

UFRRJ

INSTITUTO DE ZOOTECNIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

DISSERTAÇÃO

**Digestibilidade Ileal Estandardizada do Fósforo de
Farinhas de Peixe para Frangos de Corte**

Tatiana Frota de Vasconcellos Dias

2022



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

**DIGESTIBILIDADE ILEAL ESTANDARDIZADA DO FÓSFORO DE
FARINHAS DE PEIXE PARA FRANGOS DE CORTE**

TATIANA FROTA DE VASCONCELLOS DIAS

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

*Sob a Co-orientação de
Felipe Dilelis de Resende Sousa*

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre(a)** no curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Área de Concentração em Zootecnia.

Seropédica, RJ
Outubro de 2022

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

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

D541d Dias, Tatiana Frota de Vasconcellos, 1984-
DIGESTIBILIDADE ILEGAL ESTANDARDIZADA DO FÓSFORO DE
FARINHAS DE PEIXE PARA FRANGOS DE CORTE / Tatiana
Frota de Vasconcellos Dias. - Rio de Janeiro, 2022.
49 f.

Orientadora: Cristina Amorim Ribeiro de Lima.
Coorientadora: Felipe Dilelis de Resende Sousa.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIA ANIMAL, 2022.

1. metabolismo. 2. perda endógena. 3. método
direto. I. Lima, Cristina Amorim Ribeiro de , 1963-,
orient. II. Sousa, Felipe Dilelis de Resende, 1988-,
coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL.
IV. Título.

18/07/2023 14:07

https://sipac.ufrrj.br/sipac/protocolo/documento/documento_visualizacao.jsf?imprimir=true&idDoc=1337865



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA



TERMO N° 738 / 2023 - PPGZ (12.28.01.00.00.00.61)

Nº do Protocolo: 23083.041106/2023-91

Seropédica-RJ, 28 de junho de 2023.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
TATIANA FROTA DE VASCONCELLOS DIAS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre(a) no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de Concentração em Zootecnia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 28/10/2022

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

Fernando Augusto Curvello, Dr. UFRRJ

Verônica da Silva Cardoso, Dr.^a UFRJ-RJ

(Assinado digitalmente em 28/06/2023 17:05)
CRISTINA AMORIM RIBEIRO DE LIMA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptNAP (12.28.01.00.00.00.62)
Matrícula: 387738

(Assinado digitalmente em 02/07/2023 19:09)
FERNANDO AUGUSTO CURVELLO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DPA (12.28.01.00.00.00.63)
Matrícula: 387286

(Assinado digitalmente em 18/07/2023 09:30)
VERÔNICA DA SILVA CARDOSO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 083.102.137-35

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: 738, ano: 2023, tipo: TERMO, data de emissão: 28/06/2023 e o código de verificação: 7321690d3b

DEDICATÓRIA

*À Deus, que está sempre presente em minha história
e por me conduzir na caminhada.*

*Aos meus pais José Leonardo (in memoriam) e
Tania Regina, e ao meu irmão José Leonardo por
vocês existirem na minha vida.*

*A minha querida e tão desejada filha Alice que é a
minha razão e motivação.*

*Ao meu esposo Ericson Mello que com muito
cariño e paciência em todos esses anos, me ajudou e
ensinou a não esmorecer diante dos desafios.*

*Aos meus amigos, que me ajudaram nessa jornada.
Aos mestres, que tanto ensinaram.*

AGRADECIMENTOS

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

Ao Coorientador Doutor **Felipe Dilelis de Resende Sousa** pela amizade e por todos os ensinamentos.

Aos professores, que lecionaram durante a Pós-graduação.

Aos companheiros da pós-graduação: **Christiane Silva Souza, Gleyce Lopes da Costa e Túlio Leite Reis**, pela amizade e pelo apoio durante todos os momentos no mestrado.

As amigas, em especial, **Christiane Silva Souza e Gleyce Lopes da Costa**, pelo auxílio fundamental para a condução do experimento e análises laboratoriais.

A equipe da avicultura, **Alex, Denício, Ednaldo e Everton (Betinho)** que deram muito apoio durante a realização dos experimentos.

Aos funcionários, **Fernando, Luís e Pedro Timóteo**, pela ajuda na elaboração do experimento.

À família, agradeço por me apoiar e compreender a ausência para a conclusão de mais uma etapa.

À empresa PATENSE, como seu representante o Sr. **Felipe dos Santos Teixeira Portugal**, e toda a sua equipe por apoiar o trabalho, com o fornecimento das farinhas de peixe para a realização do experimento.

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

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela cooperação com a Pós-graduação em Ciência Animal da UFRRJ.

Ao Instituto de Zootecnia e ao Departamento de Nutrição Animal e Pastagens (DNAP) da UFRRJ, pelo apoio no fornecimento de insumos para o experimento.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal (PGCA), pelo apoio.

A todos que não foram citados, mas contribuíram direta ou indiretamente para a realização do estudo.

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

BIOGRAFIA

Tatiana Frota de Vasconcellos Dias, filha de José Leonardo Vasconcellos Dias (*in memoriam*) e Tania Regina Frota Vasconcellos Dias, nasceu em 02 de abril de 1984, na cidade do Rio de Janeiro/RJ. Concluiu o Ensino Médio no Colégio Fernando Costa, na cidade de Seropédica/RJ. No ano de 2004 ingressou no curso de graduação em Zootecnia, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em Seropédica/RJ, concluída em 2010. Em 2019, ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, atual Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, submetendo-se a defesa de dissertação em outubro de 2022.

RESUMO

DIAS, Tatiana Frota de Vasconcellos. **Digestibilidade ileal estandardizada do fósforo de farinhas de peixe para frangos de corte.** 2022. 50p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

Com o objetivo de se determinar a composição química e os coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada do fósforo (CdieP) de diferentes farinhas de peixe, pelo método direto, foram avaliadas três farinhas de peixes, que diferiam entre si pelo teor de proteína bruta (FP 55%, FP 60%, FP 65%). As rações experimentais, semi-purificadas, foram formuladas com amido de milho e açúcar, contendo aproximadamente 10% de cada farinha de peixe e 5g/kg de dióxido de titânio, adicionado em todas as dietas como indicador indigestível. Uma ração purificada à base de amido de milho e açúcar, livre de cálcio e fósforo (RC) foi formulada para a determinação das perdas endógenas. Foram alojados 216 frangos da linhagem Cobb 500, em gaiolas metabólicas. As dietas experimentais foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, (03 rações com diferentes farinhas de peixe e 01 ração semi-purificada isenta de fósforo), com nove repetições de seis aves por unidade experimental. As aves receberam a dieta experimental por 3 dias, dos 19 aos 21 dias de idade. No 22º dia de idade, as aves foram insensibilizadas em atmosfera controlada, por saturação de CO₂, para a coleta do conteúdo ileal. As amostras de digesta ileal e as dietas experimentais foram analisadas para matéria seca, fósforo e titânio. Os coeficientes de digestibilidade de fósforo das farinhas foram calculados pelo método direto. 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 dados de desempenho, de digestibilidade aparente das dietas e dos CdieP foram submetidos a análise de variância ao nível de significância de 5%, e quando significativos submetidos ao teste Tukey. As perdas endógenas com o uso da dieta purificada foram determinadas, a partir da dieta isenta de P, em 190,4 mg de P/kg de matéria seca ingerida (MSi). Os coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada de fósforo (CdieP) diferiram entre as farinhas de peixe avaliadas, sendo de 67,96%, 79,22% e 82,12%, respectivamente, para a FP 55%, FP 60% e FP 65%. O método direto foi adequado para a determinação da digestibilidade ileal de fósforo das farinhas de peixes, devido a menor necessidade de animais, análises e recursos. As farinhas de peixes apresentaram valores elevados de digestibilidade de fósforo, desse modo, consiste numa excelente fonte de fósforo em rações de frangos de corte. O valor de digestibilidade do fósforo foi superior nas farinhas de maior valor proteico, validando a necessidade de utilizar o conceito de digestibilidade do fósforo na composição de ingredientes e na formulação de rações de frangos de corte.

Palavras-chave: metabolismo, perda endógena, método direto.

ABSTRACT

DIAS, Tatiana Frota de Vasconcellos. **Standardized ileal digestibility of fish meal phosphorus for broilers.** 2022. 50p. Dissertation (Master in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

With the aim of the objective was to determine the chemical composition and the coefficients of true ileal digestibility of phosphorus (Cd_{ileP}) of different fishmeals, by the direct method. Three fish meals were evaluated, which differed from each other in terms of crude protein content (FM 55%, 60% e 65%). The experimental, semi-purified rations were formulated with corn starch and sugar, containing approximately 10% of each fish meal and 5g/kg of titanium dioxide was added in all diets as an indigestible indicator. A purified ration based on corn starch and sugar, free of calcium and phosphorus (RC) was formulated to determine the endogenous P loss. A total of 216 Cobb 500 broilers were housed in metabolic cages. Four experimental diets were distributed in a completely randomized design, with 4 treatments (03 rations with different fish meal and 01 phosphorus-free diet), with 9 replicates of 6 birds per experimental unit. The birds received an experimental diet for 3 days, from 19 to 21 days of age. On the 22nd day of age, the birds were stunned in a controlled atmosphere, by CO₂ saturation, to collect the ileal content. Digesta samples and experimental diets were analyzed for dry matter, phosphorus and titanium. In the direct method, the test ingredient is a unique source of dietary phosphorus, therefore, the digestibility of the diet is assumed to be the digestibility of the test ingredient. The performance data, apparent digestibility of diets and Cd_{ileP} were selected for an analysis of variance at the 5% significance level, and when significant submitted to Tukey test. Endogenous losses with the use of the purified diet were determined in 190.4 mg/kg of dry matter intake (DMi). The standardized ileal digestibility coefficients of phosphorus (Cd_{ileP}) differed between the fish meals evaluated, being 67.96%, 79.22% and 82.12%, respectively for FP 55%, FP 60% e FP65%. The direct method was suitable for the determination of ileal phosphorus digestibility of fish meal, due to the lower need for animals, analyzes and resources. Fish meal showed high values of phosphorus digestibility, which can be considered excellent sources of phosphorus in diets for broilers. The phosphorus digestibility value was higher in the meals with the highest protein value, validating the need to use the phosphorus digestibility concept in the composition of ingredients and in the formulation of diets for broilers.

Keywords: digestibility, digestible phosphorus, direct method.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dieta pré-experimental fornecida até o 18º dia de idade das aves	12
Tabela 2. Temperatura e Umidade obtidas na 3ª semana.....	14
Tabela 3. Dietas experimentais para determinação do fósforo digestível das farinhas de peixe pelo método direto.....	15
Tabela 4. Composição centesimal das farinhas de peixe utilizadas no ensaio e das farinhas de peixe descritas na TBAS	19
Tabela 5. Desempenho de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais (19º ao 22º dia de idade).....	20
Tabela 6. Coeficiente de digestibilidade ileal aparente (CdiaP) e verdadeiro (CdiveP) de fósforo da farinha de peixe de aves.....	21

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Pintainhos com 01 dia.....	11
Figura 2. Gaiolas metabólicas equipadas com comedouro tipo calha (A) e bebedouro tipo copo (B).....	13
Figura 3. Fornecimento das dietas experimentais (A) (B).....	13
Figura 4. Abertura da cavidade abdominal para a coleta do conteúdo do íleo (A) (B)	14
Figura 5. A. - Peneira Nº: 37 μm , B – Peneira Nº: 105 μm , C - Peneira Nº: 297 μm , D - Peneira Nº: 595 μm , E - Peneira Nº: 1000 μm e F - Peneira Nº: 2000 μm	16

