em

tubo microkjeldahl, a 370°C por 1 hora. Após a digestão foram adicionados 10 mL de água oxigenada 30 volumes, 20 ml de água destilada e o conteúdo filtrado para balão de 100 mL com o uso de papel filtro faixa preta quantitativo. O volume do balão foi completado, e 3 gotas de peróxido de hidrogênio foi adicionado para o desenvolvimento da coloração laranja. A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV visível em 410 nm. A curva padrão foi preparada com o mesmo dióxido de titânio utilizado no experimento, com o uso de 11 tubos, cada um com uma quantidade de TiO₂, de 0 a 10 mg.

Para determinação da granulometria da farinha, foi utilizada a metodologia descrita por Zannoto et al. (2016). Em síntese, 200g de amostra em duplicata foram inseridas em um conjunto de seis peneiras de diâmetros diferentes e agitadas por dez minutos. O peso das peneiras vazias e das peneiras com amostra retida foi determinado em balança de precisão, e o diâmetro geométrico médio (DGM) e o desvio padrão geométrico (DPG) foram calculados para cada amostra através do software GranuCalc® (EMBRAPA, 2013).

2.5 Cálculos

2.5.1 Método direto

No método direto, considera-se que a digestibilidade da dieta é a digestibilidade do ingrediente, pois este é a única fonte de fósforo na dieta. Como a digestibilidade encontrada é aparente, é necessário realizar as correções e os cálculos de perdas endógenas.

A relação entre a concentração do indicador, tanto na dieta quanto na digesta, são utilizadas para calcular o fator de indigestibilidade, de acordo com a seguinte equação:

$$FI = \left[\frac{TiI}{TiF} \right]$$

Onde, FI é o fator de indigestibilidade ileal aparente, TiI é a concentração de indicador na dieta, Tif é a concentração de indicador na digesta ileal.

O coeficiente de digestibilidade ileal aparente do P (CdiaP) da dieta, é calculado de acordo com a seguinte equação:

$$CdiaP = 1 - \left[FI \times \left(\frac{Pf}{Pi} \right) \right]$$

Onde, CdiaP é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente de P; FI é o fator de indigestibilidade da dieta FP10; Pf é a concentração de P na digesta ileal oriunda de FP10 e Pi é a concentração de P na dieta FP10.

Os cálculos para a determinação das perdas endógenas, em grama perdida por quilograma de matéria seca ingerida, foram realizados de acordo com os dados obtidos a partir da dieta livre de fósforo, aplicando-se a seguinte equação:

$$PEP = P_{digesta} \times FI$$

Onde, PEP representa as perdas endógenas em g P/kg MS ingerida; P_{digesta} é o conteúdo de fósforo da digesta em g/kg MS das aves que receberam a dieta Livre; FI é o fator de indigestibilidade da dieta Livre.

O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do P (CdiviP) do ingrediente teste é calculado de acordo com a seguinte fórmula, proposta por Fan et al. (2008):

$$CdivP = CdiaP + \left(\frac{PEP}{Pdieta} \right)$$

Onde, CdivP é o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira do P; CdiaP é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente do P da dieta FP10; PEP representa as perdas endógenas em gP/kgMS ingerida; e Pdieta é o conteúdo de fósforo da dieta FP10 em g/kgMS;

2.5.2 Método de substituição

No método de substituição, a digestibilidade verdadeira do fósforo foi calculado de acordo com Anwar et al (2018), para estimativa de digestibilidade de um único ingrediente. Os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro do fósforo das dietas FB e FB+FP foram calculados como descrito anteriormente. As seguintes equações foram utilizadas para a determinação do CdivP pelo método de substituição:

$$A = \left[(T \times Tp) - \frac{(B \times Bp)}{Ap} \right]$$

Onde, A é o coeficiente de digestibilidade ileal do fósforo da farinha de peixes; Ap é a proporção de fosforo na dieta FB+FP oriundo da farinha de peixes; B é o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do fósforo da dieta FB; Bp é a proporção de fósforo na dieta FB+FP oriundo da dieta FB; T é o coeficiente de digestibilidade de fósforo da dieta FB+FP; e Tp é a soma de Ap+Bp.

2.5.3 Método de regressão

O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do P (CdivP) foi calculado de acordo com o procedimento descrito por Dilger e Adeola (2006) para a estimativa da digestibilidade, através dos seguintes cálculos:

O valor total de P na digesta ileal, expressa em g/kg de ingestão de matéria seca (MSI), foi calculado pela seguinte equação:

$$Pf - MSI (g/kg) = Pf - MSf \times (TiI/Tif)$$

Onde Pf-MSI e Pf-MSf representam as concentrações de P na digesta com base na MS ingerida e na MS excretada, respectivamente, e TiI e Tif representam a concentração de indicador presente na dieta e digesta, respectivamente.

Para gerar a regressão linear, os valores da concentração de P na digesta (variável dependente) foram submetidos à regressão em relação as concentrações de P dietético na MS (variável independente), com uso do modelo estatístico a seguir:

$$Pf - MSI (g/kg) = (TPI \times PI) + IEPL$$

Onde Pf-MSI representa a concentração de P na digesta com base na matéria seca ingerida, PI representa a concentração de P na dieta com base na MS, TPI representa a indigestibilidade verdadeira de P e IEPL representa as médias estimadas de perdas de P

endógeno com base na MS. Nesta equação, TPI e EPL são a inclinação e a interceptação, respectivamente, da regressão linear simples de Pf-MSI em PI.

A indigestibilidade de P verdadeiro é uma medida indireta da ineficiência em que o P é extraído pelas aves. A digestibilidade ileal verdadeira de P foi calculada da seguinte forma:

$$CdivP = 1 - TPI$$

Onde, CdivP e TPI representam o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro e o coeficiente de indigestibilidade ileal verdadeiro de P, respectivamente.

2.6 Análises Estatísticas

Os dados de desempenho e digestibilidade das dietas experimentais foram submetidos à ANOVA, ao nível de significância de 5%, e quando significativos submetidos ao teste de SNK (Student-Newman-Keuls) com o uso do software SISVAR. Para a determinação do coeficiente pelo método de regressão os valores da concentração de P na digesta (variável dependente) foram submetidos à regressão contra as concentrações de P dietético na MS (variável independente), portanto o erro padrão para este coeficiente é baseado em 18 observações. A comparação dos coeficientes de digestibilidade foram realizados através das médias e intervalos de confiança.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição bromatológica da farinha de peixes utilizada está descrita na Tabela 3. A farinha de peixes apresentou valores dentro das características das farinhas de peixes descritas na literatura. A farinha de peixes utilizada no experimento apresentou valores elevados de matéria mineral, cálcio e fósforo quando comparado aos valores descritos na Tabela Brasileira para Aves e Suínos. As elevadas concentrações de Ca e P na farinha de peixe foi provavelmente o resultado da inclusão de mais ossos oriundos da indústria de filés de peixe, o que aumenta a concentração de cinzas na farinha de peixe.

Tabela 3. Composição bromatológica da farinha de peixes utilizada no ensaio e das farinhas de peixes descrita na TBAS.

Nutriente	Quantidade (%) ¹	TBAS ²	
		55% PB	64% PB
Matéria seca	92,32	91,70	92,1
Proteína bruta	53,92	54,60	63,8
Matéria mineral	29,11	21,90	19,4
Extrato etéreo	8,39	8,06	5,85
Fósforo	4,43	2,99	2,41
Cálcio	8,09	5,75	4,70
Ca:P	1,83	1,92	1,95
DGM ³ (µm)	247	-	-

¹Dados expressos na matéria natural.

²Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2017).

³DGM: diâmetro geométrico médio.

O fósforo analisado das dietas experimentais variou em 0,11 a 0,84 g/kg do valor calculado e os teores de cálcio analisados variaram de 2,35 a 11,01 g/kg quando comparados ao teor calculado. A interpretação das diferenças observadas existentes entre as concentrações de P e Ca analisadas e calculadas é difícil, pois os valores dietéticos calculados foram baseados na concentração de P analisada nas amostras de farinha de peixe, fosfato bicálcico e calcário. De acordo com Mutucumarana et al (2016), as diferenças observadas podem ser reflexo de erros analíticos inerentes e da dificuldade em obter amostras representativas devido ao tamanho de partícula da fração rica em Ca e P.

As aves não apresentaram mortalidade durante o período experimental de três dias, e os parâmetros de desempenho estão descritos na Tabela 4. As aves de todas as dietas experimentais perderam peso durante o período experimental. As aves que receberam a ração com a inclusão de 10% da farinha de peixes (FP 10) foram as que perderam a menor quantidade de peso ($P > 0,05$). Aves que receberam as dietas com 7% de farinha de peixes (FP7) e a dieta com farinha de peixes e fosfato bicálcico (FB+FP) apresentaram valores intermediários para perda de peso. Aves alimentadas com as dietas com 4% de farinha de peixes (FP4) e com fosfato bicálcico (FB) foram as que perderam mais peso. O consumo de ração não foi afetado pelas diferentes dietas experimentais.

A perda de peso observada era esperada uma vez que os níveis proteicos das dietas experimentais (0,35 a 5,70% de PB) estavam muito abaixo dos 23,31% que é a exigência nutricional descrita na TBAS (ROSTAGNO et al., 2017). Mutucumarana et al. (2015) relataram perda de peso das aves ao trabalharem com dietas semipurificadas para determinação do fósforo digestível de farinhas de carne e ossos. Uma das soluções propostas

para evitar a perda de peso das aves é incluir uma fonte de proteína rica em aminoácidos essenciais e baixa em fósforo como o albúmen desidratado (WPSA, 2013).

Tabela 4. Desempenho de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais de 19 a 22 dias de idade.

Dieta	Varição de peso (g/ave/dia)	Consumo (g/ave/dia)	Fósforo dieta (g/kg MS)	Fósforo excreta (g/kg MSi)
FP4	-15,16 ^b	68,00	2,084	0,5617 ^c
FP7	-11,23 ^{ab}	71,68	3,187	1,257 ^b
FP10	-4,45 ^a	76,93	5,260	2,906 ^a
FB	-19,01 ^b	67,98	4,528	2,600 ^a
FB+FP	-10,79 ^{ab}	79,02	5,031	2,657 ^a
SEM	1,98	2,57	-	0,15
P-valor	<0,01	0,17	-	<0,01
CV	36,05	8,55	-	19,25
Purificada	-19,09	69,96	0,0822	0,1287

^{a,b,c} Letras diferentes na mesma coluna representam diferença (P<0,05) pelo teste de SNK.

CV – coeficiente de variação

A excreção de fósforo em g por quilograma de matéria seca ingerida (g/kg MSi) aumentou com o aumento da concentração de farinha de peixes nas dietas FP4, FP7 e FP10, condição necessária para a determinação da digestibilidade através do método de regressão. As dietas FP10, FB e FB+FP não apresentaram diferenças na quantidade de fósforo excretado, em g por quilograma de matéria seca ingerida (g/kg MSi).

As perdas endógenas de fósforo foram determinadas em 128,7 mg de P/kg de MSi. Estes valores estão próximos aos relatados por Buzen (2009), que utilizando uma dieta semipurificada encontrou valores de 142,2 mg P/kg MSI. Valores de excreção endógenas com o uso de dietas semipurificadas foram relatados por Rutheford et al. (2002), em 272 mg/kg MSi, e por Mutucumarana et al. (2016), 354 mg/kg MSi. Fatores que podem causar essas variações na determinação das perdas endógenas são desconhecidos, mas a quantidade de fósforo na dieta purificada pode ser uma provável causa, uma vez que as dietas de Mutucumarana et al. (2016) que apresentaram a maior perda endógena de fósforo, possuíam o maior teor de fósforo na dieta 0,02%, enquanto que o teor de fósforo da dieta semipurificada deste experimento foi de apenas 0,008%. A dieta semipurificada descrita no trabalho de Bunzen (2009) continha 0,01% de fósforo. Com o uso da técnica de diluição de isótopo, Dias et al. (2019) determinaram as perdas endógenas nas excretas entre 240 e 420 mg de P/kg MSi.

Os coeficientes de digestibilidade aparente de fósforo das dietas experimentais encontram-se descritos na Tabela 5. A digestibilidade de fósforo das dietas variou entre 42,6 a 73,0 %. Estudos demonstram que há efeito da restrição de fósforo não-fítico na dieta sobre os níveis de expressão de mRNA de um dos transportadores de fósforo da mucosa intestinal de frangos de corte. Dietas com níveis de fósforo não-fítico relativamente mais baixos promovem expressão de mRNA de NaPi-IIb, resultando em uma maior eficiência da absorção intestinal de fósforo (HU et al., 2018). Neste trabalho a maior digestibilidade (0,7304) foi encontrada na dieta com o menor nível de fósforo não-fítico (0,19%).

Os dados das dietas FP4, FP7 e FP10 foram utilizados para determinar a digestibilidade de fósforo pelo método de regressão. A Figura 2 representa o efeito dos níveis dietéticos de fósforo (g/kg de MS) sobre a excreção de fósforo (g/kg de MSi). Os resultados indicam uma

alta relação entre ingestão (variável independente) e a excreção de fósforo (variável dependente) ($R^2 = 0,98$), que é um pré-requisito para a aplicação do método de regressão.

Tabela 5. Tabela. Digestibilidade ileal aparente de fósforo (DiAP) das dietas experimentais.

Dieta	DiAP
Farinha de peixes 4%	0,7304a
Farinha de peixes 7%	0,6054ab
Farinha de peixes 10%	0,4475c
Fosfato bicálcico	0,4259c
Fosfato bicálcico + farinha de peixes	0,4719cb
SEM	0,034
P-valor	<0,01
CV	15,35

^{a,b,c} Médias com letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste de SNK.

CV: coeficiente de variação;

SEM: erro padrão da média.

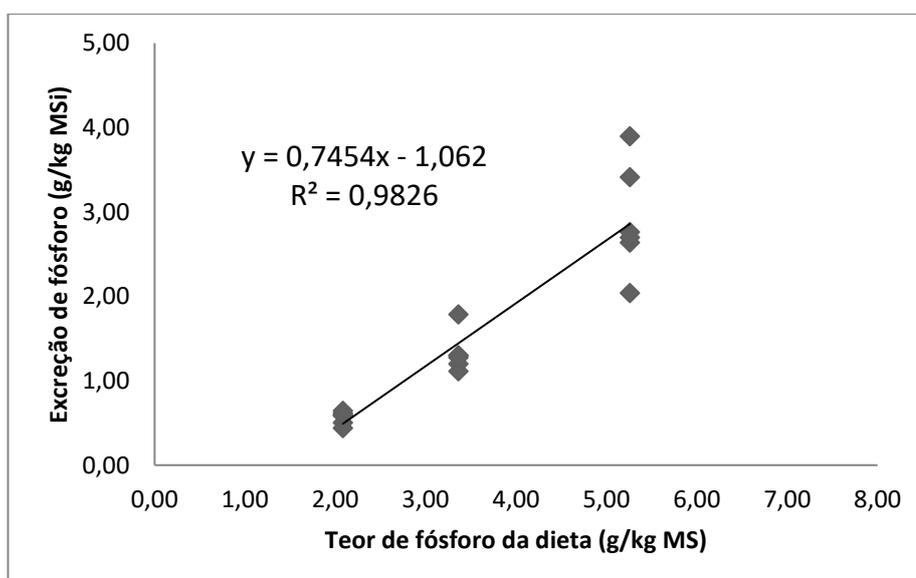


Figura 2. Regressão da excreção de fósforo (g/kg MSi) vs o teor de fósforo nas dietas (g/kg MS) FP4, FP7 e FP10

Na Tabela 6 encontram-se descritas a equação linear, as perdas endógenas e o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro de fósforo (CdviP) da farinha de peixes determinado pelo método de regressão.

O CdviP pelo método de regressão foi de 0,2546 e as perdas endógenas de -1062 mg/kg MSi. No método de regressão, o intercepto representa perdas endógenas, e neste estudo, perdas endógenas negativas de fósforo foram observadas. As perdas endógenas negativas de fósforo não são fisiologicamente possíveis, refletindo uma possível limitação do método de regressão. Perdas endógenas negativas foram relatadas em outros estudos usando o método de regressão (LIU et al., 2013; MUTUCUMARANA et al., 2015; ANWAR et al., 2018).

Tabela 6. Regressão Linear entre a excreção de fósforo (g/kg de Msi) vs o teor de fósforo de dietas (g/kg de MS) com farinha de peixes.

Equação de regressão ¹	SE do slope	SE intercepto	Perda endógena de P (g/kg MSi)	CdviP ²
$Y = 0,7454 - 1,062$	0,072	0,276	-1,062	0,2546

¹ O slope representa a indigestibilidade de fósforo e o intercepto representa as perdas endógenas.

² Calculado como 1-slope, este valor representa a média de 18 observações.

SE – Erro padrão dos componentes da equação de regressão

Os valores de CdviP da farinha de peixes determinados pelo método direto e de substituição estão descritos na Tabela 7. Os valores de CdviP da farinha de peixes determinados pelo método direto e de substituição foram, respectivamente, 0,455 e 0,517. Tais valores não diferiram estatisticamente ($P>0,05$), indicando que ambas as metodologias geraram valores iguais de digestibilidade.

Tabela 7. Digestibilidade ileal verdadeira do fósforo da farinha de peixes pelo método direto e método de substituição.

Método	CdviP ¹	SE
Direto	0,4549 ^a	0,051
Substituição	0,5168 ^a	0,039
P-valor	0,356	
CV (%)	22,87	
SEM	0,045	

^a Médias com letras iguais na mesma coluna representam diferença não significativa ($P>0,05$) pelo teste de SNK. CV – coeficiente de variação; SE – erro padrão; SEM – erro padrão da média

Os valores observados de CdviP determinados pelo método de regressão foram inferiores aos determinados pelo método de substituição (Figura 3). As perdas endógenas negativas determinadas neste estudo podem ser responsáveis, em parte, pela baixa digestibilidade verdadeira da farinha de peixes determinada com o método de regressão. A menor digestibilidade de ingredientes tem sido associada a perdas endógenas negativas (Mutucumarana et al., 2015; Anwar et al., 2018).

Um pré-requisito do método de regressão é que o coeficiente de digestibilidade aparente seja constante em todos os níveis de ingestão de fósforo. Esta pré-condição não foi satisfeita e, no presente estudo, o aumento das concentrações dietéticas de fósforo (dietas FP4, FP7 e FP10) reduziu o coeficiente de digestibilidade aparente da farinha de peixes, indicando que o método de regressão não é um método adequado para este estudo. Mutucumarana et al. (2015) avaliaram a digestibilidade de fósforo de três diferentes farinhas de carne e ossos, e em apenas uma das farinhas houve a estimativa de perdas endógenas negativa, que resultou em menor digestibilidade desta farinha quando comparada às demais.

Trabalhos que comparem metodologias na determinação da digestibilidade de fósforo são escassos na literatura. Mutucumarana et al. (2016) compararam a digestibilidade de farinhas de carne e ossos pelo método de regressão e pelo método direto, e relataram que houve interação entre as variáveis ingrediente e método. Portanto, duas farinhas apresentaram valores semelhantes nas diferentes metodologias enquanto outra não. Anwar et al. (2018) avaliaram a digestibilidade de cálcio do fosfato bicálcico, comparando as metodologias de regressão, direto e substituição, relatando que houve diferença entre as metodologias, sendo o

método direto o que gerou a maior digestibilidade, enquanto o método de regressão estimou baixa digestibilidade e perdas endógenas negativas.

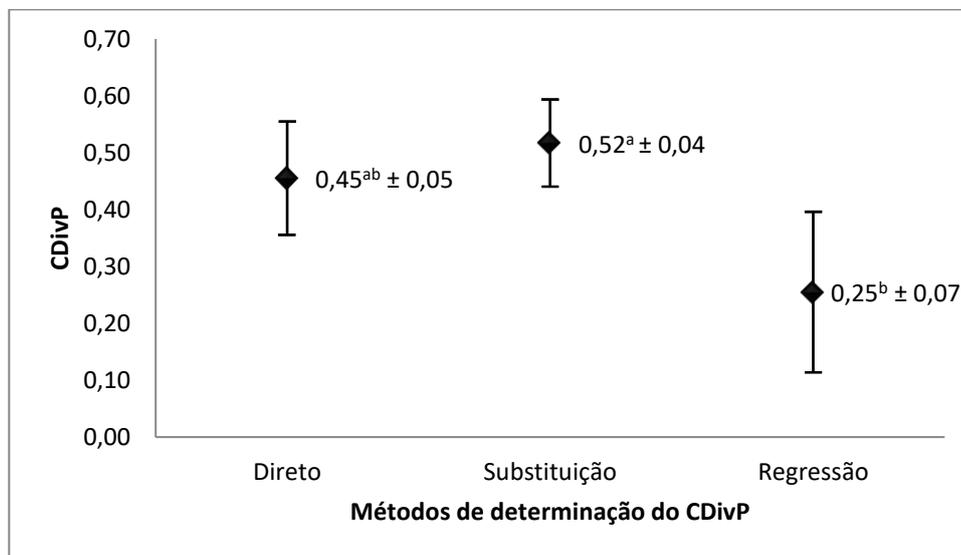


Figura 3. Comparação dos coeficientes de digestibilidade ileal verdadeira do fósforo (CDivP) da farinha de peixes determinado por diferentes metodologias

Trabalhos avaliando a digestibilidade de fósforo da farinha de peixes para frangos de corte não estão disponíveis na literatura ao conhecimento deste autor. Na TBAS (Rostagno et al., 2017) é reportado o coeficiente de 0,75, valor superior ao encontrado para a farinha de peixe deste estudo, em ambas as metodologias avaliadas. Em um estudo com suínos Gonzalez-Vega et al. (2015), determinaram a digestibilidade de trato total aparente em 54,6 % a 65,6 % em dietas baseadas em amido, enquanto que em dietas baseadas em milho estes valores foram de 76 a 79%, indicando que em dietas práticas os valores de digestibilidade podem ser mais elevados. Anwar et al. (2018) encontraram o coeficiente de digestibilidade de cálcio da farinha de peixes pelo método direto de 24%.

Como o método de regressão não se adequou a determinação da digestibilidade de P da farinha de peixes gerando valores de perdas endógenas negativas, ele não foi considerado para as determinações de digestibilidade de ingredientes dos próximos capítulos. O método direto e de substituição geraram valores que não diferiram estatisticamente entre si. Para as determinações seguintes o método direto foi escolhido devido à necessidade de um menor número de tratamentos, uma vez que não é necessário o fornecimento de uma dieta com apenas fosfato bicálcico como fonte de fósforo.

4 CONCLUSÕES

O coeficiente de digestibilidade de fósforo da farinha de peixes foi influenciado pela metodologia utilizada. Os valores de perdas endógenas foram de 128 mg P/kg MSI com a dieta purificada e -1062 mg P/kg MSI pelo método de regressão. O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro de fósforo da farinha de peixes foi de 0,456, 0,517 e 0,254 para o método direto, substituição e regressão, respectivamente. O método direto foi o mais indicado para a determinação da digestibilidade ileal de fósforo da farinha de peixes, devido a menor necessidade de animais, análises e recursos.

CAPÍTULO II

DIGESTIBILIDADE ILEAL VERDADEIRA DE FÓSFORO DE FARINHAS DE CARNE E OSSOS PELO MÉTODO DIRETO PARA FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Farinhas de carne e ossos são amplamente utilizadas na formulação de dietas avícolas, como fonte de proteínas, fósforo e cálcio. Para melhor utilizar o fósforo dos ingredientes conhecer a digestibilidade de fósforo dos ingredientes é de fundamental importância. Objetivou-se com este trabalho a determinação dos coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro do fósforo de diferentes farinhas de carne e ossos determinados pelo método direto para frangos de corte. Três farinhas de carne e ossos de lotes de fabricação diferentes foram adquiridas. Quatro dietas experimentais semi-purificadas foram formuladas, uma dieta a base de amido de milho e açúcar livre de cálcio e fósforo (dieta Livre), uma dieta para cada uma das três farinhas-teste, que substituíram o amido, na quantidade necessária para alcançar teores de fósforo dietéticos de 0,40% (FCOI, FCOII e FCOIII). A dieta Livre foi utilizada para determinar as perdas endógenas de fósforo, necessárias para a correção do valor aparente de digestibilidade do fósforo determinados com as dietas teste. Dióxido de titânio foi adicionado em 5 g/kg em todas as dietas como indicador indigestível. 252 frangos foram alojados em gaiolas metabólicas, e as dietas foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, em 4 tratamentos e 9 repetições de 7 aves cada. As aves receberam a ração experimental por 3 dias, dos 19 aos 22 dias de idade. No 22º dia de idade as aves foram eutanasiadas para a coleta do conteúdo ileal. Digestas e dietas foram analisadas para titânio, matéria seca e fósforo. A digestibilidade aparente de fósforo das dietas experimentais foi calculada pelo método do indicador. No método direto, o ingrediente teste é a única fonte de fósforo da dieta, portanto assume-se que a digestibilidade da dieta é a digestibilidade do ingrediente teste. As perdas endógenas com o uso da dieta semipurificada foram determinadas em 94,9 mg/kg de MSi. Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente de fósforo para as farinhas FCOI, FCOII e FCOIII foram 0,6410, 0,4869 e 0,6779, respectivamente. O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do fósforo para as farinhas FCOI, FCOII e FCOIII, foram 0,6495 0,4928 e 0,6858. Houve diferença significativa entre a digestibilidade das farinhas. FCOI e FCOIII tiveram digestibilidade similares, que foram superiores a digestibilidade de FCOII. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que a disponibilidade de fósforo da farinha de carne e ossos para aves é bem inferior aos descritos nas tabelas de composição nutricional.