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal;
ATP	adenosina trifosfato;
BHT ($C_{15}H_{24}O$)	butil hidroxitolueno
Ca	cálcio;
$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	hidroxiapatita;
CEUA	comissão de ética no uso de animais;
CIA	cinza insolúvel em ácido;
CO_2	dióxido de carbono;
CdiaP	coeficiente de digestibilidade ileal aparente do fósforo;
CdieP	coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do fósforo;
Cr_2O_3	óxido crômico;
DGM	diâmetro geométrico médio;
DNA	ácido desoxirribonucleico;
DPG	desvio padrão geométrico;
EM	energia metabolizável;
FOA	farinha de origem animal;
HCl	ácido clorídrico;
$H_2PO_4^-$	ácido fosfórico;
HPO_4^{2-}	ácido fosfórico;
K_2PO_4	fosfato dipotássico;
MM	matéria mineral;
MSi	matéria seca ingerida;
$NaCl$	cloreto de sódio;
$NaOH$	hidróxido de sódio;
P	fósforo;
PB	Proteína bruta;
PEP	perda de fósforo endógena;
Pd	Proteína digestível;
Pdig.	fósforo digestível;
Pdisp.	fósforo disponível;
Pdpc	fósforo digestível ileal;
PEP	perdas endógenas de fósforo;
Pf	fósforo fítico;
pH	potencial de hidrogeniônico;
Pnf	fósforo não-fítico;
Pr	fósforo retido;
Pt	fósforo total;
PTH	hormônio paratireóide;
RC	ração controle;
RNA	ácido ribonucleico
TBAS	tabelas brasileiras de aves e suínos;
TiO_2	dióxido de titânio;
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
~	aproximadamente;
$1,25(OH)_2D_3$	Calcitriol.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	01
2	REVISÃO DE LITERATURA	02
2.1	Fósforo e Cadeia Produtiva	02
2.2	Farinhas de Origem Animal (FOA).....	03
2.3	Fósforo e o Desenvolvimento das Aves...	05
2.4	Absorção de Fósforo pelas aves...	05
2.5	Terminologia do Fósforo	07
2.6	Metodologias para Determinação da Digestibilidade de Fósforo de Ingredientes.....	09
2.6.1.	Método Direto na determinação do Coeficiente de digestibilidade ileal estandardizada do fósforo (CdieP) de Ingrediente.....	10
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1	Instalações e Manejo Inicial das Aves.....	11
3.2	Dietas e Delineamento Experimental	14
3.3	Análises Bromatológicas	16
3.3.1	Granulometria: Determinação do tamanho da partícula.....	16
3.3.2	Análises Químicas.....	17
3.4	Cálculos de digestibilidade de fósforo do ingrediente: Método Direto.....	18
3.5	Análises Estatísticas.....	18
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
5	CONCLUSÕES.....	22
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
7	ANEXO I	31

1 INTRODUÇÃO GERAL

O fósforo (P) é o segundo mineral presente no organismo animal após o cálcio, sendo essencialmente utilizado nas vias de energia e durante a síntese celular de membranas, na regulação proteica e na transferência de informação genética (DILELIS et al., 2021). Desempenha também um papel fundamental no desenvolvimento e manutenção do sistema esquelético das aves, na manutenção do equilíbrio osmótico e ácido-base, além de estar envolvido no controle do apetite e eficiência alimentar.

A obtenção de P pelas aves, provém exclusivamente de fontes dietéticas, o que eleva o seu custo na produção. Igualmente, a eliminação do mineral em quantidades elevadas na excreta, pode resultar em sérios problemas ambientais, como a eutrofização de mananciais, causado pela diminuição do oxigênio dissolvido na água.

As rações para frangos de corte são compostas principalmente por ingredientes de origem vegetal, tais como o milho e farelo de soja, ricos em fósforo, porém a maior parcela do mineral se encontra complexada na forma de fósforo fitico, indisponível para as aves. As dietas avícolas são em geral formuladas preconizando atender os níveis de fósforo disponível ou fósforo não-fitico (Pnf), sendo frequentemente usado como suplemento o fosfato bicálcico, ingrediente finito que apresenta alta disponibilidade do mineral, porém a um custo elevado.

A utilização de dados em fósforo disponível, não considera a parte fosfórica do fitato, que pode ser aproveitada pelo animal, assim como considera incorretamente que toda fração de Pnf é totalmente absorvida pelo animal. A digestibilidade ileal pode ser a medida mais aproximada do que seria o fósforo realmente disponível para as aves, visto que, a maior parte da absorção de fósforo acontece no duodeno e na porção proximal do jejuno. O conteúdo fosfórico da digesta ileal não é influenciado pela urina, principal forma de excreção deste mineral para a manutenção da fosfatemia (BÜNZEN, 2009; DILELIS, 2020).

As metodologias principais para determinação dos valores de digestibilidade ileal do fósforo de ingredientes são os métodos de regressão, de substituição e o direto. O método direto é utilizado para estimar a digestibilidade ileal aparente do fósforo dos ingredientes com alto teor de fósforo (MUTUCUMARANA et al., 2014a). O método direto se destaca para a avaliação de ingredientes de origem animal em que o ingrediente teste é a única fonte de P na dieta (Mutucumarana e Ravindran, 2016). Considerando que a digestibilidade medida é aparente é necessário corrigir as perdas endógenas.

São escassas as informações acerca da temática de mensuração do conteúdo de fósforo digestível em farinhas de peixe. Essa informação é necessária para a formação de bancos de dados com informações mais precisas de composição nutricional de ingredientes utilizados na formulação de dietas avícolas. A formulação de dietas baseadas em níveis de fósforo digestível pode ainda resultar em menor excreção de fósforo para o ambiente e ser uma estratégia de grande importância na elaboração de rações que contribuam com a minimização de impactos ambientais.

Os objetivos desse estudo foram determinar a composição química e os coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada de fósforo (CdIEP) de farinhas de peixe para frangos de corte.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fósforo e Cadeia Produtiva

O fósforo, componente químico não sintetizado pelo organismo, de símbolo P, descoberto e isolado na Alemanha em 1669 por Henning Brand, provém de fontes orgânicas ou inorgânicas, e responde por uma série de funções essenciais ao desenvolvimento animal (SUTTLE, 2010). Está presente em fontes de origem vegetal, como nos cereais, a animal, como em farinha de peixe, carne, carne e ossos, autoclavadas ou calcinadas e mineral, em fosfatos inorgânicos (LIMA et al., 1997, BUTOLO, 2002 e PESTI et al. 2005).

As rações utilizadas na alimentação de frangos de corte, em sistemas de criação intensiva, representam aproximadamente 80% dos custos totais de produção. Em sua composição, fontes energéticas e proteicas, seguidas pelo P, nesta ordem, são estimadas como os ingredientes mais onerosos a serem supridos aos animais (CRUZ e RUFINO, 2017).

DEVEREUX et al. (1994) estimaram que a produção avícola foi responsável por aproximadamente 50% do consumo mundial de fosfatos utilizados na nutrição animal. Para suprir a demanda de Pnf na dieta, a demanda por fosfatos inorgânicos, um recurso finito, no Brasil e no mundo, aumentou consideravelmente (VAN DER KLIS et al. 1999). Por razão do aumento considerável do consumo deste insumo, na produção vegetal e animal, as reservas de fósforo globais podem se esgotar, a curto prazo, por serem limitadas (NESET E CORDELL et al., 2012).

Os ingredientes de origem vegetal, principalmente os cereais, como o milho e o farelo de soja, são as principais fontes de nutrientes utilizadas na formulação de dietas avícolas (LIMA et al., 1997). Li et al. (2016) e Cowieson et al. (2017) afirmaram que uma parcela considerável de fósforo dos ingredientes vegetais, está complexada em moléculas de fitato (mio-inositol), um poderoso quelante de proteínas, aminoácidos, amido, cátions e enzimas que, em dietas comerciais, são difíceis de serem hidrolisadas, não permitindo assim, um maior aproveitamento do fósforo pelas aves.

Rostagno et al. (2017) relacionaram que a maior parcela do fósforo presente nos cereais, está na forma de fósforo fítico, e que aproximadamente 70% do fósforo proveniente de fosfatos inorgânicos é digestível para aves, consequentemente sendo excretado em maior quantidade para o ambiente, por razão da não absorção intestinal. A maior excreção do mineral no ambiente, potencializa a poluição de ecossistemas aquáticos, encarece a produção e promove o esgotamento dos depósitos mundiais de fosfatos inorgânicos (NESET E CORDELL, 2012; MUTUCUMARANA et. al, 2014a).

A utilização de alimentos alternativos para substituição do milho e do farelo de soja, visando reduzir os custos produtivos e minimizando também a poluição ambiental, têm sido uma preocupação generalizada no sistema de produção e pesquisa avícola no Brasil e no mundo (CRUZ e RUFINO, 2017). Já o uso de subprodutos de origem animal na dieta de aves, tornou-se um caminho seguro e de custo acessível para suprir a demanda de fóforo não-fítico, visto que, para cada tonelada de carne destinada ao consumo humano, aproximadamente cerca de 300 kg são consideradas como não comestíveis e deste total descartado, aproximadamente 200 kg são destinados como farinhas de origem animal (CRUZ e RUFINO, 2017).

Para reduzir os custos de produção, devido à alta de preços e escassez das fontes de Pnf, a utilização de subprodutos de origem animal, como as farinhas de origem animal (FOA), com todo o seu teor fosfórico como fósforo não-fítico, pode ser fundamental para uma produção avícola eficiente e sustentável (SOUSA, 2019).

2.2 Farinhas de Origem Animal (FOA)

O Brasil processou aproximadamente 3,6 milhões de toneladas de farinhas de origem animal (FOA) em 2020, promovendo a produção de aproximadamente 122,5 mil toneladas de farinha de sangue; 2,1 milhões de toneladas de farinha de carne e ossos; 582,3 mil toneladas de farinha de penas, 680,6 mil toneladas de farinha de vísceras e 48,6 mil toneladas de farinha de peixe (ABRA, 2020). De acordo com a Associação Brasileira de Reciclagem Animal (ABRA), do total de farinha produzida no ano de 2020, 76,4% foi destinada à indústria da produção animal, 17,9% à indústria de *Pet food* e 5,7% demais indústrias (ABRA, 2020).

As farinhas de origem animal constituem-se por resíduos de abatedouros não destinados ao consumo humano, resultantes de um processamento que atenda a um padrão de qualidade e identidade preestabelecido, em relação aos aspectos higiênico-sanitários, tecnológicos e nutricionais, podendo ser utilizadas na alimentação de animais não ruminantes (BRASIL, 2019).

Em relação ao ingrediente peixe, é disponibilizada a listagem de ingredientes e veículos autorizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para uso na alimentação animal no Brasil (BRASIL, 2019):

Peixe, carne - produto resultante da industrialização de carcaças e partes de carcaças de peixes obtidos de estabelecimentos sob inspeção oficial, não podendo utilizar ossos, cartilagens, vísceras e cabeças. Em alguns casos pode conter pele. Poderá ser designado conforme a espécie utilizada no processo de fabricação e quando mais de uma espécie for utilizada no processo, será designada como carne de peixes desidratados (nome das espécies);

Peixe, carne desidratada - produto resultante da industrialização de carcaças e partes de carcaças de peixes e posteriormente desidratado por meios físicos. Não poderá utilizar ossos, cartilagens, vísceras, pele e cabeças. Poderá ser designado conforme a espécie utilizada no processo de fabricação; e, quando mais de uma espécie for utilizada no processo, será designada como carne de peixes (nome das espécies);

Peixe, carne mecanicamente separada - produto resultante de peixes, envolvendo o descabeçamento, a evisceração, a limpeza destes e a separação mecânica da carne das demais estruturas inerentes à espécie, como espinhas, ossos e pele. Poderá ser designado conforme a espécie utilizada no processo de fabricação e quando mais de uma espécie for utilizada no processo, será designada como carne mecanicamente separado de peixes (nome das espécies);

Peixe, farinha - produto resultante da industrialização de peixes e/ou de seus resíduos, com ou sem a extração de parte do óleo, podendo ser designada conforme a espécie utilizada no processo de fabricação. Quando mais de uma espécie for utilizada no processo, será designada de farinha de peixes (nome das espécies);

Peixe, hidrolisado - peixe de origem marinha, obtido de estabelecimento sob inspeção oficial, submetido à hidrólise enzimática, posterior remoção de ossos e estabilização para comercialização (líquido) ou secagem por *spray drier* (desidratado);

Peixe, óleo - produto resultante da extração de óleo de pescados e/ou seus subprodutos, podendo ser designado conforme a espécie utilizada no processo de fabricação. Quando mais de uma espécie for utilizada no processo, será designada de óleo de peixes (nome das espécies). Líquido ou pó (micronizado);

Peixe, óleo de fígado - produto resultante da extração de óleo do fígado de bacalhau, obtido de estabelecimentos sob inspeção oficial;

Peixe, óleo refinado (branqueado e desodorizado) - produto resultante da extração de óleo de peixe, obtidos de estabelecimentos sob fiscalização do serviço oficial competente, e posteriormente refinado (branqueado e desodorizado);

Peixe, proteína concentrada - subproduto correspondendo à fração proteica solubilizada por hidrólise ácida e/ou enzimática de farinha de peixe, após eliminação da fração gordurosa e

desidratação, podendo ser designado conforme a espécie utilizada no processo de fabricação ou seguir a classificação expressa em teor mínimo de proteína bruta. Quando mais de uma espécie for utilizada no processo, será designada de proteína concentrada de peixes;

Peixe, proteína hidrolisada - proteína obtida da hidrólise enzimática da carne de peixes, obtidos de estabelecimentos sob inspeção oficial, podendo o mesmo ser designado conforme a espécie utilizada no processo de fabricação;

Peixe, solúveis concentrados - subproduto da fabricação do óleo e da farinha de peixe, após concentração da fração aquosa (água de cola) do processo, podendo ser designado conforme a espécie utilizada no processo de fabricação ou seguir a classificação expressa em teor mínimo de proteína bruta. Quando mais de uma espécie for utilizada no processo, será designado de solúveis de peixes concentrados (nome das espécies);

Peixe, solúveis desidratados - subproduto da fabricação do óleo e da farinha de peixe, obtido após desidratação da fração aquosa (água de cola) do processo, podendo ser designado conforme a espécie utilizada no processo de fabricação ou seguir a classificação expressa em teor mínimo de proteína bruta. Quando mais de uma espécie for utilizada no processo, será designada de solúveis de peixes desidratados (nome das espécies). Todos estes subprodutos são proibidos a utilização na alimentação de animais ruminantes e devem ser obtidos de estabelecimentos sob inspeção oficial (BRASIL, 2019).