Palavras-chave: Dieta purificada. Fósforo digestível. Perdas endógenas.

ABSTRACT

Meat and bone meal are widely used in the formulation of poultry diets as a source of protein, phosphorus and calcium. To better use the phosphorus of the ingredients, knowing the phosphorus digestibility of the ingredients is crucial. The objective with this work was to evaluate the true ileal digestibility phosphorus coefficients of the three different meat and bone meal by the direct method for broilers. Meat and bone meal (MBM) of different batches were purchased. Four semi-purified experimental diets were formulated. A diet based on corn starch and sugar, Livre of calcium and phosphorus (Livre diet) and one diet for each of the three test MBM, which replaced the starch, in the amount necessary to achieve 0,40% of dietary phosphorus levels (FCO1, FCO2 and FCO3). The Livre diet was used to determine the endogenous phosphorus losses, step required to correct the apparent phosphorus digestibility values determined with the test ingredient diets to true values of digestibility. Titanium dioxide was added in 5 g/kg in all diets as indigestible marker. 252 chickens were housed in metabolic cages, and the diets were distributed in a completely randomized design, in 4 treatments and 9 replicates of 7 birds each. The birds received the experimental diets for 3 days, from 19 to 22 days post-hatch. With 22days old the birds were euthanized for the collection of ileal content. Excreta and diets were analyzed for titanium, dry matter, calcium and phosphorus. The apparent phosphorus digestibility of the experimental diets was calculated by the indicator method. In the direct method, the test ingredient is the only source of phosphorus in the diet, so it is assumed that the digestibility of the diet is the digestibility of the ingredient. The endogenous losses with the semi-purified diet were determined to be 94.9 mg / kg MSi. The apparent ileal phosphorus digestibility coefficients for the MBM1, MBM2 and MBM3 were 0.6410, 0.4869 and 0.6777, respectively. The true ileal phosphorus digestibility coefficient for the MBM1, MBM2 and MBM3 were 0.6495, 0.4928 and 0.6858. There was a significant difference between the digestibility of the MBM, MBM1 and MBM3 had similar digestibility, which were higher than MBM2 digestibility. The results obtained in this study suggest that the availability of phosphorus in poultry meat and bone meal is much lower than that described in the nutritional composition tables.

Keywords: Digestible phosphorus. Endogenous losses. Purified Diet.

1 INTRODUÇÃO

Para cada tonelada de carne preparada para consumo humano, cerca de 300 kg são descartados como não comestíveis (Lesson e Summers, 1997). Dentre os subprodutos mais relevantes podem-se destacar as farinhas de carne e ossos, as quais correspondem a 61,7% da produção de farinhas de origem animal brasileira, e desse total produzido 80% foi destinado à alimentação animal (ABRA, 2016).

A farinha de carne e ossos é produzida a partir de ossos e tecidos, após a desossa completa da carcaça de ruminantes e suínos, sendo moídos, cozidos, prensados para extração de gordura e novamente moídos. Possui alto valor protéico, variando de 35 a 60 % de proteína bruta (ROSTAGNO et al. 2017) e elevados teores de cálcio e fósforo, este deve ser no mínimo 4%, e o teor de cálcio não deve ultrapassar 2,2 vezes o teor de fósforo.

Fontes inorgânicas de fósforo são finitas, e a escalada de preço deste ingrediente, além da questão ambiental do fósforo como potencial poluidor ambiental, tem aumentado o interesse por fontes alternativas de fósforo a serem utilizadas na alimentação animal (DEVEREUX et al., 1994; SHARPLEY et al., 1994; NESET et al., 2012). As dietas avícolas são formuladas em valores de fósforo não-fítico, que não consideram a capacidade absorptiva de uma determinada fonte de fósforo pela ave. Nutricionistas têm buscado formas de atender de forma mais precisa as exigências de fósforo dos animais, e conhecer a disponibilidade do fósforo dos ingredientes para as aves é fundamental para a eficiência de utilização deste mineral. O grupo de trabalho em nutrição da WPSA (2013) indicou a digestibilidade ileal de fósforo como o método ideal para determinar a disponibilidade de fósforo dos ingredientes para aves.

Diversos trabalhos têm sido conduzidos para determinação da digestibilidade verdadeira de fósforo para aves (DILGER e ADEOLA, 2006; WITZIG et al., 2018; VERARDI et al. 2019), inclusive de farinhas de carne e ossos pelo método de regressão e direto (MUTUCUMARANA et al., 2015; 2016). A utilização do método de regressão necessita de ao menos três dietas para formulação com níveis crescentes de inclusão do ingrediente teste, além de algumas vezes poder determinar valores de perdas endógenas negativas, o que é biologicamente impossível.

O método direto necessita da formulação de apenas uma dieta para cada ingrediente teste, além de uma dieta livre de fósforo para determinação das perdas endógenas, portanto mais econômico e menos laborioso. No estudo conduzido e descrito no capítulo anterior o método direto apresentou resultados mais satisfatórios que o método de regressão, porém a equivalência entre os métodos pode ser dependente do tipo de ingrediente (MUTUCUMARANA et al, 2016).

A proposta com este trabalho foi determinar os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro de fósforo de três diferentes farinhas de carne e ossos para frangos de corte através do método direto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal do Brasil, e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

2.1 Aves e manejo inicial

Foram adquiridos de um fornecedor local 400 pintos de corte de 1 dia de idade, machos, da linhagem Cobb 500. As aves foram alojadas em galpão de alvenaria, sobre cama de maravalha, aquecimento por campânula a gás, bebedouros do tipo infantil e comedouro tipo bandeja. A ração fornecida até o início do período experimental foi formulada para atender as exigências nutricionais de acordo com a Tabela Brasileira de Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2017), descrita no Capítulo I, Seção 2.1.

Aos 14 dias de idade as aves foram pesadas, sendo que 252 foram selecionadas pelo peso médio e distribuídas aleatoriamente nas gaiolas metabólicas para compor as unidades experimentais. Cada gaiola experimental foi equipada com um comedouro tipo calha de 90 cm e um bebedouro tipo copo. As gaiolas têm dimensões de 90 cm de comprimento, 45 cm de largura e 40 cm de altura. As gaiolas são dispostas em baterias metálicas de 3 andares, cada bateria com 12 gaiolas

Aos 19 dias de idade as aves foram pesadas para determinação do peso inicial, e iniciou-se o fornecimento das dietas experimentais. Ração e água foram servidos à vontade. No 22º dia de idade as aves foram novamente pesadas, e o consumo de ração computado para cálculo das variáveis ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar.

Durante o período experimental o programa de luz utilizado foi o de luz natural. O local do experimento contava com 3 ventiladores para circulação de ar. A temperatura durante o período experimental foi registrada, com máxima de 28 °C e mínima de 23°C.

2.2 Dietas e Delineamento Experimental

As farinhas de carne e ossos foram obtidas de um fornecedor local (Grande Rio Reciclagem Ambiental, Nova Iguaçu, RJ, Brasil). Foram adquiridas três farinhas de lotes de fabricação diferentes, denominadas FCOI, FCOII e FCOIII, a fim de obter-se variabilidade na composição dos ingredientes. As farinhas foram analisadas para determinação da composição bromatológica. Para a condução deste estudo 4 dietas foram formuladas (Tabela 8). A dieta Livre, uma dieta purificada livre de fósforo e cálcio, foi formulada para a determinação das perdas endógenas. Os resultados das análises dos teores de fósforo, de cada farinha teste, (Tabela 13) foram utilizados para a formulação das dietas FCOI, FCOII e FCOIII. As dietas foram formuladas para conter o teor de fósforo não-fítico próximo a exigência das aves (0,40%), e continham respectivamente 5,81% da farinha de carne e ossos I, 5,61% da farinha de carne e ossos II e 5,32% da farinha de carne e ossos III.

Dióxido de titânio foi adicionado em todas as dietas ao nível de 0,5% como indicador indigestível, para o cálculo do fator de indigestibilidade.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 4 tratamentos (dietas experimentais) e 9 repetições de 7 aves cada, totalizando 252 aves e 36 unidades experimentais.

Tabela 8. Dietas experimentais utilizadas na determinação da digestibilidade ileal de fósforo das farinhas de carne e ossos.

Ingredientes	Dietas experimentais			
	Livre	FCOI	FCOII	FCOIII
Amido	60,87	54,90	55,10	55,39
Açúcar	30,00	30,00	30,00	30,00
Farinha de carne e ossos I	-	5,81	-	-
Farinha de carne e ossos II	-	-	5,61	-
Farinha de carne e ossos III	-	-	-	5,32
Fibra dietética*	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de soja	2,00	2,00	2,00	2,00
Carbonato de potássio	0,91	1,00	1,00	1,00
Bicarbonato de sódio	0,30	0,29	0,29	0,29
Sal comum	0,17	0,25	0,25	1,02
TiO ₂	0,500	0,500	0,500	0,500
Suplemento vitamínico ¹	0,100	0,100	0,100	0,100
Suplemento mineral ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Cloreto de colina	0,054	0,054	0,054	0,054
Valores calculados				
Proteína bruta	0,350	2,41	2,37	2,15
Fósforo nf	-	0,40	0,40	0,40
Cálcio	-	0,86	0,86	0,86
Ca:P	-	2,15	2,15	2,15
Valores analisados				
Fósforo	0,013	0,439	0,418	0,406
Cálcio	0,106	1,53	1,26	1,47
Ca:P	8,15	3,49	3,01	3,62

¹ Composição por kg de produto: Ferro (min) 60 g/kg; cobre (min) 13 g/kg; manganês (min) 120 g/kg; zinco (min) 100 g/kg; iodo (min) 2.500 mg/kg; selênio (min) 500 mg/kg.

² Composição por kg de produto: Vitamina A (min) 7.500.000 UI/kg; vitamina D3 (min) 2.500.000 UI/kg; vitamina E (min) 1.200 mg/kg; vitamina K3 (min) 1.200 mg/kg; tiamina (min) 1.500 mg/kg; riboflavina (min) 5.500 mg/kg; piridoxina (min) 2000 mg/kg; vitamina B12 (min) 12.000 mcg/kg; niacina 35g/kg; pantetonato de cálcio (min) 10 g/kg; biotina (min) 67 mg/kg

* Opticell® C5 eubiotic fibre (BIOSEN, Salto, SP, Brazil). Composição: 65% fibra bruta.

2.3 Coleta e Processamento de Amostra

Aos 21 dias de idade as aves foram eutanasiadas por asfixia em câmara de CO₂ para coleta do conteúdo ileal. Duas horas antes do início do abate as aves foram estimuladas a consumir ração, através de estímulos mecânicos e visuais, fornecendo ração nova e também movimentando a ração presente no comedouro.

Após o asfixiamento a cavidade abdominal das aves foi exposta para coleta do intestino. Após a coleta do intestino foram identificados o divertículo de Meckel e a junção ileocecólica, sendo estas estruturas que definem respectivamente o início e o fim do íleo das aves. O íleo foi então exposto, e o conteúdo da metade distal (a metade próxima à junção ileocecólica) foi coletado por leve pressão digital, e depositado em vasilhame plástico identificado por gaiola experimental. Portanto, o conteúdo ileal de sete aves compôs a amostra de cada unidade experimental.

Ao final do abate as amostras foram levadas à estufa ventilada a 55° C para a realização da pré-secagem. Após foi triturada mecanicamente com o uso de pistilo e graal em cerâmica, até que o conteúdo pudesse passar por uma peneira de 1mm de abertura. O material moído foi guardado para posteriores análises de matéria seca, matéria mineral, fósforo, cálcio e titânio.

2.4 Análises Químicas

As análises químicas foram realizadas no laboratório de análises bromatológicas do Instituto de Zootecnia e no laboratório de cromatografia do Instituto de Agronomia da UFRRJ. O detalhamento das análises realizadas está descrito no Capítulo I, Seção 2.4, intitulada Análises Laboratoriais.

2.5 Cálculos

No método direto, considera-se que a digestibilidade da dieta é a digestibilidade do ingrediente, pois este é a única fonte de fósforo na dieta. Como a digestibilidade encontrada é aparente, se faz necessário realizar as correções e os cálculos de perdas endógenas.

A relação entre a concentração do indicador, tanto na dieta quanto na digesta, são utilizadas para calcular o fator de indigestibilidade, de acordo com a seguinte equação:

$$FI = \left[\frac{TiI}{Tif} \right]$$

Onde, FI é o fator de indigestibilidade ileal aparente, TiI é a concentração de indicador na dieta, Tif é a concentração de indicador na digesta ileal.