Algumas farinhas comerciais, são produzidas a partir de resíduos obtidos após o processo de filetagem destinado ao consumo humano e inclui espécies como tilápia e bacalhau, outro grupo inclui espécies como sardinha, cavala e anchova, das quais não se prioriza a retirada dos filés (MAIGUALEMA e GERNAT, 2003). As farinhas de peixe comercializadas, provenientes dos resíduos de tilápias, apresentam 68,6% de umidade, 42,9% de proteína bruta (PB), 34,6% de extrato etéreo e 16,3% de matéria mineral, porcentagem (%) na matéria seca. GERON et al., (2006).

A farinha de peixe é utilizada como excelente suplemento proteico para aves e suínos, sendo constantemente utilizada como principal fonte proteica em rações para aquicultura (MALLISON, 2013). Isso não se deve apenas ao seu excelente conjunto de aminoácidos, digestibilidade e palatabilidade, mas também por apresentar uma abundante fonte de nucleotídeos, ácidos graxos essenciais, fosfolipídios, minerais e vitaminas solúveis em gordura e água. (GALKANDA-ARACHCHIGE, WILSON e DAVIS, 2020).

A composição química constatada da silagem de peixes, nos estudos de Fernandes et al., (2007) resultantes dos resíduos da filetagem da tilápia indicou 30,63% de PB, 6150,8 Kcal/kg de energia bruta, 47,89% para extrato etéreo e 14,12% de matéria mineral, com alta digestibilidade e presença integral de aminoácidos constituinte do pescado. A silagem possui elevado valor biológico, abundância em proteína e ácidos graxos e teores mais elevados de lisina que os contidos na farinha de peixe, porém mais baixos em aminoácidos sulfurados (HIGUCHI, 2015). Para Sousa, (2019) a composição microbiológica e físico-química dos ingredientes é resultado da grande variabilidade existente dos mesmos e devido principalmente aos diferentes tipos de peixes, partes e forma de obtenção que são incluídos na farinha, levando a dificuldade da sua utilização na formulação de rações.

Inúmeros subprodutos agroindustriais necessitam ser estudados a fim de mensurar a sua empregabilidade em maior escala e possíveis diminuições do seu efeito residual poluente (GERON et al., 2006). Dentre estes subprodutos pode-se destacar: os resíduos da filetagem de tilápia (cabeça, carcaça e vísceras), por exemplo. O produto principal obtido do abate da tilápia é o filé, destinado ao consumo humano, o restante, aproximadamente 64% da matéria-prima é perdida durante o processamento, gerando resíduos com grande potencial para uso na alimentação animal (PONCE e GERNAT, 2002). A utilização de farinha de peixe na alimentação de frangos de corte proporciona redução dos custos de produção, promovendo reflexos positivos na viabilidade do sistema de produção avícola (BRUM JR. et al., 2007).

A grande variabilidade da composição das farinhas de origem animal pode gerar dificuldades para nutricionistas ao formularem dietas avícolas (BELLAVER et al., 2005).

2.3 Fósforo e o Desenvolvimento das Aves

O fósforo é essencial ao desenvolvimento animal, promovendo a manutenção da pressão osmótica da célula, formação dos ossos, tecido muscular, como componente dos ácidos nucleicos, formação dos fosfolipídeos, metabolismo de aminoácidos e em diversas funções fisiológicas, como regulação proteica e transferência da informação genética (BERNDT e KUMAR, 2009; SUTTLE, 2010), sendo considerado um modulador do apetite e da eficiência alimentar (RUNHO et al., 2001).

Durante o desenvolvimento embrionário da ave, o conteúdo do ovo representa a única fonte de P, visto que na casca a sua quantidade é diminuta. Portanto, é na gema que ocorre a maior fração deste nutriente que será utilizado, contendo aproximadamente 112 mg de P em 58 g de ovo. No albúmen, há apenas 5,2 mg de P / 58g de ovo e na casca a quantidade de P depositada é de aproximadamente 20mg (ANGEL, 2007). É importante que parte desse P seja retido na gema residual na eclosão e, conceitualmente, serve, pelo menos em parte, uma importante função de desenvolvimento para a síntese de fosfolipídios. Assim, uma grande proporção desse P residual não está disponível para o crescimento e mineralização óssea (ANGEL, 2007).

Ao nascer a ave apresenta cerca de 117,08 mg de fósforo total, dentre os quais: 59% é fósforo inorgânico, 18% está associado a proteínas, 11% associado a lipídios, 3% está associado a fosfágeno e esfingomielina. O esqueleto contém aproximadamente 362,8 mg de cinzas totais, 98 mg de Ca e 71,5 mg de P total, dos quais 65% é P inorgânico e 2,9% é P está associado a lipídios (HARMS, 1982; ANGEL, 2007).

Nas duas primeiras semanas após a eclosão do ovo, ocorre um rápido crescimento do sistema esquelético, com aumento acentuado da composição em cinzas do tecido ósseo de 19,87% no primeiro dia para 27,14% ao 14º dia, sendo o teor de fósforo presente no esqueleto no momento da eclosão de 58,5 mg, ao 10º dia de 528,7mg e no 14º dia de idade de 862,6mg (ANGEL, 2007).

Aves em crescimento, apresentam aproximadamente 85% do P no esqueleto (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2004). O restante, encontra-se distribuído nos fluidos corporais e tecidos moles, promovendo assim a manutenção óssea (SUTTLE, 2010). Igualmente, por estar diretamente relacionado aos níveis séricos de cálcio, tanto os seus excessos, quanto a sua deficiência no organismo animal, podem acarretar problemas no desenvolvimento ósseo das aves, tais como o raquitismo e a discondroplasia tibial (DINEV, 2012; FERNANDES, 2012).

2.4 Absorção de Fósforo pelas Aves

Atualmente é descrito como principal regulador conhecido relacionado a homeostase do fósforo, o hormônio paratireoide (PTH), que atua por meio dos receptores sensíveis ao cálcio, o que reduz de forma direta a excreção deste mineral via urina e, indiretamente via excretas (por ação da vitamina D) e, também é responsável pelo aumento da excreção de P, devido sua ação sobre os ossos, liberando íons fosfato na circulação (SILVA, 2014).

No lúmen intestinal, em presença da alta carga negativa do grupamento fosfato, o fósforo pode se quelatar com outros nutrientes, diminuindo a sua solubilidade e disponibilidade, impossibilitando assim a absorção pelo animal (SELLE et al., 2009). Tanto fatores dietéticos, como por exemplo: o nível cálcio, a presença de fitato, inclusão de fitase e a vitamina D₃, quanto fatores relacionados ao estado fisiológico da ave: pH intestinal, composição da dieta, idade do animal, processamento da fonte, concentração do mineral na ração, influenciam a digestibilidade de fósforo (TEIXEIRA et al., 2005).

O fósforo e o cálcio interagem durante a sua absorção, metabolismo e excreção. O fósforo nas aves, é absorvido no lúmen intestinal, em sua forma inorgânica, tanto a forma monovalente $H_2PO_4^-$, quando na bivalente HPO_4^{2-} (QUAMME, 1985), onde a absorção adequada de fósforo só ocorrerá se a concentração de cálcio estiver ideal na dieta (FURTADO, 1991). Igualmente, em frangos, a absorção do fósforo ocorre por toda a região do intestino delgado, com a maior fração absorvida até a porção proximal do jejuno (HURWITZ e BAR, 1970).

Cabe salientar que a deficiência de cálcio influencia diretamente na biodisponibilidade do fósforo no organismo animal, limitando o aproveitamento do fósforo absorvido. Por sua vez, altas concentrações de Cálcio, reagem com o fósforo no lúmen, formando dessa forma compostos insolúveis no intestino, o que interfere, na absorção de ambos os nutrientes (ANDERSON et al., 1995). Preconiza-se a relação de 2:1 (cálcio:fósforo), para a maioria das rações de aves, com exceção as de postura, pois um desbalanço destes minerais, compromete severamente o processo de absorção de ambos componentes (NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC, 1994).

De acordo com Liu et al. (2016), os mecanismos envolvidos na absorção intestinal de P não são totalmente compreendidos em aves. Presume-se que durante a absorção de fósforo no intestino delgado de animais, dois mecanismos são descritos: o transporte ativo, o qual ocorre através de cotransportadores dependentes de sódio e transporte dependente da difusão passiva, através do gradiente de concentração (MAIORKA e MACARI, 2002).

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 (LIU et al., 2016).

O transporte ativo é dependente de energia e sódio, sendo estimulado pela presença de vitamina D. Nesse transporte é utilizada a energia proveniente da bomba sódio-potássio ATPase (Na/K -ATPase) (MAIORKA e MACARI, 2002; AUMAN, 2003). Igualmente, a captação do sódio e do fósforo na membrana apical dos enterócitos é mediado por cotransportadores de sódio/fosfato ($NaPi$) (FIGUEIREDO JR et al., 2018).

Dentre os diferentes tranportadores envolvidos na absorção intestinal, o transportador Tipo I não apresenta um papel bem delimitado, possuindo características sugestivas de que não seja um transportador de grande importância para região da membrana borda em escova (YAN et al., 2007). O transportador do tipo II está diretamente relacionado a regulação da absorção intestinal e na reabsorção a nível renal. De acordo com sua estrutura, distribuição tecidual e pH de atuação, são divididos em: $NaPi$ IIa, IIb e IIc. (LIU et al., 2016).

A expressão do cotransportador ativo de fósforo na membrana intestinal, $NaPi$ -IIb, é influenciado pela idade da ave, alcançando um máximo com 03 (três) semanas de vida e redução até a sexta semana (LI et al., 2016; Han et al., 2018). Segundo Han et al., (2018) a idade da ave pode influenciar a diretamente na digestibilidade de fósforo, apresentando maior expressão do principal transportador de fósforo da membrana, influenciando assim diretamente na digestibilidade de fósforo em indivíduos com diferentes fases.

O $NaPi$ -IIb é uma proteína que recentemente demonstrou desempenhar um papel central no transporte de P no intestino delgado de animais (LIU et al., 2016). O tipo IIa e IIc são expressos basicamente nas membranas apicais das células epiteliais dos túbulos renais, enquanto o cotransportador do tipo IIb, considerado o principal cotransportador de $NaPi$ é expresso principalmente nas membranas da borda em escova do epitélio do intestino delgado. (LIU et al., 2016).

Hu et al. (2018) relataram que cotransportadores inorgânicos denominados PiT1 e PiT2, estão presentes na membrana apical do enterócito de frangos, estando relacionados na absorção de fósforo. Foi evidenciado também que baixas concentrações dietéticas de fósforo estão relacionadas a maior expressão gênica de cotransportadores do tipo $NaPi$ IIb, aumentando assim eficiência de absorção do fósforo (Hu et al., 2018).

Han et al. (2009) demonstraram que frangos de corte suplementados com análogos de vitamina D, aumentaram a absorção de fósforo, assim como apresentaram maior expressão gênica do cotransportador NaPi IIb nos segmentos do intestino. A regulação da absorção intestinal é estimulada, pelo $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, tal qual o Ca^{2+} (ADEDOKUN e ADEOLA, 2013), sendo aproximadamente 60 a 70% do PO_4^{3-} dietético (fator fundamental na regulação), absorvidos por transporte ativo, em que a vitamina D_3 modula e regula o transportador do fósforo (Pi) e pelas concentrações de Pi no lúmen intestinal, uma vez que a presença de íons (ferro, magnésio, alumínio e cálcio) reduz a biodisponibilidade de P (FIGUEIREDO JR et al., 2018).