O coeficiente de digestibilidade ileal aparente do P (CdiaP) da dieta, é calculado de acordo com a seguinte equação:

$$CdiaP = 1 - \left[FI \times \left(\frac{Pf}{Pi} \right) \right]$$

Onde, CdiaP é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente de P; FI é o fator de indigestibilidade da dieta FCOI, FCOII ou FCOIII; Pf é a concentração de P na digesta ileal de FCOI, FCOII ou FCOIII e Pi é a concentração de P na dieta FCOI, FCOII ou FCOIII.

Os cálculos para a determinação das perdas endógenas, em grama perdida por quilograma de matéria seca ingerida, foram realizados de acordo com os dados obtidos a partir da dieta livre de fósforo, aplicando-se a seguinte equação:

$$PEP = P_{digesta} \times FI$$

Onde, PEP representa as perdas endógenas em gP/kgMS ingerida; P_{digesta} é o conteúdo de fósforo da digesta em g/kgMS das aves que receberam a dieta Livre; FI é o fator de indigestibilidade da dieta Livre.

O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do P (CdivP) do ingrediente teste foi calculado de acordo com a seguinte fórmula, proposta por Fan et al. (2008):

$$CdivP = CdiaP + \left(\frac{PEP}{P_{dieta}} \right)$$

$$CdivP = CdiaP + (PEP/P_{dieta})$$

Onde, CdivP é o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira do P; CdiaP é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente do P da dieta FCOI, FCOII ou FCOIII; PEP representa as perdas endógenas em gP/kgMS ingerida; e P_{dieta} é o conteúdo de fósforo da dieta FCOI, FCOII ou FCOIII em g/kgMS;

2.6 Análise Estatística

Os dados de desempenho e digestibilidade aparente e verdadeira das dietas experimentais foram submetidos à ANOVA, ao nível de significância de 5%, e quando significativos submetidos ao teste de SNK (Student-Newman-Keuls) com o uso do software SISVAR.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado da análise centesimal das farinhas de carne e ossos está descrito na Tabela 9. A proteína bruta das farinhas utilizadas neste ensaio variou de 40,45 a 42,20%. De acordo com a Tabela Brasileira de Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2017) estes valores podem variar de 35 a 60%. A redução nos níveis de proteína coincide com o aumento do teor de cinzas das farinhas, o que mostra a variabilidade na fabricação deste ingrediente, indicando variação na proporção de tecidos moles e ossos utilizados no processamento. Farinhas americanas foram avaliadas, com teores de proteína bruta variando de 44 a 62% e cinzas variando de 20 a 40% (GARCIA et al. 2006). As cinzas das farinhas foram de 39,91 a 44,33%, indicando grande concentração de tecido ósseo.

Tabela 9. Composição centesimal das farinhas de carne e ossos utilizadas no ensaio¹

Nutriente	FCOI	FCOII	FCOIII	TBAS ³
Matéria seca	92,16	95,37	95,49	93,5
Proteína bruta	41,50	42,20	40,45	42,6
Matéria mineral	39,91	42,51	44,33	36,1
Extrato etéreo	9,56	9,50	9,42	12,5
Fósforo	6,98	7,22	7,62	6,20
Cálcio	11,15	13,19	12,81	11,30
Ca:P	1,60	1,83	1,68	1,82
DGM ² (µm)	561	603	579	-

¹Dados expressos na matéria natural.

²DGM: diâmetro geométrico médio

³Tabelas brasileiras para aves e suínos (ROSTAGNO et al., 2017).

Os teores de fósforos das farinhas variaram de 6,98 a 7,62%, e os teores de cálcio de 11,15 a 12,81 %. De acordo com o Compendio de Nutrição Animal (SINDIRAÇÕES, 2013) as farinhas de carne e ossos não devem conter sangue, cascos, chifres, pêlos, conteúdo estomacal a não ser os obtidos involuntariamente dentro dos princípios de boas práticas de fabricação. Não deve conter matérias estranhas. Deve ter no mínimo 4 % de fósforo e o cálcio não deve exceder a 2,2 vezes o nível de P. Portanto, as farinhas se enquadram nas características desejadas, atendendo os teores de cálcio e fósforo recomendados. A composição centesimal das farinhas utilizadas neste estudo ficou próxima da variabilidade descrita na literatura nacional (ROSTAGNO et al., 2017) e internacional (GARCIA et al., 2006; SULABO e STEIN, 2013; MUTUCUMARANA et al., 2015; 2016).

Os dados de desempenho das aves alimentadas com as dietas experimentais dos 18 a 21 dias de idade encontram-se na Tabela 10. Todos os animais que receberam as dietas experimentais com farinha de carne e ossos perderam peso, mas sem diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos. O consumo de ração ($P>0,05$) também não foi afetado pelo fornecimento das diferentes farinhas de carne e ossos. Devido ao alto teor de fósforo das FCO a inclusão do ingrediente teste foi próxima de 5,5%, e como o ingrediente teste era a única fonte de proteína nas dietas, o desempenho dos animais foi prejudicado. Os teores de PB das dietas experimentais ficaram muito aquém das exigências descritas na TBAS (23,31% de PB) (ROSTAGNO et al., 2017). Outros autores relataram perda de peso das aves ao trabalharem com dietas semipurificadas para determinação do fósforo digestível de farinhas de carne e ossos (MUTUCUMARANA et al., 2015). Uma das soluções propostas para evitar a perda de

peso das aves é incluir uma fonte de proteína rica em aminoácidos essenciais e baixa em fósforo como o albúmen desidratado ou a caseína (WPSA, 2013).

Tabela 10. Desempenho de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais de farinhas de carne e ossos de 19 a 22 dias de idade.

Dieta	Variação de peso (g/ave/dia)	Consumo (g/ave/dia)	Fósforo dieta (g/kg MS)	Fósforo excreta (g/kg MSi)
FCOI	-12,77	53,34	4,39	1,576
FCOII	-13,67	54,28	4,18	2,145
FCOIII	-13,73	54,97	4,06	1,308
SEM	0,589	1,67	-	0,23
P-valor	0,449	0,789	-	0,071
CV	13,18	9,26	-	39,23
Purificada	-19,09	53,27	0,13	0,0949

CV: coeficiente de variação;
SEM: erro padrão da média.

As perdas endógenas de fósforo foram determinadas em 94,9 mg de fósforo por quilograma de matéria seca ingerida. No capítulo anterior as perdas endógenas foram determinadas em 128mg/kg de MSi. As dietas usadas em ambos os experimentos foram bem similares em composição, o que resultou em perdas endógenas próximas ao do presente estudo. Valores de excreção endógenas com o uso de dietas semipurificadas foram relatados por Rutheford et al. (2002), 272 mg/kg MSi, e por Mutucumarana et al. (2016), 354 mg/kg MSi. Os fatores que podem causar essas variações na determinação das perdas endógenas são desconhecidos. Com o uso da técnica de diluição de isótopo, Dias et al. (2019) determinaram as perdas endógenas nas excretas entre 240 e 420 mg de P/kg MSi.

Os resultados referentes aos coeficientes de digestibilidade ileal aparente (CdiaP) e verdadeira (CdviP) de fósforo das diferentes farinhas de carne e ossos encontram-se descritas na Tabela 11.

Tabela 11. Coeficiente de digestibilidade ileal aparente (CdiaP) e verdadeiro (CdviP) de fósforo das farinhas de carne e ossos.

Ingrediente	CdiaP	CdviP
FCOI	0,6410 ^a	0,6495 ^a
FCOII	0,4869 ^b	0,4928 ^b
FCOIII	0,6779 ^a	0,6858 ^a
SEM	0,049	0,049
P-valor	0,025	0,025
CV	24,41	24,31

^{a,b,c} Médias com letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa (P<0,05) pelo teste de SNK.

CV: coeficiente de variação;
SEM: erro padrão da média.

As farinhas FCOI e FCOIII apresentaram CdiaP similares e maior digestibilidade que a FCOII. Os CdiaP foram 0,6410, 0,4869 e 0,6779, para as FCOI, FCOII e FCOIII, respectivamente. As farinhas FCOII e FCOIII também apresentaram CdviP similares e maior

digestibilidade que a FCOII. Os C_dviP foram 0,6495, 0,4928 e 0,6858, para as FCOI, FCOII e FCOIII, respectivamente.

As diferenças encontradas entre as farinhas avaliadas neste estudo são difíceis de serem justificadas. Os teores de fósforo das farinhas são próximos, sendo que FCOII que apresentou o teor de fósforo intermediário (7,22) foi a que apresentou a menor digestibilidade. Segundo Sulabo e Stein (2013), quanto maior o nível de fósforo nas farinhas menor a digestibilidade destas para suínos. Outra característica relatada na literatura como possível influenciadora do aproveitamento de fósforo das farinhas é o tamanho de partículas da mesma (Burnell et al. 1989). Porém, Sell e Jeffrey (1996) relatam que não houve diferença na biodisponibilidade de fósforo de farinhas de carne e ossos de diferentes granulometrias para aves. A granulometria também não influenciou a biodisponibilidade de fósforo de farinhas de carne e ossos para suínos (Traylor et al., 2005).

Uma das críticas possíveis ao presente trabalho seria que a deficiência proteica das dietas seria capaz de influenciar a determinação da digestibilidade de fósforo. Os resultados encontrados neste estudo foram próximos aos relatados por Mutucumarana et al. (2016), que também utilizaram o método direto para a determinação do C_dviP de quatro farinhas de carne e ossos, encontrando valores de 0,623, 0,617, 0,615 e 0,444, com o uso de albúmen desidratado como fonte de proteína nas dietas experimentais.

A digestibilidade de fósforo de trato total do farelo de soja não foi influenciada pela adição de caseína em dietas semipurificadas para frangos de corte (LIU et al., 2014) e suínos (LIU e ADEOLA, 2016), porém os níveis de inclusão do farelo de soja foram altos, devido ao seu baixo teor de fósforo, garantindo valores de proteína na dieta acima de 16%. Já na determinação da digestibilidade ileal de fósforo do fosfato monocálcico com suínos, dietas com baixo teor de proteína prejudicaram a digestibilidade de P, que foi maior em dietas com níveis mais altos de proteína (XUE et al, 2017). Trabalhos que comparem a influência da proteína na determinação da digestibilidade de fósforo para frangos de corte são necessário para elucidar essa questão.

Trabalhos que avaliaram a biodisponibilidade de fósforo relataram alta biodisponibilidade de farinhas de origem animal (WALDROUP e ADAMS, 1994; SELL e JEFFREY, 1996). Porém, dados deste e de outros experimentos (MUTUCUMARANA et al, 2015; 2016) contrapõe a presunção de que a digestibilidade de fósforo de farinhas de origem animal são altas para aves por não haver presença de ácido fítico.

4 CONCLUSÃO

Os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro de fósforo diferiram entre as farinhas de carne e ossos avaliadas, sendo de 49,28%, 64,95% e 68,58%. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que a disponibilidade de fósforo da farinha de carne e ossos para aves é bem inferior aos descritos nas tabelas de composição nutricional.

CAPÍTULO III

DIGESTIBILIDADE ILEAL VERDADEIRA DE FÓSFORO DE FARINHAS DE VÍSCERAS DE AVES PELO MÉTODO DIRETO PARA FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Farinha de vísceras é o principal subproduto obtido dos abatedouros de aves. É um ingrediente com alto teor de proteína e alta digestibilidade dos aminoácidos. Os teores de fósforo são relativamente altos comparados à ingredientes de origem vegetal. Objetivou-se com este trabalho a determinação dos coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro do fósforo de diferentes farinhas de vísceras de aves determinados pelo método direto para frangos de corte. Três farinhas de vísceras de lotes de fabricação diferentes foram adquiridas. Três dietas experimentais semi-purificadas foram formuladas, sendo uma dieta para cada uma das três farinhas teste, com inclusão necessária para alcançar teores de fósforo dietéticos de 0,40% (FVI, FVII e FVIII). O valor de perdas endógenas do capítulo anterior (Capítulo II), 94,9 mg/kg de MSi, foi utilizado para a correção dos valores de digestibilidade aparente. Dióxido de titânio foi adicionado em 5 g/kg em todas as dietas como indicador indigestível. 189 frangos foram alojados em gaiolas metabólicas, e as dietas foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, em 3 tratamentos e 9 repetições de 7 aves cada. As aves receberam a ração experimental por 3 dias, dos 19 aos 22 dias de idade. No 22º dia de idade as aves foram eutanasiadas para a coleta do conteúdo ileal. Digestas e dietas foram analisadas para titânio, matéria seca, e fósforo. A digestibilidade aparente de fósforo das dietas experimentais foi calculada pelo método do indicador. No método direto, o ingrediente teste é a única fonte de fósforo da dieta, portanto assume-se que a digestibilidade da dieta é a digestibilidade do ingrediente teste. Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente de fósforo para as farinhas FVI, FVII e FVIII foram 0,9105, 0,9094 e 0,8919, respectivamente. O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do fósforo para as farinhas FVI, FVII e FVIII, foram 0,9599, 0,9606 e 0,9339. Não houve diferença significativa entre a digestibilidade das farinhas de vísceras de aves avaliadas. As farinhas de vísceras de aves apresentaram digestibilidade de fósforo elevada quando comparada às outras fontes de origem animal descritas nas tabelas de composição de ingredientes.