2.5 Terminologia do Fósforo na nutrição de aves

Atualmente, três medições, são destinadas ao fósforo; P não-fítico (não-fitato), P disponível e P retível (retido), são usadas para descrever a disponibilidade de P nos ingredientes da ração. A utilização de várias nomenclaturas impossibilita uma melhor padronização e dificulta aos nutricionistas a formulação ideal de rações (DILELIS et al., 2020).

Das várias possibilidades, no entanto, a medição do P digestível pode ser o método preferível para avaliar a disponibilidade de P para as aves (RODEHUTSCORD, 2009; ANGEL, 2011; SOUSA, 2019). Entretanto, diversos grupos de pesquisa e nutricionistas no mundo utilizam o termo fósforo disponível, sem considerar uma padronização do que este termo realmente significa (DILELIS et al., 2020).

Apresentar critérios bem definidos é uma necessidade para permitir uma maior eficiência da utilização do P. Tabelas de composição de diferentes ingredientes, utilizam conceitos heterogêneos entre si para o termo fósforo disponível (NRC, 1994; GARZILLO, 1996; RUNHO et al., 2001; INRA, 2002, SAUVANT et al., 2004; CORTELAZZI, 2006; FEDNA, 2010; ROSTAGNO et al., 2017; CVB, 2018).

Ultimamente, a maneira adotada para quantificação do fósforo, vem sendo questionada, pois formas de avaliação como fósforo disponível, fósforo não-fítico e fósforo retido podem levar a resultados superestimados da exigência estandardizada de fósforo das aves, ocasionando um excesso na excreção do mineral (WPSA, 2013). As mensurações da digestibilidade do fósforo têm sido recomendadas, com o intuito de padronizar o método de avaliação do conteúdo de fósforo presente nos alimentos e nos fosfatos inorgânicos (JUNIOR, 2017).

O fósforo disponível, termo até então proposto para expressar o valor fósforico de um ingrediente, sinônimo de fósforo não-fítico é representado pela equação: fósforo disponível (%) = fóstoro total (%), diminuído do fósforo fítico (%). Esse conceito permite obter valores quantitativos com maior facilidade, porém leva em consideração que todo o fósforo não-fítico vai ser absorvido pela ave, e que todo o fósforo fítico não é capaz de ser utilizado pelas aves, não expressando a realidade em relação a utilização do fósforo de ingredientes ingerido pelas aves (DILELIS et al., 2020).

De acordo com SOUSA (2019), tabelas de composição de ingredientes utilizam o termo fósforo disponível baseados na biodisponibilidade de fósforo dos ingredientes. Diversos autores utilizaram o termo fósforo disponível, baseando-se principalmente em tabelas de composição de ingredientes, porém, como indicado por SOUSA (2019), 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.

Embora haja um interesse crescente na indústria de mudar para um sistema digestível de P em formulações de rações, os dados publicados são limitados e estão relacionados apenas aos conteúdos de P digestível em ingredientes de rações para aves (DILGER e ADEOLA, 2006;

MUTUCUMARANA et al., 2014b; MUTUCUMARANA et al., 2015; MUTUCUMARANA e RAVINDRAN, 2016; DILELIS et al., 2020).

Ensaios de biodisponibilidade só fornecem um determinado valor biológico quando comparados a uma fonte padrão, não medindo assim a biodisponibilidade estandardizada ou aparente de forma quantitativa, sendo considerada uma análise basicamente qualitativa. (SOUSA, 2019). 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).

A *CENTRAAL VEEVOEDER BUREAU* - CVB (2018) implementou o sistema de nomenclatura de fósforo digestível para aves em formulações de dietas avícolas. Tais orientações, reafirmam o conceito sobre a digestibilidade de fósforo dos alimentos ofertados para aves, baseando-se na determinação do coeficiente de absorção sob condições adequadas; um período de coleta entre o 21º e 24º dias de idade e uma dieta semissintética, com um teor de fósforo digestível estimado de 1,8 g/kg e um teor de Ca de 5,0 g/kg (SOUSA, 2019). Para que a excreção do fósforo pela urina seja considerada insignificante, recomenda-se a utilização de baixos valores de fósforo disponível, ou seja, todo o fósforo excretado tenha origem da fração da alimentação em que não foi absorvido (SOUSA, 2019). Sendo assim, uma porcentagem do fósforo fítico poderá ser quebrada e absorvida, porém em condições experimentais os valores de fósforo e cálcio são mais elevados que em dietas comerciais (CVB, 2018).

O grupo de trabalho nº 2 de Nutrição da Federação Europeia da *World's Poultry Science Association* (WPSA, 2013), destacou que a digestibilidade ileal pode ser mensurada de maneira aproximada do que seria o fósforo realmente disponível para as aves, visto que a absorção do fósforo ocorre em maior quantidade no duodeno e na porção proximal do jejuno. O organismo animal realiza a excreção, a fim de manter a fosfatemia, como o conteúdo fosfórico da digesta ileal não é influenciado pela urina, o fósforo retido equivale a digestibilidade do macromineral (P).

De acordo com Sousa (2019), os nutricionistas da *World's Poultry Science Association* propuseram a utilização dos seguintes termos como padrão de nomenclatura do teor fosfórico de ingredientes e dietas: 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) - 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) - 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), 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 ileal (Pdpc) - 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.

A utilização do fósforo total (Pt) dos ingredientes pode ser afetada pela oferta dietética de P, relativa à exigência e estado metabólico do animal (SOUSA, 2019). A padronização do

valor de disponibilidade fosfórica como fósforo digestível ileal (Pdpc) visa diminuir a utilização simultânea de outros tipos de medição do valor fosfórico de ingredientes, não sendo aconselhada a utilização e determinação de valores de fósforo retido (Pr), sendo assim o grupo de Trabalho Nº: 2 recomendou o uso de Pdpc como o método de escolha para a determinação de P. (WPSA, 2013). A atividade microbiana pós ileal, pode influenciar os valores de fósforo retido, enquanto o Pdpc tem menor influência desta microbiota (SHASTAK e RODEHUTSCORD, 2013).

A biodisponibilidade relativa de P, utiliza 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 (WPSA, 2013).

2.6 Metodologias para Determinação da Digestibilidade de Fósforo de Ingredientes

De acordo com FAN et al. (2001) um mesmo ingrediente pode apresentar valores de digestibilidade amplamente variáveis, pois a real utilização do P do ingrediente pelas aves é subestimada pela digestibilidade aparente de P e em ingredientes isolados, os valores de digestibilidade aparente podem não ser aditivos quando utilizados em formulações de dietas avícolas, influenciando diretamente os valores de digestibilidade aparente de P.

ADEDOKUN et al. (2008) preconizaram a coleta do conteúdo ileal de aves, em ensaios de metabolismo, para avaliar a digestibilidade de proteínas e aminoácidos de ingredientes nas dietas avícolas. As utilizações de coleta ileal têm sido priorizados, para análise da digestibilidade de fósforo e mensuração da taxa de desaparecimento na porção final do íleo, visto que, os valores obtidos não são influenciados pela atividade de microrganismos da microbiota do intestino grosso e efeitos da fermentação cecal são excluídos, não sofrendo interferências da excreção de P urinário (SHASTAK e RODEHUTSCORD, 2013).

Os indicadores amplamente utilizados para determinação da digestibilidade ileal, são considerados substâncias indigestíveis que permitem estimar o aproveitamento de nutrientes (OLUKOSI et al., 2012; SAKOMURA e ROSTAGNO, 2016). Estes indicadores estão representados pelo óxido de cromo (Cr_2O_3), o dióxido de titânio (TiO_2) e a cinza insolúvel em ácido (CIA), com característica de serem inertes, não são digeridos ou absorvidos pelas aves, frequentemente utilizados na avaliação de alimentos (STEFANELLO et al., 2016; PIENIAZEK et al., 2016; SCHRAMM et al., 2016), embora existam divergências com relação ao método de coleta, o tipo e o nível do indicador utilizado (SMEETS et al., 2015; OLUKOSI et al., 2017).

O óxido crômico é um indicador constantemente utilizado em ensaios de digestibilidade, podendo ser prejudicial quando inalado ao se misturar a ração e durante a moagem do material fecal dos animais que consumiram este material (TITGEMEYER, 1997). Mutucumarana e Ravindran (2016), concluíram que o uso de dióxido de titânio foi mais apropriado do que o uso de óxido crômico nesses ensaios. Os indicadores citados determinam o fator de indigestibilidade (FI), relação entre as concentrações na dieta e na digesta de determinado indicador, como por exemplo: o dióxido de titânio utilizado no presente estudo, apresentando a equação sugerida por Sakomura e Rostagno (2016): $\text{FI} = [\text{TiI} / \text{Tif}]$. 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 e correlacionando FI com concentrações [P] na dieta ileal obtém-se o coeficiente de digestibilidade ileal aparente do P (CdiaP) da dieta (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2016).

Dilger e Adeola, (2006) descreveram que no método de regressão a perda endógena é calculada como o intercepto da curva, não exigindo utilização de dieta purificada. Verardi (2017) e Sousa (2019) relataram a ocorrência de perdas endógenas negativas, quando utilizado

o método de regressão em frangos de corte, o que pode ser uma limitação da utilização mais ampla deste método.

O método direto é menos trabalhoso, relativamente mais barato e simples em comparação com o método de regressão, uma vez que é necessário um número muito menor de dietas, podendo ser utilizado para estimar a digestibilidade ileal aparente do fósforo dos ingredientes de origem animal (MUTUCUMARANA e RAVINDRAN, 2016). Outrossim, MUTUCUMARANA e RAVINDRAN, (2016) preconizaram a utilização de dietas livres de fósforo para determinar perdas endógenas, nos métodos direto e de substituição.

Diferenças entre o método direto e o método de regressão podem estar associadas ao ingrediente teste (MUTUCUMARANA e RAVINDRAN, 2016). Essas diferenças também acontecem com a digestibilidade de cálcio do fosfato bicálcico não sendo exclusivas apenas da determinação da digestibilidade de fósforo (ANWAR et al, 2018). Dilelis et al. (2021) relataram que o método direto foi o mais preciso para a determinação da digestibilidade estandardizada do fósforo em farinha de peixe.

2.6.1 Método Direto na determinação do Coeficiente de digestibilidade ileal estandardizada do fósforo (CdieP) de Ingredientes

Lemme et al. (2004) relataram que no método direto, usado para determinar a digestibilidade de P em ingredientes com baixo teor de P, a digestibilidade aparente de P pode ser subestimada, em razão do P endógeno na digesta estar em grande proporção. O método direto, necessita que o ingrediente teste seja a única fonte de P, para se estimar a digestibilidade do mineral, sendo o valor de digestibilidade do P do ingrediente o mesmo valor do coeficiente de digestibilidade ileal aparente do fósforo (CdiaP) (MUTUCUMARANA E RAVINDRAN, 2016). Adicionalmente, com a correção para a estimativa de perdas de P endógenas (PEP), se obtém o valor de digestibilidade verdadeiro (DILELIS et al., 2021).

Mutucumarana e Ravindran, (2016) utilizando o método direto para a determinação do CdieP de quatro diferentes farinhas de carne e ossos encontraram valores entre 44% a 62%, indicando que essas farinhas não tem um alto aproveitamento pelas aves como o esperado, apesar das farinhas apresentarem 100% de fósforo não-fítico, sendo as perdas endógenas estimadas em 354 mg/kgMS ingerida.

No método direto, duas dietas deverão ser oferecidas as aves, uma livre de fósforo para a determinação das perdas endógenas, outra onde o ingrediente teste é a única fonte de fósforo na dieta, considerando também que, para cada ingrediente extra a ser avaliado, será necessário a formulação de apenas mais uma dieta teste e apenas uma dieta para determinação das perdas endógenas (DILELIS et. al., 2021).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Metabolismo Animal do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens (DNAP), 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 (CEUA) do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, sob o número do protocolo 0105-05-2020.

3.1 Instalações e Manejo Inicial das Aves

Foram adquiridos 500 pintos de corte machos, de 01 (um) dia de idade, da linhagem Cobb 500, procedentes de um incubatório comercial. Os pintos foram vacinados contra as doenças de Marek, Bouba Aviária e Newcastle e tinham a certificação de provenientes de matrizes livres para Micoplasma e Salmonela.

As aves foram alojadas no Setor de Avicultura, da Coordenação de Produção Integrada ao Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRJ), localizada no município de Seropédica – RJ, latitude 22°45'S, longitude 43°41'W.

Os pintinhos, inicialmente, foram alojados em galpão convencional, sobre cama de maravalha, em um círculo de proteção, com abertura gradativa conforme o crescimento. Era fornecido inicialmente aquecimento por campânula a gás no centro do círculo, para o controle da temperatura.

Foram utilizados comedouros tipo bandeja e bebedouros infantis tipo pressão (Figura 1). Seguindo-se orientações de Rostagno et al. (2017) foi formulada uma ração referência (Tabela 1).

A partir do sétimo dia de idade, os comedouros e bebedouros infantis foram substituídos gradativamente por comedouros tubulares e bebedouros pendulares. Aos 14 dias de idade o círculo de proteção foi retirado e o restante dos equipamentos infantis foram substituídos. O programa de iluminação utilizado seguiu o padrão utilizado em granjas comerciais, com 16 horas de luz (natural + artificial) e 8 horas de escuro (BRASIL, 2014).



Figura 1. Pintinhos com 01 dia de idade.

Tabela 1. Dieta pré-experimental fornecida até o 18º dia de idade das aves.

Ingrediente	Quantidade (%)
Milho grão	54,36
Farelo de soja	37,64
Óleo de soja	3,88
Fosfato bicálcico	1,73
Calcário	0,81
Sal comum	0,51
DL-metionina	0,35
L-lisina HCL	0,25
Suplemento mineral ¹	0,12
Suplemento vitamínico ²	0,12
Cloreto de colina (60%)	0,08
L-treonina	0,10
BHT ³	0,01
% Nutrientes calculados	
Cálcio	0,878
Fósforo disponível	0,419
Energia metabolizável (EM- Kcal/Kg)	3050
Proteína Bruta	24,67
Sódio	0,218
Lisina digestível	1,256
Metionina digestível	0,638
Met + Cis digestível	0,929
Triptofano digestível	0,247
Valina digestível	0,902

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.

Ao 15º dia de idade as aves foram pesadas individualmente, e obteve-se um maior número de aves com faixa de peso variando entre 475 a 550 gramas. Assim, 216 aves foram selecionadas e distribuídas aleatoriamente em gaiolas metabólicas para compor as unidades experimentais. As gaiolas metabólicas possuíam dimensões de 90 cm de comprimento, 45 cm de largura e 40 cm de altura e foram dispostas em baterias metálicas de três andares, sendo cada andar subdividido em quatro compartimentos totalizando 36 gaiolas. Todas foram equipadas com um comedouro tipo calha e um bebedouro tipo copo.

Do 15º ao 18º dia de idade, foi realizada a adaptação das aves às gaiolas experimentais pelo método de pesquisa descritos pelos autores Sakomura e Rostagno, 2007 (Figuras 2 A e 2 B). Aos 19 dias de idade as aves foram pesadas novamente para a determinação do peso inicial e se iniciou o fornecimento das dietas experimentais, totalizando três dias (até o 21º dia), segundo Sakomura e Rostagno, (2007). Segundo os autores Babatunde et al. (2019), alimentar frangos de corte com dietas deficientes em P por um longo período podem influenciar a digestibilidade do P por essa razão, a digesta foi coletada em até 72 horas. Ração e água foram fornecidas à vontade.



Figura 2. Gaiolas metabólicas equipadas com comedouro tipo calha (A) e bebedouro tipo copo (B).

No 22º dia, as aves foram estimuladas a consumir ração através da movimentação dos comedouros e o fornecimento da mesma, 2 horas antes do abate. Posteriormente, todas as aves foram pesadas e o consumo de ração foi estimado para o cálculo do consumo de ração, ganho de peso e a conversão alimentar por unidade experimental.

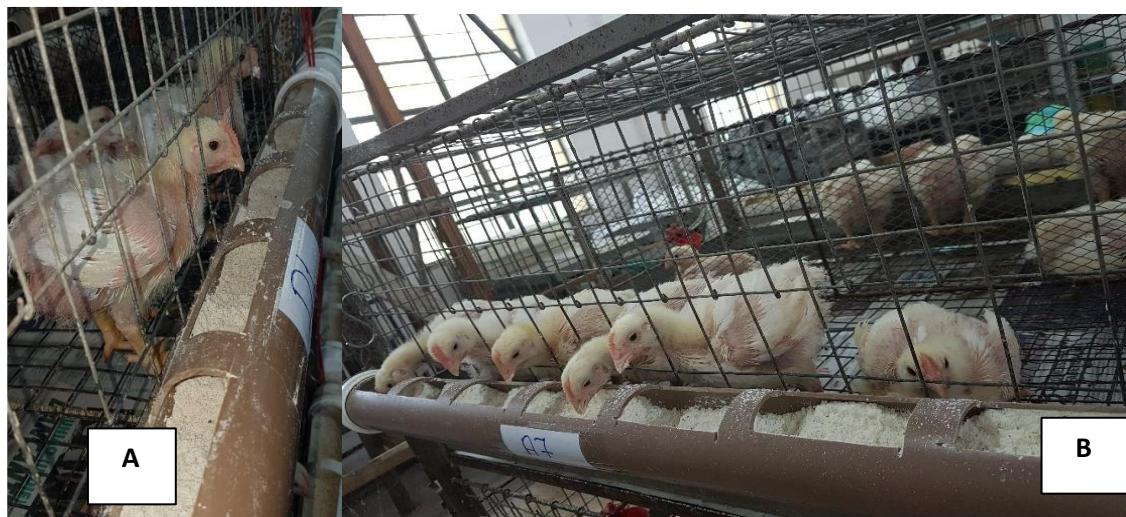


Figura 3. Fornecimento das dietas experimentais (A e B).

As aves de cada repetição foram insensibilizadas em atmosfera controlada (saturação de CO₂), com posterior sangria e abertura da cavidade celomática para a retirada do intestino, possibilitando a identificação do divertículo de meckel (1) e a junção íleocecocólica (2) sendo as estruturas que definem respectivamente o início e o fim do íleo das aves. O íleo foi então exposto, utilizando para o experimento o conteúdo da metade distal (a metade próxima à junção ileocecocólica). Uma leve abertura pela borda mesentérica foi realizada para a retirada da digesta, lavando a luz do órgão com água destilada, posteriormente o conteúdo foi depositado em vasilhame plástico e identificado por gaiola experimental. Portanto, o conteúdo ileal de seis aves compôs a amostra de cada unidade experimental (Figura 4 A e B).

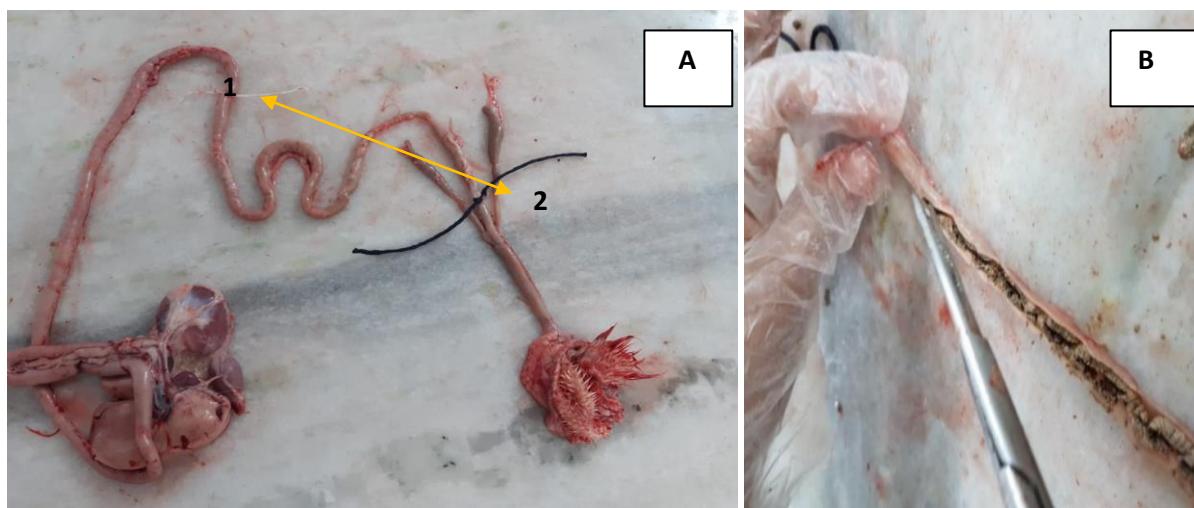


Figura 4. Identificação do divertículo de meckel (1) e a junção íleocecocólica (2) (A). Abertura da cavidade abdominal para a coleta do conteúdo do íleo (B).

Durante o período experimental o programa de luz utilizado foi o de luz natural. O local do experimento contava com três ventiladores para circulação de ar. A temperatura durante o período experimental foi aferida, apresentando registros de máxima de 28°C e mínima de 26°C (Tabela 02).

Tabela 2. Temperatura e Umidade obtidas na 3^a semana.

Local	Semanas	Dias	Data	Temp °C Média	Umidade
Gaiola Metabólica	3 ^a semana	15	09/09/2020	26,2	62%
		16	10/09/2020	27,2	51%
		17	11/09/2020	27,5	62%
		18	12/09/2020	29,9	47%
		19	13/09/2020	29	62%
		20	14/09/2020	30,6	34%
		21	15/09/2020	28,1	61%
		Média		28,1	61%
Abate		22	16/09/2020	-	-

3.2 Dietas e Delineamento Experimental

A farinha de peixe foi doada pela Indústria de Rações Patense, localizada no município de Tanguá, no estado do Rio de Janeiro, Brasil. Para a condução deste estudo, foi feita a análise para a determinação da composição bromatológica da farinha de peixe. Foram formuladas três dietas relativas as rações semi-purificadas, com diferentes porcentagens de farinha de peixe 55%, 60% e 65% de proteína bruta (PB), onde o alimento teste (farinha de peixe) foi a única fonte de fósforo e uma dieta purificada.

A ração purificada (RC) foi formulada para atender a determinação das perdas endógenas, de acordo com a metodologia para a determinação dos valores de digestibilidade ileal do fósforo pelo método direto (Tabela 2). As rações semi-purificadas formuladas com

amido de milho e açúcar. Previamente, as formulações de cada farinha de peixe foram analisadas para o teor de fósforo total, sendo incluídas em cada dieta teste para atender as exigências de fósforo disponível para a idade de 8-21 dias (0,419%) de acordo com (ROSTAGNO et al., 2017). Assim, a dieta FP 55% continha 11,90% de inclusão da farinha de peixe 55% PB; a dieta FP 60% continha 10,80% da farinha de peixe 60% PB; e a dieta FP 65% continha 14,02% da farinha de peixes 65% PB.

O dióxido de titânio (TiO_2) foi adicionado em todas as dietas ao nível de 0,5% como indicador indigestível, para o cálculo do fator de indigestibilidade. Em cada unidade experimental o desempenho zootécnico calculado foi: o consumo de ração, compreendendo a diferença entre a quantidade da ração fornecida e as sobras nos comedouros, o ganho de peso, correlacionado ao peso médio do frango no início e no final do período experimental, e a conversão alimentar compreendida entre a relação do consumo médio de ração e o ganho de peso dos frangos.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (dietas experimentais), nove repetições (36 gaiolas metabólicas) e seis aves por unidade experimental, totalizando 216 aves.

Tabela 3. Dietas experimentais para determinação do fósforo digestível da farinha de peixe pelo método direto em frangos de corte de 19 a 21 dias de idade.

Ingrediente	RC (Livre)	Dietas experimentais (%)		
		FP 55%	FP 60%	FP 65%
Amido	50,54	39,07	39,97	36,82
Açúcar	30,00	30,00	30,00	30,00
Farinha de peixes	-----	11,90	10,80	14,02
Albumina	10,00	10,00	10,00	10,00
Fibra dietética ³	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de soja	2,00	2,00	2,00	2,00
Carbonato de potássio	1,049	0,907	0,939	0,906
Bicarbonato de sódio	0,328	0,214	0,371	0,388
Sal comum	0,325	0,146	0,162	0,114
TiO ₂	0,500	0,500	0,500	0,500
Suplemento vitamínico ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Suplemento mineral ¹	0,100	0,100	0,100	0,100
Cloreto de colina	0,055	0,055	0,055	0,055
S		Valores Calculados		
Energia metabolizável kcal/kg	3278	3260	3248	3239
Proteína bruta %	8,570	15,432	14,981	17,835
Potássio %	0,598	0,598	0,598	0,598
Sódio %	0,218	0,218	0,218	0,218
Cloro %	0,194	0,194	0,194	0,194
Fósforo nf %	-	0,419	0,419	0,419
Cálcio %	-	0,803	0,804	0,804
V		Valores analisados		
Fósforo	0,028	0,482	0,509	0,530

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.

³ Opticell® C5 eubiotic fibre (BIOSEN, Salto, SP, Brazil). Composição: 65% fibra bruta.