Palavras-chave: Fósforo digestível. Perdas endógenas. Dieta purificada.

ABSTRACT

Poultry by-product meal (PBM) is the main by-product obtained from poultry slaughterers. It is an ingredient with high protein content and high digestibility of amino acids. Phosphorus levels are relatively high compared to ingredients of plant origin. The aim of this work was to determine the true phosphorus ileal digestibility coefficients of different PBM determined by the direct method for broilers. Three PBM from different manufacturing batches were obtained. Three semi-purified experimental diets were formulated, with a diet for each of the three test PBM, with inclusion necessary to reach dietary phosphorus levels of 0.40% (PBM1, PBM2 and PBM3). The value of endogenous losses from the previous chapter (Chapter II), 94.9 mg / kg MSi, was used to correct the apparent digestibility values. Titanium dioxide was added in 5g / kg in all diets as indigestible marker. 189 chickens were housed in metabolic cages, and diets were distributed in a completely randomized design, in 3 treatments and 9 replicates of 7 birds each. The birds received the experimental diets for 3 days, from 18 to 21 days old. At the 21st day the birds were euthanized for the collection of ileal contents. Digests and diets were analyzed for titanium, dry matter, and phosphorus. The apparent phosphorus digestibility of the experimental diets was calculated by the marker method. In the direct method, the test ingredient is the only source of phosphorus in the diet, so it is assumed that the digestibility of the diet is the digestibility of the test ingredient. The phosphorus apparent ileal digestibility coefficients of PBM1, PBM2 and PBM3 were 0.9105, 0.9094 and 0.8919, respectively. The true ileal digestibility coefficient of phosphorus of PBM1, PBM2 and PBM3 was 0.9599, 0.9606 and 0.9339. Poultry meals showed high phosphorus digestibility when compared to the other animal sources described in the ingredient composition tables.

Keywords: Digestible phosphorus. Endogenous losses. Purified Diet.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil foi responsável pela produção de cerca de 13 milhões de toneladas de carne de frango em 2017 (ABPA, 2018). O total de partes não comercializadas e descartadas para consumo humano são de 27%, sendo 16% de vísceras, 9% de penas e 3% de sangue (ABRA, 2016). O aproveitamento desses resíduos tem grande impacto na sustentabilidade da cadeia produtiva, gerando alimentos de alta qualidade para a indústria de rações animal. De acordo com Silva et al. (2011), o rendimento de processamento da farinha de vísceras é de 3,35kg pra cada 100kg de frango vivo processado. No ano de 2014 foram processadas 623 mil ton de farinhas de vísceras, correspondendo a 18,3% da produção total de farinhas de origem animal (ABRA, 2016).

A farinha de vísceras de aves é o produto resultante da cocção, prensagem e moagem de vísceras de aves, sendo permitida a inclusão de cabeças e pés. Não deve conter penas, exceto aquelas que podem ocorrer não intencionalmente, nem resíduos de incubatório e de outras matérias estranhas à sua composição (SILVA et al., 2011). Possui alto valor proteico, variando de 49 a 63 % de proteína bruta (DOZIER III et al, 2003) com alta digestibilidade e teores de cálcio e fósforo, variando de 3,10 a 6,50% e 1,50 a 3,20%, respectivamente.

Fontes inorgânicas de fósforo são finitas, e a escalada de preço deste ingrediente, além da questão ambiental do fósforo como potencial poluidor ambiental, tem aumentado o interesse por fontes alternativas de fósforo a serem utilizadas na alimentação animal (DEVEREUX et al., 1994; SHARPLEY et al., 1994; NESET et al., 2012). As dietas avícolas são formuladas em valores de fósforo não-fítico (NRC, 1994; ROSTAGNO et al., 2017), que não consideram a capacidade absorptiva de uma determinada fonte de fósforo pela ave. Os nutricionistas têm buscado formas de atender de forma mais precisa as exigências de fósforo dos animais, e o conhecimento da disponibilidade do fósforo dos ingredientes para as aves é fundamental para a eficiência de utilização deste mineral. O grupo de trabalho em nutrição da WPSA (2013) indicou a digestibilidade ileal de fósforo como o método ideal para determinar a disponibilidade de fósforo dos ingredientes para aves.

Diversos trabalhos têm sido conduzidos para determinação da digestibilidade verdadeira de fósforo para aves (DILGER E ADEOLA, 2006; WITZIG et al., 2018; VERARDI et al. 2019), inclusive de farinhas de origem animal (MUTUCUMARANA et al., 2015; 2016). A digestibilidade verdadeira de fósforo de farinha de vísceras foi determinada entre 64 e 66% (ZAREI et al., 2014). A determinação dos valores de digestibilidade se faz necessário devido à escassez de dados na literatura.

No estudo conduzido e descrito no Capítulo I o método direto apresentou resultados mais satisfatórios que o método de regressão, porém a equivalência entre os métodos pode ser dependente do ingrediente (MUTUCUMARANA et al., 2016). O método direto necessita da formulação de apenas uma dieta para cada ingrediente teste, além de uma dieta livre de fósforo para determinação das perdas endógenas, portanto necessita de um menor número de aves, menor quantidade de ingredientes e um menor número de análises químicas.

O objetivo com este trabalho foi determinar os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro de fósforo de três diferentes farinhas de vísceras de aves para frangos de corte através do método direto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal do Brasil, e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, sob o número de protocolo 23083.008228/2018-16.

2.1 Aves e manejo inicial

Foram adquiridos de um fornecedor local 300 pintos de corte de 1 dia de idade, machos, da linhagem Cobb 500. As aves foram alojadas em galpão de alvenaria, sobre cama de maravalha, aquecimento por campânula a gás, bebedouros do tipo infantil e comedouro tipo bandeja. A ração fornecida até o início do período experimental foi formulada para atender as exigências nutricionais de acordo com a Tabela Brasileira de Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2017), descrita no Capítulo I, Seção 2.1.

Aos 14 dias de idade as aves foram pesadas, 189 foram selecionadas para peso médio equivalente e distribuídas aleatoriamente nas gaiolas metabólicas para compor as unidades experimentais. Cada gaiola experimental foi equipada com um comedouro tipo calha de 90 cm e um bebedouro tipo copo. As gaiolas têm dimensões de 90 cm de comprimento, 45 cm de largura e 40 cm de altura. As gaiolas são dispostas em baterias metálicas de 3 andares, cada bateria com 12 gaiolas.

Aos 19 dias de idade as aves foram pesadas para determinação do peso inicial da aplicação dos tratamentos, quando se iniciou o fornecimento das dietas experimentais. Ração e água foram servidos à vontade. No 22º dia de idade as aves foram novamente pesadas, e o consumo de ração computado para cálculo das variáveis ganho de peso e consumo de ração.

Durante o período experimental o programa de luz utilizado foi o de luz natural. O local do experimento contava com 3 ventiladores para circulação de ar. A temperatura durante o período experimental foi registrada, com máxima de 26°C e mínima de 22°C.

2.2 Dietas e Delineamento Experimental

As farinhas de vísceras de aves foram obtidas de um fornecedor local (Creaves, São José do Vale do Rio Preto, RJ, Brasil). Foram adquiridas três farinhas provindas de lotes diferentes de fabricação, denominadas FVI, FVII e FVIII, a fim de obter-se variabilidade na composição dos ingredientes. As farinhas foram analisadas para determinação da composição bromatológica. Para a condução deste estudo três dietas semipurificadas foram formuladas (Tabela 16). Para a correção das perdas endógenas foram utilizados os dados gerados com o uso da dieta Livre descritos no Capítulo II. Os resultados das análises dos teores de fósforo, de cada farinha teste (Tabela 12), foram utilizados para a formulação das dietas FVI, FVII e FVIII. As dietas foram formuladas para conter o valor de fósforo não-fítico próximo à exigência das aves (0,40%), e continham respectivamente 29,55% da farinha de vísceras I, 31,30% da farinha de vísceras II e 30,70% da farinha de vísceras III.

O Dióxido de titânio foi adicionado em todas as dietas ao nível de 0,5% como indicador indigestível, para o cálculo do fator de indigestibilidade.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 3 tratamentos (dietas experimentais) e 9 repetições de 7 aves cada, totalizando 189 aves e 27 unidades experimentais.

Tabela 12. Dietas experimentais utilizadas na determinação da digestibilidade ileal de fósforo das farinhas de vísceras de aves.

Ingredientes	Dietas experimentais ³		
	FVI	FVII	FVIII
Amido	31,58	29,86	30,46
Açúcar	30,00	30,00	30,00
Farinha de vísceras I	29,55	-	-
Farinha de vísceras II	-	31,30	-
Farinha de vísceras III	-	-	30,70
Fibra dietética*	5,00	5,00	5,00
Óleo de soja	2,00	2,00	2,00
Carbonato de potássio	0,79	0,77	0,78
Bicarbonato de sódio	0,27	0,27	0,27
Sal comum	0,05	0,04	0,04
TiO ₂	0,500	0,500	0,500
Suplemento vitamínico ¹	0,100	0,100	0,100
Suplemento mineral ²	0,100	0,100	0,100
Cloreto de colina	0,05	0,05	0,05
Valores calculados			
Proteína bruta	18,79	20,18	19,70
Fósforo nf	0,40	0,40	0,40
Cálcio	0,69	0,69	0,69
Ca:P	1,72	1,72	1,72
Valores analisados			
Fósforo	0,354	0,380	0,388
Cálcio	0,469	0,664	0,596
Ca:P	1,32	1,75	1,54

¹Composição por kg de produto: Ferro (min) 60 g/kg; cobre (min) 13 g/kg; manganês (min) 120 g/kg; zinco (min) 100 g/kg; iodo (min) 2.500 mg/kg; selênio (min) 500 mg/kg.

²Composição por kg de produto: Vitamina A (min) 7.500.000 UI/kg; vitamina D3 (min) 2.500.000 UI/kg; vitamina E (min) 1.200 mg/kg; vitamina K3 (min) 1.200 mg/kg; tiamina (min) 1.500 mg/kg; riboflavina (min) 5.500 mg/kg; piridoxina (min) 2000 mg/kg; vitamina B12 (min) 12.000 mcg/kg; niacina 35g/kg; panteonato de cálcio (min) 10 g/kg; biotina (min) 67 mg/kg

³Valores expressos na matéria natural

* Opticell® C5 eubiotic fibre (BIOSEN, Salto, SP, Brazil). Composição: 65% fibra bruta.

2.3 Coleta e Processamento de Amostra

Aos 21 dias de idade as aves foram eutanasiadas por asfixiamento em câmara de CO₂ para coleta do conteúdo ileal. Duas horas antes do início do abate as aves foram estimuladas a consumir ração, através de estímulos mecânicos e visuais, fornecendo ração nova e também movimentando a ração presente no comedouro.

Após o asfixiamento a cavidade abdominal das aves foi exposta para coleta do intestino. Após a coleta do intestino foram identificados o divertículo de Meckel e a junção ileocecólica, sendo estas estruturas que definem respectivamente o início e o fim do íleo das aves. O íleo foi então exposto, e o conteúdo da metade distal (a metade próxima à junção ileocecólica) foi coletado por leve pressão digital, e depositado em vasilhame plástico identificado por gaiola experimental. Portanto, o conteúdo ileal de sete aves compôs a amostra de cada unidade experimental.

Ao final do abate as amostras foram levadas à estufa ventilada a 55° C para a realização da pré-secagem. Após foi triturada mecanicamente com o uso de pistilo e graal em cerâmica, até que o conteúdo pudesse passar por uma peneira de 1mm de abertura. O material moído foi guardado para posteriores análises de matéria seca, matéria mineral, fósforo e titânio.

2.4 Análises Químicas

As análises químicas foram realizadas no laboratório de análises bromatológicas do Instituto de Zootecnia e no laboratório de cromatografia do Instituto de Agronomia da UFRRJ. O detalhamento das análises realizadas está descrito no Capítulo I, Seção 2.4, intitulado Análises Laboratoriais.

2.5 Cálculos

No método direto, considera-se que a digestibilidade da dieta é a digestibilidade do ingrediente, pois este é a única fonte de fósforo na dieta. Como a digestibilidade encontrada é aparente, se faz necessário realizar as correções e os cálculos de perdas endógenas.