3.3 Análises bromatológicas

3.3.1 Granulometria: Determinação do tamanho da partícula

No laboratório de Nutrição Animal DNAP/IZ, realizou-se a homogeneização das amostras de cada grupo em um saco maior. Em seguida, pesou-se individualmente as peneiras vazias e foi feita a anotação dos devidos pesos (*P_{i1}*). Coletoou-se duas amostras, estas foram pesadas em duplicata de cada grupo (farinha de peixe 55%, 60%, 65% PB), aproximadamente 200 g da amostra (*P*) e depositadas em seis peneiras metálicas de diâmetros diferentes identificadas em ordem crescente de abertura de malha (37, 105, 297, 595, 1000, 2000 µm), Figura 5 A, 5 B, 5 C, 5 D, 5 E e 5 F (ZANOTTO et al., 2016).

Posteriormente foram acopladas ao agitador de peneiras, por 10 minutos. As quantidades retidas nas peneiras foram pesadas individualmente ($Pi2$) em balança de precisão, e o diâmetro geométrico médio (DGM) e o desvio padrão geométrico (DPG) foram calculados para cada amostra através do método alternativo do software Granucalc desenvolvido por Zanotto et al. (2013), como demonstrado no **ANEXO I**.

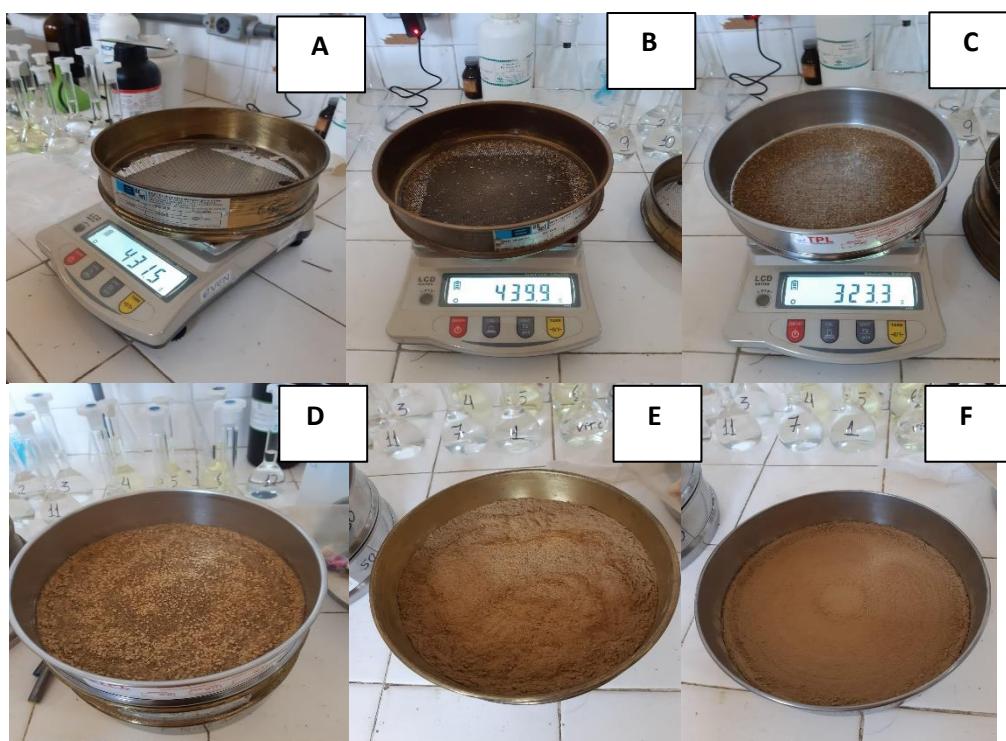


Figura 5: A - Peneira N°: 37 μm , B – Peneira N°: 105 μm , C - Peneira N°: 297 μm , D - Peneira N°: 595 μm , E - Peneira N°: 1000 μm e F - Peneira N°: 2000 μm . – NBR NM 248 (ABNT, 2001).

Cálculo do peso da fração do ingrediente retido em cada peneira (PRi):

$$PRi = (Pi2 - Pi1)$$

Onde:

PRi = peso retido na peneira i;

$Pi2$ = peso da peneira i, mais a fração retida;

$Pi1$ = peso da peneira i;

Cálculo da percentagem do ingrediente retido em cada peneira (%R):

$$\%R = (PRi \times 100) / P$$

Onde:

%R = percentagem retida em cada peneira;

P = peso da amostra.

A %R é multiplicada por fatores convencionados e constantes que decrescem de seis a zero com o decréscimo dos furos as peneiras.

3.3.2 Análises químicas

As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens (DNAP) no Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

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

A matéria seca das farinhas de peixe e das amostras experimentais foram determinadas através de secagem em estufa de esterilização por 24h, à 105° C (método 930.15; AOAC, 2005). Após a secagem, os cadinhos foram colocados no dessecador por uma hora para depois serem pesados em balança de precisão.

Para a determinação da matéria mineral as amostras foram analizadas 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. De acordo com Detmann et al., 2012, as cinzas obtidas sofrem uma digestão ácida para preparo da solução mineral, portanto, foram transferidas quantitativamente para bêquer de 250ml, com o uso de 40 ml de solução de HCl 1:1. Após, o bêquer 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 e a solução foi filtrada em papel de filtro faixa preta quantitativo tipo Whatmann 41, para o balão volumétrico de 100 ml. O conteúdo do bêquer foi lavado com água destilada aquecida, e o volume do balão completado até o menisco. A proteína bruta foi determinada através do método de Kjedahl (método 954.01; AOAC, 2005), utilizando-se o fator de correção 6,25.

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 0,1 mg/ml de fósforo. Em um balão de 50 ml foram adicionados 5 ml de molibdato de amônio ácido, 1 ml da solução mineral e 2 ml de vitamina C a 4%. O volume foi então completado até o menisco e após 6 minutos, para desenvolvimento de cor, procedeu-se a leitura em colorímetro UV, visível a 725nm.

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 micro Kjeldahl, 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 espcetrofotômetro 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.

3.3.3 Cálculo de digestibilidade de fósforo do Ingrediente: Método Direto

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, então calcula-se a digestibilidade aparente do fósforo através da relação deste mineral com o titânio que foi adicionado como indicador na dieta, portanto o titânio é um indicador indigestível sendo possível estimar quanto de fósforo foi ingerido (RAVINDRAN E BRYDEN 1999; LEMME et al 2004), podendo ser obtido através da fórmula:

$$CdiaP = [(P/Ti)_{diet} - (P/Ti)_{digesta} / (P/Ti)_{diet}]$$

CdiaP é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente de P; (P/Ti) diet é a razão do P e titânio na dieta; (P/Ti) digesta é a razão do P e titânio na digesta ileal.

De acordo com Lemme et al., 2004, para determinar o valor estandardizado, os valores de digestibilidade aparente, devem ser corrigidos pelas perdas endógenas (limitação do método). Para calcular essas perdas endógenas, são utilizados os dados dos animais que receberam a dieta purificada, através da fórmula:

$$IEPL = PO \times (TiI/Tif)$$

IEPL são as perdas endógenas ileal de P; TiI é a concentração de titânio em a dieta; Tif é a concentração de titânio na digesta ileal; Po é a concentração de P na digesta ileal.

O Coeficiente de Digestibilidade Ileal de P foi então calculado:

$$CdieP = CdiaP + [IEPL P (g/kg de DMI) / P I (g/kg de MS)]$$

CdieP e CdiaP representam a digestibilidade ileal estandardizada e os coeficientes de digestibilidade ileal aparente de P, respectivamente, enquanto IEPL P representa as perdas endógenas de P ileal (g/kg de MS) e P I representa a concentração de P na dieta (g/kg de MS) de acordo com os autores (RAVINDRAN E BRYDEN 1999; LEMME et al 2004).

3.4 Análises Estatísticas

Os dados de desempenho de digestibilidade ileal das dietas experimentais e o CdieP foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ao nível de significância de 5%, e quando significativos os valores foram submetidos ao teste de Tukey para comparação das médias, com o uso do programa estatístico SISVAR.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição bromatológica da farinha de peixe utilizada no estudo está descrita na Tabela 3. Os três tipos de farinhas de peixe estudadas, com FP55%, FP60% e FP65% de proteína bruta (PB), indicaram resultados de matéria seca, proteína bruta e matéria mineral dentro do padrão em relação aos valores descritos na Tabela Brasileira de Aves e Suínos (TBAS) por Rostagno et al. (2017). A proteína bruta das farinhas utilizadas neste ensaio variou de 57,65 a 66,12%. As concentrações analisadas de P nas farinhas de peixe FP55% e FP 65% foram maiores do que os níveis de garantia estabelecidos pelo fabricante, talvez por conta das variações no processo de fabricação do produto.

Tabela 4. Composição centesimal das farinhas de peixe utilizadas no ensaio e das farinhas de peixe descritas na TBAS.

Nutriente	Quantidade (%) ¹			TBAS ²	
	55% PB	60% PB	65% PB	55% PB	64% PB
Matéria seca	88,01	92,56	92,56	91,70	92,1
Proteína bruta	57,65	59,37	66,12	54,60	63,8
Matéria mineral	21,78	23,02	18,99	21,90	19,4
Extrato etéreo	----	----	----	8,06	5,85
Fósforo	3,52	3,88	2,99	2,99	2,41
Cálcio	----	----	----	5,75	4,70
Ca:P	----	----	----	1,92	1,95
DGM ³ (μm)	234	384	431,5	-	-
DPG*	2,01	1,56	1,65		

¹Dados expressos na matéria natural.

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

³ DGM: diâmetro geométrico médio.

* DPG: Desvio Padrão Médio.

As concentrações de matéria mineral variaram de 18,99 a 23,02%, variações devidas a proporção de inclusão de ossos oriundos da indústria de filetagem de peixe. O teor de fósforo das farinhas analisadas variou de 2,99 a 3,88%. Foi observado uma menor concentração de P na FP65% em relação as demais, devido a provável concentração de ossos, conforme observado na análise de matéria mineral.

A composição centesimal das farinhas utilizadas neste estudo ficou próxima da descrita na literatura (ROSTAGNO et al., 2017; DILELIS et al., 2021). No entanto, em um estudo avaliando 10 farinhas de peixes de diferentes origens, Hua et al. (2005), reportaram valores que variaram de 66 a 78% de proteína bruta, de 10 a 20% de matéria mineral e de 2,6% a 4,7% de fósforo, evidenciando que farinhas de peixes nacionais possuem menor teor de proteína e maior teor de matéria mineral.

De acordo com o BRASIL (2019) a farinha de peixe é o produto resultante da industrialização de peixes e/ou de seus resíduos, com ou sem a extração de parte do óleo, podendo ser designada conforme a espécie utilizada no processo de fabricação, devendo ser obtido, de estabelecimentos sob inspeção oficial e quando mais de uma espécie for utilizada no processo, será designada de farinha de peixes (nome das espécies). Não deve conter mais do que 10% de umidade e o teor de NaCl deve ser indicado e deve ter no mínimo 3 % de fósforo e o cálcio não deve exceder a 2,2 vezes o nível de P (SINDIRACÕES, 2017). Portanto, as

farinhas se enquadram nas características desejadas, atendendo os teores de fósforo recomendados.

Durante os três dias de fornecimento das rações experimentais não houve mortalidade de aves, os demais parâmetros de desempenho estão relacionados na Tabela 4.

Tabela 5. Desempenho de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais (19º ao 22º dia de idade).

Dieta	Variação de peso (g/ave/dia)	Consumo de Ração (g/ave/dia)
FP 55%	31,26 ^b	78,21 ^{a,b}
FP 60%	27,75 ^b	74,20 ^b
FP 65%	37,04 ^a	82,81 ^a
Purificada	8,33 ^c	58,09 ^c
SEM	1,64	2,35
P-valor	<0,01	<0,01
CV	18,91	9,64

Letras diferentes na mesma coluna representam diferença ($P<0,05$) pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação.

As dietas experimentais eram compostas por 10% de albumina, o que contribuiu para uma variação de peso positiva ($P<0,01$), mesmo com a utilização de dietas semi-purificadas. Mutucumarana et al. (2015a) descreveram perda de peso das aves com utilização de dietas semipurificadas para determinação do fósforo digestível de farinhas de carne e ossos. Dilelis et al. (2021), observaram que a perda de peso das aves, em seus tratamentos, foi provocada pelos baixos níveis proteicos das dietas experimentais (0,35 a 5,70% de PB), em relação aos 23,31%, que é a exigência nutricional recomendada, nesta fase de criação das aves, por Rostagno et al. (2017). Uma das soluções propostas para evitar a perda de peso das aves é incluir uma fonte proteica rica em aminoácidos essenciais e pobre em P, como a clara de ovo desidratada ou caseína (WPSA, 2013). Portanto, o atual estudo mostrou que a inclusão de uma fonte de proteína, rica em aminoácidos essenciais e com baixa quantidade em fósforo, como o albúmen desidratado, foi uma solução adequada.

O consumo de ração foi afetado pelas diferentes dietas experimentais, assim como o ganho de peso. A dieta FP65% foi a que teve o maior nível de inclusão da farinha de peixes, 14,02%, o que pode ter refletido em maior concentração proteica da dieta, e consequentemente melhora na relação energia: proteína.

As perdas endógenas de fósforo foram determinadas em 190,4 mg de P/kg de MSi. Valores de excreção endógena com o uso de dietas semipurificadas foram relatados por Mutucumarana et al. (2016) em 354 mg/kg Msi e por Sousa (2019) em 128,7 mg/kg Msi.

O Coeficiente de digestibilidade ileal aparente (CdiaP) e estandardizado (CdieP) de fósforo das farinhas de peixes para aves encontram-se descritos na Tabela 5.

Não houve diferença significativa entre os valores aparente e verdadeiros. Estatisticamente as dietas FP60% e FP65% apresentaram resultados mais próximos que FP55%.

Poucos trabalhos avaliando a digestibilidade de fósforo da farinha de peixes estão disponíveis na literatura. Para aves, os valores encontrados neste estudo se mostram superiores aos descritos por Dilelis et al., (2021), que encontraram CdieP de 45% para uma farinha de peixes de 53% de proteína bruta.

Tabela 6. Coeficiente de digestibilidade ileal aparente (CdiaP) e verdadeiro (CdieP) de fósforo das farinhas de peixes de aves.

Ingrediente	CdiaP	CdieP
FP55% PB	0,6671 ^a	0,6797 ^a
FP60% PB	0,7745 ^b	0,7923 ^b
FP65% PB	0,8044 ^b	0,8213 ^b
SEM	0,0105	0,0113
P-valor	<0,01	<0,01
CV	4,22	4,45

CV – Coeficiente de Variação.

SEM – Erro Padrão da Média.

Letras diferentes na mesma coluna representam diferença ($P<0,05$) pelo teste de Tukey.

As diferenças entre a digestibilidade da farinha avaliada por Dilelis et al. (2021) e as farinhas avaliadas neste estudo podem ser devido principalmente a concentração de matéria mineral, 29%. Outra diferença percebida entre os dois estudos é o uso de uma fonte complementar de proteína. No presente estudo foi adicionado albúmen desidratado na formulação das dietas, o que permitiu que os animais ganhassem peso, enquanto no estudo de Dilelis et al. (2021) as aves perderam peso.

As farinhas de peixe de 60% e de 65% de PB apresentaram valores semelhantes tanto na digestibilidade aparente (77%) quanto na digestibilidade estandardizada (79%) e foram melhores significativamente ($P<0,05$) do que a farinha de peixes de 55% de PB.

As diferenças entre a digestibilidade das farinhas do presente estudo são difíceis de serem justificadas pelo teor de matéria mineral, uma vez que a FP 55% possui valor intermediário de matéria mineral (21,78%) e menor digestibilidade (67,97%). A FP 55% que apresentou o teor de fósforo intermediário (3,52%) foi também a que apresentou a menor digestibilidade.

A granulometria das farinhas de peixes variou de 234 a 481 μm de acordo com a determinação do DGM, sendo a menor digestibilidade de fósforo encontrada na farinha com menor DGM.

As farinhas de peixes apresentaram valores elevados de digestibilidade de fósforo, podendo ser consideradas excelentes fontes de fósforo nas rações.

As farinhas de peixe de maiores valores proteicos apresentaram também maiores valores de digestibilidade do fósforo, tanto os valores aparentes como os estandardizados, nos quais foi considerado o valor de perdas endógenas. Isso demonstra a validade de se trabalhar com dados de composição de fósforo dos ingredientes considerando o conceito de digestibilidade e a importância de se utilizar valores de fósforo digestível na formulação de rações de frangos de corte.

5 CONCLUSÕES

Os coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada de fósforo diferiram entre as farinhas de peixe avaliadas, perfazendo os valores de 67,96%, 79,22% e 82,12%, respectivamente para as tipo 55% PB, 60% PB e 65% PB. As farinhas de peixes indicaram valores elevados de digestibilidade de fósforo, podendo ser consideradas excelentes fontes de fósforo em rações de frangos de corte.

O método direto foi adequado para a determinação da digestibilidade ileal de fósforo da farinha de peixes, devido a menor necessidade de animais, análises e recursos.

O valor de digestibilidade do fósforo foi superior nas farinhas de maior valor proteico, validando a necessidade de utilizar o conceito de digestibilidade do fósforo na composição de ingredientes e na formulação de rações de frangos de corte.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABPA (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL). **Relatório anual 2021.** São Paulo: ABPA; 2021.
- ABRA (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE RECICLAGEM ANIMAL). **Anuário ABRA Setor de reciclagem Animal.** São Paulo, ABRA. 2020.
- ABNT, NBR NM 248: 2003 Agregados – Determinação da composição granulométrica (2001).
- ADEDOKUN, S.A., ADEOLA, O., PARSONS, C.M., LILBURN, M.S., APPLEGATE, T.J. Standardized ileal amino acid digestibility of plant feedstuffs in broiler chickens and turkey poult using a nitrogen-Livre or casein diet. **Poultry Science.**, v.87, p.2535-48, 2008.
- ADEDOKUN, S.A., and ADEOLA, O. Calcium and phosphorus digestibility: Metabolic limits. **J. Appl. Poultry Research.** 22(3):600–608, 2013.
- 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.
- ANDERSON, K.E.; HARVENSTEIN, G.B.; BRAKE, J. Effects of strain and rearing dietary regimens on brown-egg pullet growth and strain, rearing dietary regimens, density, and feeder space effects on subsequent laying performance. **Poultry Science**, v.74, p.1079-1092, 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.
- ANGEL, R. Calcium and phosphorus requirements in broilers. **Proceedings of the international symposium on nutritional requirements of poultry and swine.** Viçosa, Minas Gerais, Brasil. v.3, p.77-96, 2011.
- 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.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. Official method of analysis. 18th ed. **AOAC International**, Washington, DC, 2005.
- AUMAN, S. K. **Increasing dietary phosphorus retention and decreasing fecal phosphate excretion in modern commercial broilers.** Tese (Doutorado). 179f, North Carolina State University, Raleigh, NC, EUA, 2003.
- BABATUNDE, O. O., COWIESON, A. J., WILSON, J. W., e ADEOLA, O. The impact of age and feeding length on phytase efficacy during the starter phase of broiler chickens. **Poultry Science**, 2019.
- BELLAVER, C.; LUDKE, J.; LIMA, G.J.M.M. Qualidade de ingredientes para ração. In: **Global Feed and Food Forum. FAO.IFIF.** Sindirações. São Paulo, SP. 2005.

BERNDT T E KUMAR R (2009) Novel mechanisms in the regulation of phosphorus homeostasis. **Physiology (Bethesda)** 24, 17–25. 2.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa MAPA nº 17, de 18 de junho de 2014. **Regulamento técnico para os sistemas orgânicos de produção, bem como as listas de substâncias e práticas permitidas para uso nos sistemas orgânicos de produção**. Diário Oficial da União. Brasília, DF. 2014. Atualizado em: 21 de março de 2017. Acesso em: 13 de junho de 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa MAPA nº 17, de 18 de junho de 2014. **Regulamento técnico para os sistemas orgânicos de produção, bem como as listas de substâncias e práticas permitidas para uso nos sistemas orgânicos de produção**. Diário Oficial da União. Brasília, DF. 2019. Acesso em: 09 de junho de 2022.

BRUM JR., B.S.; ZANELLA, I.; TOLEDO, G.S.P. et al. Dietas para frangos de corte contendo quirera de arroz. **Ciência Rural**, v.37, n.5, p.1423-1429, 2007.

BUTOLO, J.E. Qualidade de ingredientes na alimentação animal Campinas: **Colégio Brasileiro de Nutrição Animal**, 2002. p.430

CORTELAZZI, C. Q. L. **Fósforo disponível para frango de corte em fosfatos para alimentação animal**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo, Pirassununga/SP, f. 61. 2006.

COWIESON, A.J.; RUCKEBUSCH, J.P.; SORBARA, J.O.B. et al. **A systematic view on the effect of phytase on ileal amino acid digestibility in broilers**. Anim. Feed Sci. Technol., v.225, p.182-194, 2017.

CRUZ, F. G. G.; RUFINO, J. P. F. Formulação de rações para aves, suínos e peixes. 2017. Disponível:<https://ecoemlivros.ufam.edu.br/attachments/article/2/FormulacoeFabricacaodeRacoes.pdf> acesso em: 15/09/2020.

CVB (CENTRAAL VEEVOEDER BUREAU). **Table on Feed Ingredients**. Data on the Chemical Composition, Digestibility and Nutritional Value of Feedstuffs. Product Board Animal Feed, Den Haag, The Netherlands, 2018.

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. 2012. Métodos para análise de alimentos. **Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal. INCT**. Viçosa. 214 pp.

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

DILELIS, F.; SOUZA, C.S.; REIS, T.L.; VIEITES, F.M., DE LIMA, C.A.R. Fósforo digestível de ingredientes para aves: metodologias e atualidades. **Research, Society and Development**. v. 9, n. 7, p. e915974543-e915974543, 2020.

DILELIS, F., FREITAS, L. W., QUARESMA, D. V., REIS, T. L., SOUZA, C. S., & LIMA, C. A. R. Determination of true ileal digestibility of phosphorus of fish meal in broiler diets. *Animal Feed Science and Technology*, v. 272, p. 114742, 2021.

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.

DINEV, I. Clinical and morphological investigations on the incidence of forms of rickets and their association with other pathological states in broiler chickens. *Research in Veterinary Science*, 92(2), 273-277, 2012.

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.

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.

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.

FERNANDES, J.B.K.; BUENO, R.J.; RODRIGUES, L.A.; FABREGAT, T.E.H.P.; SAKOMURA, N.K. Silagem ácida de resíduos de filetagem de tilápias em rações de juvenis de piauçu (*Leporinus macrocephalus*). *Acta Scientiarum Animal Sciences*, v. 29, n. 3, p. 339-344, 2007.

FERNANDES, M.N.S. Principais problemas locomotores na avicultura industrial. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 18, Ed. 205, Art. 1369, 2012.

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.

FURTADO, M.A.O. **Determinação da biodisponibilidade de fósforo em suplementos de fósforo para aves e suínos.** 60 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 1991.

GALKANDA-ARACHCHIGE, H. S., WILSON, A. E., & DAVIS, D. A. Success of fishmeal replacement through poultry by-product meal in aquaculture feed formulations: a meta-analysis. *Reviews in Aquaculture*, 12(3), 1624-1636, 2020.

GARZILLO, J.M.F. Parâmetros biológicos usados na avaliação da biodisponibilidade do fósforo para frangos de corte em fosfatos comerciais e em fosfatos de rocha. 120p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

GERON, L. J. V., ZEOULA, L. M., VIDOTTI, R. M., GUIMARÃES, K. C., KAZAMA, R., & DE OLIVEIRA, F. C. L. Digestibilidade e parâmetros ruminais de rações contendo silagens de resíduo da filetagem de tilápia. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 28(4), 437-444, 2006.

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.

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.

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

HIGUCHI, L. H. **Produção, caracterização nutricional e utilização de farinhas e óleos de resíduos de peixe neotropicais em dietas para Tilápia do Nilo**. 2015. 86 f. Tese (Doutorado)

HU, Y., LIAO, X., WEN, Q., LU, L., ZHANG, L., E LUO, X. Absorção de fósforo e níveis de expressão gênica de transportadores relacionados no intestino delgado de frangos de corte. *British Journal of Nutrition*, 119 (12), 1346-1354. doi: 10.1017 / S0007114518000934, 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.

JAGGER, S .; WISEMAN, J .; COLE, DJA; CRAIGON, J. (1992). Avaliação de marcadores inertes para a determinação dos valores de digestibilidade aparente ileal e fecal em suínos. *British Journal of Nutrition*, 68 (3), 729 –. doi: 10.1079 / bjn19920129

JUNIOR, M. L. X. **Biodisponibilidade e digestibilidade do fósforo de diferentes fosfatos para frangos de corte**. 2017. 25 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2017.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido ósseo. Histologia Básica. 10^a ed. Rio de Janeiro: **Editora Ganabara Koogan S.A.**, cap. 8 p. 148 – 149, 2004.