A relação entre a concentração do indicador, tanto na dieta quanto na digesta, são utilizadas para calcular o fator de indigestibilidade, de acordo com a seguinte equação:

$$FI = \left[\frac{TiI}{Tif} \right]$$

Onde, FI é o fator de indigestibilidade ileal aparente, TiI é a concentração de indicador na dieta, Tif é a concentração de indicador na digesta ileal.

O coeficiente de digestibilidade ileal aparente do P (CdiaP) da dieta, é calculado de acordo com a seguinte equação:

$$CdiaP = 1 - \left[FI \times \left(\frac{Pf}{Pi} \right) \right]$$

Onde, CdiaP é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente de P; FI é o fator de indigestibilidade da dieta FVI, FVII ou FVIII; Pf é a concentração de P na digesta ileal de FVI, FVII ou FVIII e Pi é a concentração de P na dieta FVI, FVII ou FVIII.

O dado de perdas endógenas de fósforo (PEP) utilizado foi o resultado obtido no estudo conduzido no Capítulo II, 94,9 mg/kg MSi.

O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do P (CdivP) do ingrediente teste foi calculado de acordo com a seguinte fórmula, proposta por Fan et al. (2008):

$$CdivP = CdiaP + \left(\frac{PEP}{Pdieta} \right)$$

$$CdivP = CdiaP + (PEP/Pdieta)$$

Onde, CdivP é o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira do P; CdiaP é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente do P da dieta FVI, FVII ou FVIII; PEP representa as perdas endógenas em gP/kg MS ingerida; e Pdieta é o conteúdo de fósforo da dieta FVI, FVII ou FVIII em g/kg MS;

2.6 Análise Estatística

Os dados de desempenho e digestibilidade aparente e verdadeira das dietas experimentais foram submetidos à ANOVA, ao nível de significância de 5%, e quando significativos submetidos ao teste de SNK (Student-Newman-Keuls) com o uso do software SISVAR.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises centesimais das farinhas de vísceras estão descritos na Tabela 13. A proteína bruta das farinhas utilizadas neste ensaio variou pouco (62,92% a 63,83%). De acordo com a Tabela Brasileira de Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2017) a PB de varinhas de vísceras é de 55%, e de acordo com Silva et al. (2011) podem variar de 54,4 a 64,6 %. As farinhas de vísceras com maior teor protéico são consideradas de maior qualidade, e são geralmente classificadas como farinha de vísceras para pet-food no mercado americano (DOZIER III et al., 2003).

Os teores de fósforos das farinhas variaram de 1,28 a 1,35%, e os teores de cálcio de 2,62 a 3,56%. Os níveis de fósforo encontrados são próximos da variabilidade de 1,50 a 3,20% de P e de 3,10 a 6,50 de cálcio relatada por Dozier III et al. (2003). Outros autores reportam valores superiores de fósforo das farinhas de vísceras, tanto em literatura internacional, de 2,1 a 3,4 (HUA et al, 2005), quanto pra nacional (SILVA et al 2014; ROSTAGNO, et al 2017). Essa variabilidade pode ocorrer devido a características do processamento bem como da variabilidade da matéria prima empregada na fabricação.

Tabela 13. Composição centesimal das farinhas de vísceras de aves utilizadas no ensaio de digestibilidade ileal de fósforo¹

Nutriente	FVI	FVII	FVIII	TBAS ²
Matéria seca	92,69	94,79	95,19	93,0
Proteína bruta	62,92	63,83	63,57	57,7
Matéria mineral	8,76	8,09	8,30	15,2
Extrato etéreo	8,39	8,06	5,85	14,2
Fósforo	1,35	1,28	1,30	2,54
Cálcio	3,51	2,62	3,56	4,34
Ca:P	2,60	2,04	2,73	1,71
DGM ³ (µm)	654	794	871	-

¹Dados expressos na matéria natural.

² Tabelas brasileiras para aves e suínos (ROSTAGNO et al., 2017).

³ DGM: diâmetro geométrico médio.

Os dados de desempenho das aves alimentadas com as dietas experimentais de 19 a 22 dias de idade encontram-se na Tabela 14. Todos os animais que receberam as dietas experimentais com farinhas de vísceras ganharam peso, sem diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos. O consumo de ração ($P>0,05$) também não foi afetado pelo fornecimento das diferentes farinhas de vísceras. Devido ao teor moderado de fósforo das farinhas de vísceras a inclusão do ingrediente teste foi próxima de 30 %. Como os ingredientes testes eram fontes de alto teor proteico, os animais não chegaram a perder peso, como relatado nos Capítulos I e II. Os valores de ganho de peso médio obtidos com as dietas experimentais (39 g/ave/dia) foram abaixo dos descritos na TBAS (75 g/ave/dia) (ROSTAGNO et al., 2017). São resultados esperados uma vez que a dieta fornecida não é balanceada para atender o perfil de proteína ideal, tendo como única fonte de proteína as farinhas de vísceras. No entanto, com o fornecimento de 10% de albúmen desidratado, uma fonte de alto valor biológico, nas dietas semipurificadas as aves também apresentaram ganho de peso aquém do seu potencial genético (MUTUCUMARANA et al., 2016).

Tabela 14. Desempenho de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais de farinhas de vísceras de aves de 19 a 22 dias de idade.

Dieta	Variação de peso (g/ave/dia)	Consumo (g/ave/dia)	Fósforo dieta (g/kg MS)	Fósforo excreta (g/kg MSi)
FVI	38,97	78,95	3,82	0,342
FVII	39,96	77,28	4,11	0,372
FVIII	39,47	78,51	4,19	0,453
SEM	1,69	1,37	-	0,04
P-valor	0,917	0,679	-	0,155
CV	12,86	5,27	-	31,16

SEM: erro padrão da média;

CV: coeficiente de variação.

As perdas endógenas de fósforo utilizadas para a determinação dos valores de digestibilidade ileal verdadeira foram determinadas no Capítulo II em 94,9 mg de fósforo por quilograma de matéria seca ingerida. No Capítulo I as perdas endógenas foram determinadas em 128mf/kg de MSi. Optou-se pelo valor obtido no Capítulo II, devido a maior semelhança da composição da dieta base, além do fato dos ensaios terem sido realizados com apenas uma semana de diferença.

Os resultados referentes aos coeficientes de digestibilidade ileal aparente (CdiaP) e verdadeira (CdviP) de fósforo das diferentes farinhas de vísceras de aves encontram-se descritas na Tabela 15. Não foram observadas diferenças significativas no CdiaP das farinhas de vísceras. Os CdiaP foram 0,9105, 0,9094 e 0,8919, para a FVI, FVII e FVIII, respectivamente. Também não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) para o CdviP das farinhas em estudo. Os CdviP foram 0,9599, 0,9606 e 0,9339, para as FVI, FVII e FVIII, respectivamente.

Tabela 15. Coeficiente de digestibilidade ileal aparente (CdiaP) e verdadeiro (CdviP) de fósforo das farinhas de vísceras de aves.

Ingrediente	CdiaP	CdviP
FVI	0,9105	0,9599
FVII	0,9094	0,9606
FVIII	0,8919	0,9339
SEM	0,010	0,013
P-valor	0,358	0,291
CV	3,35	4,21

CV – coeficiente de variação;

SEM – erro padrão da média.

A digestibilidade de fósforo das farinhas de vísceras mostrou-se particularmente alta quando comparada aos dados obtidos das farinhas estudadas nos capítulos I e II (45 a 68%) utilizando-se o método direto. Os valores encontrados nesta pesquisa também se mostram superiores aos descritos por Zarei et al. (2014). Estes autores avaliaram duas farinhas de vísceras, e relataram CdiaP de 38-47% e CdviP de 66 a 68%. A diferença relativamente alta entre os valores aparente e verdadeiros poderiam ser explicados pelas perdas endógenas, porém não foram descritas no trabalho.

Em suínos, a digestibilidade de fósforo de uma farinha de vísceras de aves foi determinada entre 78 a 86%, dependendo da metodologia utilizada (MERRIMAN, 2016). No entanto, dados do NRC para suínos (NRC, 2012) sugerem digestibilidade aparente de fósforo da farinha de vísceras de 48% e verdadeira de 53%. Trabalhos que avaliaram a biodisponibilidade de fósforo relataram alta biodisponibilidade de farinhas de origem animal (Waldroup e Adams, 1994; Sell e Jeffrey, 1996). A biodisponibilidade da farinha de vísceras foi estimada em 101% comparada à fonte fosfato monosódico (Waldroup et al., 1965).

A variabilidade de digestibilidade encontrada entre as farinhas de vísceras de diferentes estudos podem estar relacionadas à forma em que o fósforo está presente nestes ingredientes (HUA et al., 2005). Nos vertebrados a maior parte do fósforo (85-88%) existe como fósforo ósseo, de 10 a 15% em fósforo na forma orgânica, e apenas uma pequena quantidade está presente como íons livres ou fosfatos inorgânicos solúveis. De acordo com Hua et al. (2005), existe correlação negativa entre o teor de fósforo ósseo e valores de proteína bruta e lipídeos, sendo a relação fósforo ósseo / fósforo total na farinha de vísceras de 60 a 91%. Em dietas para peixes, acredita-se que o fósforo orgânico seja mais digestível que o fósforo ósseo (LALL, 1991). Van Harn et al. (2017) encontraram maior digestibilidade de fósforo em farinhas de ossos que passaram por processo químico de dissolução da matriz óssea, do que em farinha de ossos in natura.

As farinhas de vísceras utilizadas neste experimento apresentaram alto teor de proteína e baixo teor de fósforo quando comparadas aos ingredientes descritos na literatura, indicando que a proporção de fósforo ósseo seja mais próxima a 60%, o que poderia explicar em parte os altos níveis de digestibilidade encontrados.

Dados deste estudo sugerem que a farinha de vísceras possui alta digestibilidade, porém a investigação de ingredientes com maior variação bromatológica é necessária para confirmar essa afirmação.

4 CONCLUSÕES

Os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiros de fósforo não diferiu entre as farinhas de vísceras de aves avaliadas, sendo de 95,99%, 96,06% e 93,39%. As farinhas de vísceras de aves apresentaram valores elevados de digestibilidade de fósforo, podendo ser consideradas excelentes fontes de fósforo em ração de frangos de corte.

6 CONCLUSÕES GERAIS

As perdas endógenas foram estimadas em 128 mg P/kg MSI e 94,9 mg/kg MSi com o uso de dietas livres de fósforo e em -1062 mg P/kg MSI pelo método de regressão. O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro de fósforo da farinha de peixes foi de 0,456, 0,517 e 0,254 para o método direto, substituição e regressão, respectivamente. Houve diferença entre os coeficientes para as farinhas de carne e ossos avaliadas, sendo de 0,4928, 0,6495 e 0,6858. No entanto, os coeficientes não diferiram entre as farinhas de vísceras de aves avaliadas, sendo de 0,9339, 0,9599 e 0,9606.

As farinhas de vísceras de aves apresentaram valores elevados de digestibilidade de fósforo quando compara as demais fontes de origem animal avaliadas no presente trabalho, podendo ser consideradas excelentes fontes de fósforo em ração de frangos de corte. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que a disponibilidade de fósforo das farinhas de carne e ossos e da farinha de peixes para aves é bem inferior aos descritos nas tabelas de composição nutricional.

O método direto foi a forma mais prática na determinação da digestibilidade de fósforo das farinhas de origem animal. Algumas lacunas devem ser respondidas a fim de uma maior padronização na metodologia de determinação da digestibilidade, como o fornecimento de ingrediente proteico nas rações experimentais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBASI, F.; LIU, J.; ZHANG, H.; SHEN, X.; LUO, X. Effects of dietary total phosphorus concentration and casein supplementation on the determination of true phosphorus digestibility for broiler chickens. **Italian Journal of Animal Science**, v.17, p.135-144, 2018.
- ABPA (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL). **Relatório anual 2018**. São Paulo: ABPA; 2018.
- ABRA (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE RECICLAGEM ANIMAL). **II Diagnóstico da indústria brasileira de reciclagem animal**. São Paulo, ABRA. 2016.
- ADEDOKUN, S.A., ADEOLA, O., PARSONS, C.M., LILBURN, M.S., APPLGATE, T.J. Standardized ileal amino acid digestibility of plant feedstuffs in broiler chickens and turkey poults using a nitrogen-Livre or casein diet. **Poult Sci.**, v.87, p.2535-48, 2008.
- ADEOLA, O. **Digestion and balance techniques in pigs**. A.J. Lewis, L.L. Southern (Eds.), Swine nutrition (2nd ed.), CRC Press, Washington, DC, pp. 903-916, 2001.
- ADEOLA, O.; APPLGATE, T.J. Phosphorus and calcium equivalency of phytase. **In Proceedings of the 1st International Phytase Summit**, Washington, DC, USA, p.45–64, 2010.
- ADEOLA, O.; XUE, P.C.; COWIESON, A.J.; AJUWONA, K.M. Basal endogenous losses of amino acids in protein nutrition research for swine and poultry. **Animal Feed Science and Technology**, v.221, p.274-283, 2016.
- AKPE, M.P.; WAIBEL, P.E.; LARNTZ, E.; METZ, A.L.; NOLL, S.L.; WALSER, M.M. Phosphorus Availability Bioassay Using Bone Ash and Bone Densitometry as Response Criteria. **Poultry Science**, v.66, p.713-20, 1987.
- AL-MASRI, M.R. Absorption and endogenous excretion of phosphorus in growing broiler chicks, as influenced by calcium and phosphorus ratios in feed. BY M. R. **British Journal of Nutrition**, v.74, p.407-415, 1995.
- AMERAH, A.M.; PLUMSTEAD, P. W.; BARNARD, L.P.; KUMAR, A. Effect of calcium level and phytase addition on ileal phytate degradation and amino acid digestibility of broilers fed corn-based diets. **Poultry Science**, v.93, p.906–915, 2014.
- AMMERMAN, C. B., D. H. BAKER, AND A. J. LEWIS. **Bioavailability of Nutrients for Animals: Amino Acids, Minerals and Vitamins**. Academic Press, San Diego, CA. 1995.
- 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. p.138–149, 2007.

ANWAR, M.N.; RAVINDRAN, V.; MOREL, P.C.H.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A.J. Measurement of the true ileal calcium digestibility of some feed ingredients for broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v.237, p.118-128, 2018.

BELLAVER, C. A qualidade dos ingredientes e dos itens importantes na produção de rações. **Revista A Lavoura**, n.642, p.13-15. 2002.

BELLAVER, C. Limitações e vantagens do uso de farinha de origem animal na alimentação de suínos e de aves. In: Simpósio brasileiro altech da indústria de alimentação animal, 2. 2005, Curitiba. **Anais...** Araucária: Alltech, 2005. p. 1-5.

BELLAVER, C.; LUDKE, J.; LIMA, G.J.M.M. Qualidade de ingredientes para rações. In: **Global Feedand Food Forum. FAO.IFIF**. Sindirações. São Paulo, SP. 2005.

BIEHL, R.R., BAKER, D.H. Utilization of phytate and nonphytate phosphorus in chicks as affected by source and amount of vitamin D3. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2986–2993, 1997.

BIKKER, P.; SPEK, J.W., VAN EMOUS, R.A.; VAN KRIMPEN, M.M. Precaecal phosphorus digestibility of inorganic phosphate sources in male broilers. **British Poultry Science**, v.57, p.810-817, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa MAPA nº 34, de 28 de maio de 2008. **Regulamento técnico da inspeção higiênicosanitária e tecnológica do processamento de resíduos de origem animal**. Diário Oficial da União. Brasília, 29 de maio de 2008.

BÜNZEN, S. **Digestibilidade do fósforo de alimentos e exigência de fósforo digestível de aves e suínos**. 2009. 114f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

COATES, B.J., SLINGER, S.J., SUMMERS, J.D., BAYLEY, H.S. Metabolizable energy values and chemical and physical characteristics of wheat and barley. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 57, p.195-207, 1977.

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. **Poultry Science**, v.86, p.857-868, 2007.

CVB (CENTRAAL VEEVOEDERBUREAU). **Table on Feed Ingredients**. Data on the Chemical Composition, Digestibility and Nutritional Value of Feedstuffs. Product Board Animal Feed, Den Haag, The Netherlands, 1997.

CVB (CENTRAAL VEEVOEDERBUREAU). **Table on Feed Ingredients**. Data on the Chemical Composition, Digestibility and Nutritional Value of Feedstuffs. Product Board Animal Feed, Den Haag, The Netherlands, 2016.

DETMANN, E.; SOUZA, M A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M. E

AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos - INCT - Ciência Animal**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012.

DEVEREUX, C.; SMART, M.; KALT, F.P.; TAKEI, N. **Animal feeds: Phosphate supplements**. In CEH Marketing Research Report; HIS Chemical: Englewood, CO, USA, 1994.

DIAS, R. S.; LÓPEZ, S.; BORGATTIL, M. O.; KEBREAB, E.; VITTI, D. M. S. S.; ABDALA, A. L.; APPUHAMY, J. A. D. R. N.; FRANCE, J. . Phosphorus utilization in broilers fed with diets supplemented with different feed ingredients. **Scientia Agricola**, v. 76, n. 1, p. 18-23, 2019.

DILGER, R.N.; ADEOLA, O. Estimation of true phosphorus digestibility and endogenous phosphorus loss in growing chicks fed conventional and low-phytate soybean meals. **Poultry Science**, v.85, p.661-668, 2006.

DOZIER III, W.A.; DALE, N.M.; DOVE, C.R. Nutrient composition of feed-grade and pet food-grade poultry byproduct meal. **Journal of Applied Poultry Research**, v.12, p.526–530, 2003.

EDWARDS JR, H. M. Studies on the Etiology of Tibial Dyschondroplasia in Chickens. **The Journal of Nutrition**, v.114, p.1001-1013,1984.

EMBRAPA SUÍNOS E AVES. Núcleo de Tecnologia e Informação. **Granucalc**. Concórdia, 2013. Software on line. Aplicativo para o cálculo do Diâmetro Geométrico Médio (DGM) e do Desvio Padrão Geométrico (DPG) de partículas de ingredientes. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/softgran/softgran.php>. Acesso em: 03 de agosto de 2016.

FAN, M.Z., SHEN, Y., YIN, Y.L., WANG, Z.R., WANG, Z.Y., LI, T.J., RIDEOUT, T.C., HUANG, R.L., ARCHBOLD, T., YANG, C.B., WANG, J. **Methodological considerations for measuring phosphorus utilization in pigs**. In: France, J., Kebreab, E. (Eds.), *Mathematical Modelling in animal Nutrition*. CAB International, Oxfordshire, UK, pp. 370–397, 2008.

FAN, M.Z.; ARCHBOLD, T.; SAUER, W.C.; LACKEYRAM, D.; RIDEOUT, T.; GAO, Y.; DE LANGE, C.F.M.; HACKER, R.R. Novel methodology allows simultaneous measurement of true phosphorus digestibility and the gastrointestinal endogenous phosphorus outputs in studies with pigs. **Journal of Nutrition**, v.131, p.2388–2396. 2001.

FEDNA. **Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos**. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. 3ed. Madrid. 2010. 502 pp.

FIGUEIREDO JR, J. P.; PERAZZO, F. G. C.; GIVISIEZ, P. E. N.; SANTANA, M. H. M.; SANTOS, E. G. Transportadores de cálcio e fósforo em aves de postura. **Revista Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias**, v. 13, n. 1, p.70-81, 2018.

FORSTER, I.; HERNANDO, N.; SORRIBAS, V.; WERNER, A. Phosphate transporters in renal, gastrointestinal, and other tissues. **Advances in Chronic Kidney Disease**, v.18, p.63-76, 2011.

GARCIA, R. A.; ROSENTRATER, K. A.; FLORES, R. A. Characteristics of north american meat and bone meal relevant to the development of non-feed applications. **Applied Engineering in Agriculture**, v.22, p.729-736, 2006.

González-Vega, J. C.; Walk, C. L.; Stein, H. H. Effect of phytate, microbial phytase, fiber, and soybean oil on calculated values for apparent and standardized total tract digestibility of calcium and apparent total tract digestibility of phosphorus in fish meal fed to growing pigs, **Journal of Animal Science**, v.93, n.10, p.4808–4818, 2015.

HAN, J., LIU, Y., YAO, J., WANG, J., QU, H., YAN, Y., YUE1, J., DING, J., SHI1, Z., DONG, X. Dietary calcium levels reduce the efficacy of one alphahydroxycholecalciferol in phosphorus-deficient diets of broilers. **Journal Poultry Science**, v.49, p.34-38, 2012.

HAN, J.C., ZHANG, J.L., ZHANG, N., YANG, X., QU, H.X., GUO, Y., SHI, C.X., YAN, X.F. Age, phosphorus, and 25-hydroxycholecalciferol regulate mRNA expression of vitamin D receptor and sodium-phosphate cotransporter in the small intestine of broiler chickens. **Poultry Science**, v.97, p.1199–1208, 2018.

HAN, J.C.; YANG, X.D.; ZHANG, T. et al. Effects of 1 α -hydroxycholecalciferol on growth performance, parameters of tibia and plasma, meat quality, and type IIb sodium phosphate cotransporter gene expression of one-to twenty-one-day-old broilers. **Poultry Science**, v.88, p.323-329, 2009.

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

HEMME, A.; SPARK, M.; WOLF, P.; PASCHERTZ, H.; KAMPHUES, J. Effects of different phosphorus sources in the diet on bone composition and stability (breaking strength) in broilers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.89, p.129-33, 2005.

HESTER, P.Y.; SCHREIWEIS, M.A.; ORBAN, J.I.; MAZZUCO, H.; KOPKA, M.N.; LEDUR, M.C.; MOODY, D.E. Assessing bone mineral density in vivo: dual energy X-ray absorptiometry. **Poultry Science**, v.83, p.215-221, 2004.

HIGUCHI, L.H. **Produção, caracterização nutricional e utilização de farinhas e óleos de resíduos de peixes neotropicais em dietas para Tilápia do Nilo**. Tese. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2011. 86 p.

HU, Y.; LIAO, X.; WEN, Q.; LU, L.; ZHANG, L.; LUO, X. Phosphorus absorption and gene expression levels of related transporters in the small intestine of broilers. **British Journal of Nutrition**, v.119, p.1346–1354, 2018.

HUA, K.; LIJUAN, L.; DOMINIQUE, P.B. Determination of phosphorus fractions in animal protein ingredients. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.1571-1574, 2005.

Hurwitz. S.; Bar, A. The sites of calcium and phosphate absorption in the chick. **Poultry Science**, v. 49, p.324-325, 1970.

INRA (Institut National De La Recherché Agronomique). **Tables of composition and nutritional values of feed materials**, Versailles, France, 2002. 304p.

IYAYI, E.A.; FRU-NJI, F.; ADEOLA, O. True phosphorus digestibility of black-eyed pea and peanut flour without or with phytase supplementation in broiler chickens. **Poultry Science**, v.92, p.1595–1603, 2013.

JONGBLOED, A.W., P.A. KEMME, G. DE GROOTE, M. LIPPENS, F. MESCHY. **Bioavailability of major and trace minerals**. EMFEMA report. International Association of the European (EU) Manufacturers of Major, Trace and Specific Feed Mineral Materials. Brussels. Belgium.2002.

KESHAVARZ, K. The effect of dietary levels of calcium and phosphorus on performance and retention of these nutrients by laying hens. **Poultry Science**, v.65, p.114–121, 1986.

KUPCIKOVA, L.; LICHOVNIKOVA, M.; ANDERLE, V.; VLCKO, T.; OHNOUTKOVA, L.; SVIDRNOCH, M.; MAIER, V.; HAMPEL, D. Pre-caecal digestible phosphorus in maize and wheat for broiler chickens, **British Poultry Science**, v.58, p.712-717, 2017.

LALL, S.P. **Digestibility, metabolism and excretion of dietary phosphorus in fish**. In: Nutritional Strategies and Aquaculture Waste. Proceedings of the 1st International Symposium on Nutritional Strategies in Management of Aquaculture Waste. Eds. Fish Nutrition Research Laboratory, University of Guelph: Guelph, ON, Canada, 1991. pp 21-36.

LEMME, A.; RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W.L. Ileal digestibility of amino acids in feed ingredients for broilers. **World's Poultry Science Journal**, v.60, p.423-438, 2004.

LESSON, S.; SUMMERS, D.J. **Commercial poultry nutrition**. 2 ed. Guelph, Ontario. Canada: University Books; 1997. 350p.

LI, W., ANGEL, R., KIM, S.W., BRADY, K., YU, S., PLUMSTEAD, P.W. Impacts of dietary calcium, phytate, and nonphytate phosphorus concentrations in the presence or absence of phytase on inositol hexakisphosphate (IP6) degradation in different segments of broilers digestive tract. **Poultry Science**, v.95, p.581–589, 2016.

LI, X.; ZHANG, D.; YANG, T.Y.; BRYDEN, W.L. Phosphorus Bioavailability: A Key Aspect for Conserving this Critical Animal Feed Resource with Reference to Broiler Nutrition. **Agriculture**, v.6, p.1-15, 2016.

LIMA, F. R., MENDONCA JR., C. X., ALVAREZ, J. C., GARZILLO, J.M.F., GHION, E., LEAL, P. M. Biological Evaluations of Commercial Dicalcium Phosphates as Sources of Available Phosphorus for Broiler Chicks. **Poultry Science**, v.76, p.1707–1713, 1997.

LIU, J. B.; CHEN, D.W.; ADEOLA, O. Casein supplementation does not affect true phosphorus digestibility and endogenous phosphorus loss associated with soybean meal for

broiler chickens determined by the regression method. **Canadian Journal of Animal Science** v.94, p.661-668, 2014.

LIU, J.B.; ADEOLA, O. Casein supplementation does not affect the estimates of true total tract digestibility of phosphorus in soybean meal for growing pigs determined by the regression method. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.29, p.1625-1631, 2016.

MERRIMAN, L.A. **Factors affecting the digestibility of calcium in feed ingredients and requirements for digestible calcium by pigs**. 2016. 225f. Dissertation (Doctor of Philosophy in Animal Sciences) - University Illinois, Urbana-Champaign.

MUTUCUMARANA, R. K.; RAVINDRAN, V.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A. J. Measurement of true ileal digestibility of phosphorus in some feed ingredients for broiler chickens. **Journal of Animal Science**, v.92, p.5520–5529, 2014b.

MUTUCUMARANA, R. K.; RAVINDRAN, V.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A. J. Measurement of true ileal phosphorus digestibility in maize and soybean meal for broiler chickens: Comparison of two methodologies. **Animal Feed Science and Technology**, 206, 76-86, 2015b.

MUTUCUMARANA, R. K.; RAVINDRAN, V.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A. J. Measurement of true ileal digestibility and total tract retention of phosphorus in corn and canola meal for broiler chickens. **Poultry Science**, v.93, p.412–419, 2014.

MUTUCUMARANA, R.K.; RAVINDRAN, V. Measurement of true ileal phosphorus digestibility in meat and bone meal for broiler chickens using the direct method. **Animal Feed Science and Technology**, v.219, p.249-256, 2016.

MUTUCUMARANA, R.K.; RAVINDRAN, V.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A.J. Measurement of true ileal phosphorus digestibility in meat and bone meal for broiler chickens. **Poultry Science**, v.94, p.1611-1618, 2015a.

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

NRC (National Research Council). **Nutrient requirements of poultry**. Washington: National Academy Press, 9th revised ed., 1994.

NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). **Nutrient Requirements of Swine**. Eleventh Revised Edition, Washington DC: The National Academies Press, 2012. 400p.

OLUKOSI, O.A., ADEDOKUN, S.A., AGBOOLA, J.O.. Species-dependent response to the influence of adaptation length during assay for metabolisable energy of cereal grains employing the difference method. **Animal Feed Science and Technology**, v.231, p.111-118, 2017.

OLUKOSI, O.A.; BOLARINWA, O.A.; COWIESON, A.J.; ADEOLA, O. Marker type but not concentration influenced apparent ileal amino acid digestibility in phytase-supplemented diets for broiler chickens and pigs. **Journal of Animal Science**, v.90, p.4414-20, 2012.

ONYANGO, E.M.; HESTER, P.Y.; STROSHINE, R.; ADEOLA, O. Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. **Poultry Science**, v.82, pp.787-91, 2003.

PEKEL, A.Y.; ADEDOKUN, S.A.; ADEOLA, O. True phosphorus digestibility of camelina meal in broiler chickens. **Canadian Journal of Animal Science**, v.98, p.194-203, 2017.

PENIDO, M.G.; ALON, U.S. Phosphate homeostasis and its role in bone health. **Pediatric Nephrology**, v.27, p.2039-2048, 2012.

PEREIRA, L.F.P.; ADEOLA, O. Energy and phosphorus values of sunflower meal and rice bran for broiler chickens using the regression method. **Poultry Science**, v.95, p.2081-2089, 2016.

PERRYMAN, K.R.; MASEY O'NEILL, H.V.; BEDFORD, M.R.; DOZIER, III, W. A. Effects of calcium feeding strategy on true ileal phosphorus digestibility and true phosphorus retention determined with growing broilers. **Poultry Science**, v.95, p.1077–1087, 2016a.

PERRYMAN, K.R.; MASEY O'NEILL, H.V.; BEDFORD, M.R.; DOZIER, III, W. A. Methodology affects measures of phosphorus availability in growing broilers: Effects of calcium feeding strategy and dietary adaptation period length on true ileal phosphorus digestibility and predicted endogenous phosphorus losses. **Poult. Sci.** v.0, p.1–11, 2016b.

PLUMSTEAD, P.W.; LEYTEM, A. B.; MAGUIRE, R.O.; SPEARS, J.W.; KWANYUEN, P.; BRAKE, J. Interaction of calcium and phytate in broiler diets. 1. Effects on apparent prececal digestibility and retention of phosphorus. **Poultry Science**, v.87, p.449–458, 2008.

POTTER LM, POTCHANAKORN M, RAVINDRAN V, KORNEGAY ET. Bioavailability of phosphorus in various phosphate sources using body weight and toe ash as response criteria. **Poultry Science**, v.74, p.813-20, 1995.

QUAMME, G. A. Phosphate transport in intestinal brush border membrane vesicles: effects of pH and dietary phosphate. **American Journal of Physiology**, v.249, p.168-176, 1985.

RAVINDRAN, V., ADEOLA, O., RODEHUTSCORD, M., KLUTH, H., VAN DER KLIS, J.D., VAN EERDEN, E., HELMBRECHT, A. Determination of ileal digestibility of amino acids in raw materials for broiler chickens – Results of collaborative studies and assay recommendations. **Animal Feed Science and Technology**, v.225, p.62-72, 2017.

RAVINDRAN, V.; ADEOLA, O.; RODEHUTSCORD, M.; KLUTH, H.; KLIS, J. D. VAN DER; EERDEN, E. VAN; HELMBRECHT, A. Determination of ileal digestibility of amino acids in raw materials for broiler chickens – Results of collaborative studies and assay recommendations. **Animal Feed Science Technology**, v.225, p.62-72, 2017.

RODEHUTSCORD, M.; ADEOLA, O.; ANGEL, R.; BIKKER, P.; DELEZIE, E. DOZIER III, W.A.; UMAR FARUK, M.; FRANCESCH, M.; KWAKERNAAK, C.; NARCY, A.; NYACHOTI, C.M.; OLUKOSI, O.A; PREYNAT, A.; RENOUF, B.; SAIZ DEL BARRIO, A.; SCHEDULE, K.; SIEGERT, W.; STEENFELDT, S.; VAN KRIMPEN, M.M.; WAITITU, S.M.; WITZIG, M. Results of an international phosphorus digestibility ring test with broiler chickens. **Poultry Science**, v.96, p.679-1687, 2017.

ROMANOFF, A.L. **Chemical composition of the whole embryo**. In: Biochemistry of the Avian Embryo. John Wiley and Sons, New York, NY. 1967.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M.I.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N.K.; PERAZZO, F.G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M.V.; RODRIGUES, P.B.; OLIVEIRA, R.F.; BARRETO, S.L.T.; BRITO, C.O. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4ed. Viçosa, MG: Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2017. 488p.

ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N.K.; PERAZZO, F.G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M.L.; RODRIGUES, P.B.; OLIVEIRA, R.F.; BARRETO, S.L.T.; BRITO, C.O. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2.ed. Viçosa, MG: UFV, Departamento de Zootecnia, 2005.186p.

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. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. 3ª ed. Viçosa, MG: UFV, Departamento de Zootecnia, 2011. 252p.

SALES, J., JANSSENS, G. P. J. Acid-insoluble ash as a marker in digestibility studies: a review. **Journal of Animal Feed Science**, v.12, p.383–401, 2003.

SELLE, P.H.; COWIESON, A.J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**, v.124, p.126-141, 2009.

SHARPLEY, A.N.; CHAPRA, S.C.; WEDEPOHL, R.; SIMS, J.T.; DANIEL, T.C.; REDDY, K.R. Managing agricultural phosphorus for protection of surface waters: Issues and options. **Journal of Environmental Quality**, v.23, p.437–451, 1994.

SHASTAK, Y., RODEHUTSCORD, M. Determination and estimation of phosphorus availability in growing poultry and their historical development. **World's Poultry Science Journal**, v.69, p.569-585, 2013.

SHASTAK, Y.; WITZIG, M.; HARTUNG, K.; RODEHUTSCORD, M. Comparison of retention and prececal digestibility measurements in evaluating mineral phosphorus sources in broilers. **Poultry Science**. v.91, p.2201–2209, 2012.

SHE, Y.; LI, D.; ZHANG, S. Methodological aspects of determining phosphorus digestibility in swine: A review. **Animal Nutrition**, v.3, p.97-102, 2017.

SILVA, E.P.; LIMA, M.B.; RABELLO, C.B.V.; LUDKE, J.V.; ALBINO, L.F.T.; SAKOMURA, N.K. Aspectos nutricionais de farinhas de vísceras de aves e sua utilização em rações de frangos de corte. **Acta Veterinária Brasilica**, v. 5, p. 108-118, 2011.

SINDRAÇÕES. **Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal**. 4ed. SINDRAÇÕES, São Paulo, 2013.

SULABO. R.C.; STEIN, H.H. Digestibility of phosphorus and calcium in meat and bone meal fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.91, p.1285–1294, 2013.

TAKEDA, E.; TAKETANI, Y.; MORITA, K. et al. Sodium-dependent phosphate co-transporters. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology** (Abstract), v.31, p.377-381, 1999.

TAMIM, N. M.; ANGEL, R.; CHRISTMAN, M. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. **Poult. Sci.** v.83, p.1358–1367, 2004.

TAMIM, N.M.; ANGEL, R.; CHRISTMAN, M. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 83, n. 8, p. 1358-1367, 2004.

TRAIRATAPIWAN, T.; RUANGPANIT, Y.; SONGSERM, O.; ATTAMANGKUNE, S. True ileal phosphorus digestibility of monocalcium phosphate, monodicalcium phosphate and dicalcium phosphate for broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v.241, p. 1-7, 2018.

TRAYLOR, S. L.; CROMWELL, G. L. AND LINDEMANN, M. D. Bioavailability of phosphorus in meat and bone meal for swine. **Journal of Animal Science**, v.83, p.1054-1061, 2005.

VAN DER KLIS, J.D.; VERSTEEGH, H.A.J. **Phosphorus nutrition of poultry. In: Recent Developments in Poultry Nutrition 2**; Garnsworthy, P.C., Wiseman, J., Eds.; Nottingham University Press: Nottingham, UK, pp. 309–320. 1999.

VAN HARN; J.; SPEK, J.W.; VAN VUURE, C.A.; VAN KRIMPEN, M.M. Determination of pre-cecal phosphorus digestibility of inorganic phosphates and bone meal products in broilers. **Poultry Science**, v.96, p.1334-1340, 2017.

VERARDI, A.D.; SCHNEIDER, A.F.; MAYER, J.K.; YURI, F.M.; OLIVEIRA, V.; GEWEHR, C.E. True phosphorus digestibility and total endogenous phosphorus losses associated with canola meal for brown laying hens 17 and 32 weeks old. **Livestock Science**, v.222, p.49-53, 2019.

WITZIG, M.; INGELMANN, C. J.; MÖHRING, J.; RODEHUTSCORD, M. Variability of prececal phosphorus digestibility of triticale and wheat in broiler chickens. **Poultry Science**, v.97, p.910–919, 2018.

WPSA (WORKING GROUP NO. 2: NUTRITION OF THE EUROPEAN FEDERATION OF BRANCHES OF WORLD POULTRY SCIENCE ASSOCIATION). Determination of phosphorus availability in poultry. **World's Poultry Science Journal**, v.69, p.687–698, 2013.

WU, Y. B.; RAVINDRAN, V.; HENDRIKS, W. H. Influence of exogenous enzyme supplementation on energy utilisation and nutrient digestibility of cereal for broilers. **Journal of Science Food and Agriculture**, v.84, p.1817–1822, 2004.

XUE, P.C.; RAGLAND, D. ADEOLA, O. Influence of dietary crude protein and phosphorus on ileal digestion of phosphorus and amino acids in growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.95, p.2071–2079, 2017.

YAN, F.; ANGEL, R.; ASHWELL, C.M. Characterization of the chicken small intestine type IIb sodium phosphate cotransporter. **Poultry Science**, v.86, p.67-76, 2007.

ZANOTTO, L. Z.; CUNHA Jr., A.; LUDKE, J. V.; COLDEBELLA, A. **Análise de granulometria de milho moído**. Concórdia: EMBRAPA-CNPASA, 2016. 5 p. (EMBRAPA-CNPASA. Comunicado Técnico, 536). Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1062014/1/Cot536.pdf>>. Acesso em: 3 de agosto de 2019.

ZAREI, A.; JABERZADEH, V.; HEMMATI, B. Determination of Apparent and True Digestibility of Poultry by Product Meal in Broiler Chickens. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v.4, p. 587-590, 2014.