KANEKO I, SEGAWA H, FURUTANI J, KUWAHARA S, ARANAMI F, HANABUSA E, TOMINAGA R, GIRAL H, CALDAS Y, LEVI M, KATO S, MIYAMOTO K: Hypophosphatemia in vitamin D receptor null mice: effect of rescue diet on the developmental changes in renal Na⁺ -dependent phosphate cotransporters. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*; 461:77–90, 2011.

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.

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, S. B., Y. X. HU, X. D. LIAO, L. LU, S. F. LI, L. Y. ZHANG, H. Z. TAN, LU YANG, H. Q. SUO, AND X. G. LUO. Kinetics of phosphorus absorption in ligated small intestinal segments of broilers. **Journal Animal Science**. 94:3312–3320, 2016.

MAIGUALEMA, M. & GERNAT, ABEL. The Effect of Feeding Elevated Levels of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) By-product Meal on Broiler Performance and Carcass Characteristics. **International Journal of Poultry Science**. 2. 10.3923/ijps.2003.195.199, 2003.

MAIORKA, A.; MACARI, M. Equilíbrio ácido-básico. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (Ed.) Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP. p.167-174. 2002.

MALLISON A. M. Ingredients overview. **Intrafish Investment Forum**, London 2013.

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, 2014a.

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, 2015.

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.

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.

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.

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.

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.

PIENIAZEK, J. et al. Evaluation of increasing levels of a microbial phytase in phosphorus efficient broiler diets via live broiler performance, tibia bone ash, apparent metabolizable energy and amino acid digestibility. **Poultry Science**, v. 6, p. 1-13, 2016.

PONCE, L and GERNAT, A. The effect of using different levels of tilapia by-product meal in broiler diets. **Poultry Science**. 81. 1045-9. 10.1093/ps/81.7.1045, 2002.

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., BRYDEN, W. L. Amino acid availability in poultry-in vitro and in vivo measurements. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 50, p. 889-908, 1999.

RIZZOLI, P. W. **Desempenho, incremento de energia e digestibilidade de nutrientes em rações de frangos de corte contendo enzimas exógenas**. Pirassununga/SP. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2009.

RODEHUTSCORD, M. Approaches and challenges for evaluating phosphorus sources for poultry. In: **European Symposium on Poultry Nutrition**, WPSA UK branch, Edinburgh, Scotland, p. 2-6, 2009.

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, 488p, 2017.

RUNHO, R. C.; GOMES, P. C.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; LOPES, P. S.; POZZA, P. C. Exigência de fósforo disponível para frangos de corte machos e fêmeas de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia** 30:187-196, 2001.

RUTHERFORD, S. M.; CHUNG, T.K.; MOUGHAN, P. J. The effect of microbial phytase on ileal phosphorus and amino acid digestibility in the broiler chicken. **British Poultry Science**, v.43, p.598-606, 2002.

SAUVANT, D., PEREZ, J. M., & TRAN, G. (Eds.). Tables of composition and nutritional value of feed materials: pigs, poultry, cattle, sheep, goats, rabbits, horses and fish. Wageningen Academic Publishers, 2004.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos Jaboticabal: FUNEP, 2007. 283p.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2016.

SCHRAMM, V. G. et al. Interaction between xylanase and phytase on the digestibility of corn and a corn/soy diet for broiler chickens. **Poultry Science**, pew356, 2 Oct. 2016.

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.

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.

SHORT, FJ, GORTON, P., WISEMAN, J., e BOORMAN, KN. Determinação do dióxido de titânio adicionado como marcador inerte em estudos de digestibilidade de frangos. **Animal Feed Science and Technology**, 59 (4), 215–221. doi: 10.1016 / 0377-8401 (95) 00916-7, 1996.

SMEETS, N., NUYSSENS, F., VAN CAMPENHOUT, L., DELEZIE, E., PANNECOUCQUE, J., and NIEWOLD, T. Relationship between wheat characteristics and nutrient digestibility in broilers: comparison between total collection and marker (titanium dioxide) technique. **Poultry Science**, 94(7), 1584–1591. doi:10.3382/ps/pev116, 2015.

SINDIRAÇÕES. Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal. 5ed. SINDRAÇÕES, São Paulo, 2017.

SILVA, E.P.; LIMA, M.B.; RABELLO, C.BV.; 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.

SILVA, E. A. Níveis de cálcio e relações cálcio: fósforo em rações para galinhas poedeiras. Viçosa: UFV, 2014. 130p. Tese (Doutorado em Zootecnia), Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2014.

SOUSA, F. D. R. **Digestibilidade Ileal Estandardizada do Fósforo de Ingredientes de Origem Animal para Frangos de Corte**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica/RJ, f. 80. 2019.

STEFANELLO, C. et al. Energy and nutrient utilization of broilers fed soybean meal from two different Brazilian production areas with an exogenous protease. **Animal Feed Science and Technology**, v. 221, p. 267–273, 2016.

SUTTLE N. F. Mineral nutrition of livestock. **Cabi**, 4 ed., 544p, 2010.

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

TEIXEIRA, A.O.; LOPES, D.C.; RIBEIRO, M.C.T. et al. Composição química de diferentes fontes de fósforo e deposição de metais pesados em tecidos de suínos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.4, 502-509, 2005.

TITGEMEYER, E.C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. **Journal Animal Science**, v.75, p.2235-2247, 1997.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - **Agricultural Research Service**, 2021 South Peach Avenue, Fresno, California 93727. <https://www.usda.gov/topics/food-and-nutrition>. Acessado em 08/01/2021.

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, D. A. Perdas Endógenas e Digestibilidade Estandardizada do Fósforo dos Farelos de Soja e Canola para Aves e Suínos. Tese (Doutorado em Ciências Agroveterinárias) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lajes 122p. 2017.

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.

ZANOTTO, L. Z.; CUNHA Jr., A.; LUDKE, J. V.; COLDEBELLA, A. Análise de granulometria de milho moído. Concórdia: **EMBRAPA-CNPSA**, 2016. 5 p. (EMBRAPA-CNPSA. Comunicado técnico. Acesso em: 09 de maio de 2021. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1062014/1/Cot536.pdf>). Acesso em: 09 de junho de 2021.

ZANOTTO, D. L.; KRABBE, E. L.; ALBINO, J. J.; CARDOSO, L. S. Granucalc. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2013. 1 **Software de Granulometria**. Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br/softgran/softgran.php>>. Acesso em: 30 set. 2020.

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.

ANEXO I



Granucalc

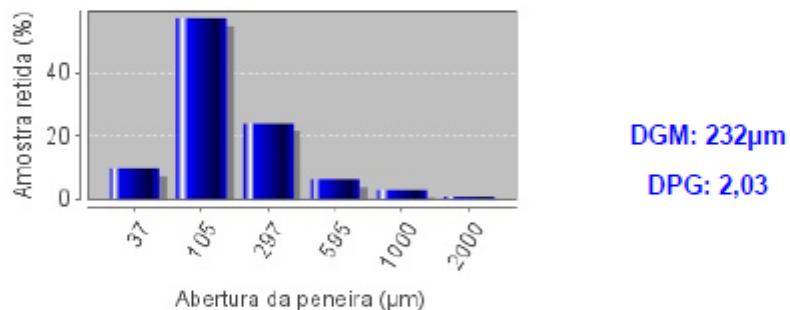
Aplicativo para cálculo do Diâmetro Geométrico Médio (DGM) e
Desvio Padrão Geométrico (DPG) das partículas de ingredientes e rações

Análise de granulometria - Método Alternativo

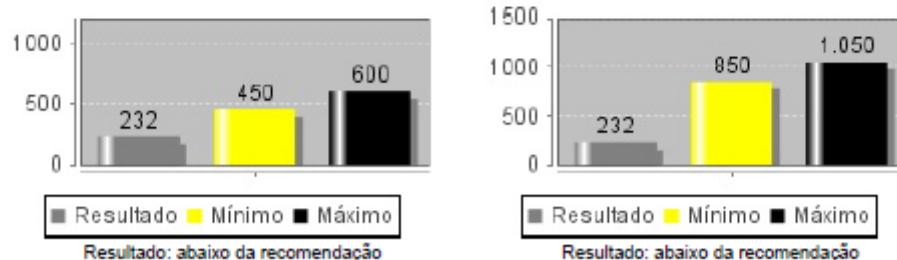
Amostra: Farinha de Peixe 55% Amostra 1

Peneira ABNT n°	Abertura (µm)	Peso peneira (g)	Peneira + amostra (g)	Peso amostra retida (g)	Amostra retida (%)
10	2000	430,30	431,50	1,20	0,6
18	1000	434,50	439,90	5,40	2,7
30	595	310,70	323,30	12,60	6,3
50	297	328,60	376,10	47,50	23,8
140	105	375,90	489,60	113,70	57,0
prato	37	302,40	321,30	18,90	9,5
Total				199,30	99,9

Gráfico de distribuição



Adequação do DGM



OBSERVAÇÃO: as análises devem ser realizadas com material seco em estufa e com volume ideal de amostra de 150g.

Literatura consultada: Hedley, V. & Pitot, H. 1970. Describing particle size. In: Feed Production Council. Feed Manufacturing Technology. Chicago: American Feed Manufacturers Association. P. 563-568.
Henderson, S.M. & Party, R.L. 1979. Size Reduction. In: Agricultural Process Engineering. 2nd Ed. The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut. Pg. 130-158.
EMBRAPA-CNPA, 1988 - Comunicado Técnico, 224. EMBRAPA-CNPA, 1989 - Comunicado Técnico, 222.

Granucalc

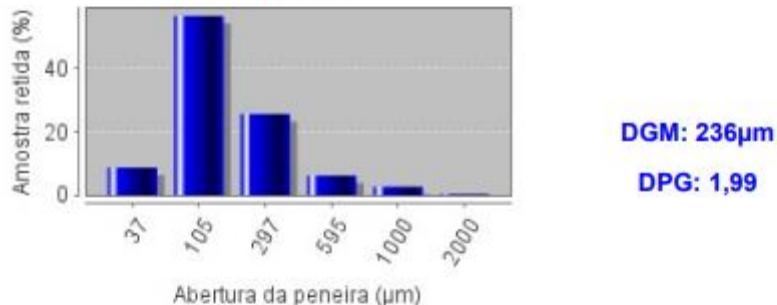
Aplicativo para cálculo do Diâmetro Geométrico Médio (DGM) e
Desvio Padrão Geométrico (DPG) das partículas de ingredientes e rações

Análise de granulometria - Método Alternativo

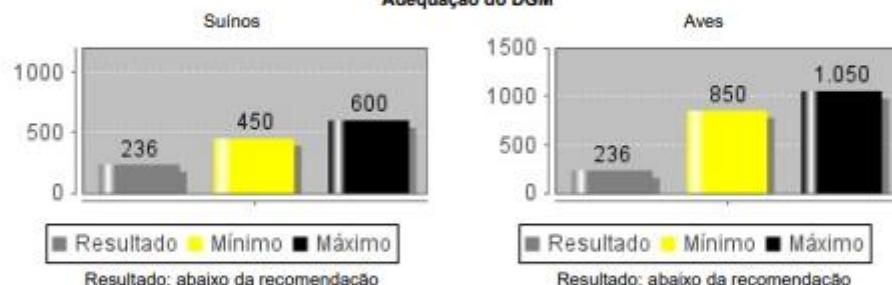
Amostra: Farinha de Peixe 55% Amostra 2

Peneira ABNT n°	Abertura (μm)	Peso peneira (g)	Peneira + amostra (g)	Peso amostra retida (g)	Amostra retida (%)
10	2000	430.30	431.00	0.70	0.4
18	1000	434.50	439.80	5.30	2,7
30	595	310.70	323.10	12,40	6,2
50	297	328.60	379.50	50,90	25,6
140	105	375.90	488.10	112.20	56,5
prato	37	302.40	319.60	17,20	8,7
Total				198,70	100,1

Gráfico de distribuição



Adequação do DGM



OBSERVAÇÃO: as análises devem ser realizadas com material seco em estufa e com volume ideal de amostra de 100g.

Literatura consultada: Headley, V. & Plotz, H. 1970. Describing particle size. In: Feed Production Council. Feed Manufacturing Technology. Chicago: American Feed Manufacturers Association. P. 369-388.
Henderson, S.M. & Perry, R.L. 1976. Size Reduction. In: Agricultural Process Engineering. 3rd Ed. The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut. Pg. 120-158.
EMBRAPA-CNPSA, 1988 - Comunicado Técnico, 226. EMBRAPA-CNPSA, 1988 - Comunicado Técnico, 232.

Granucalc

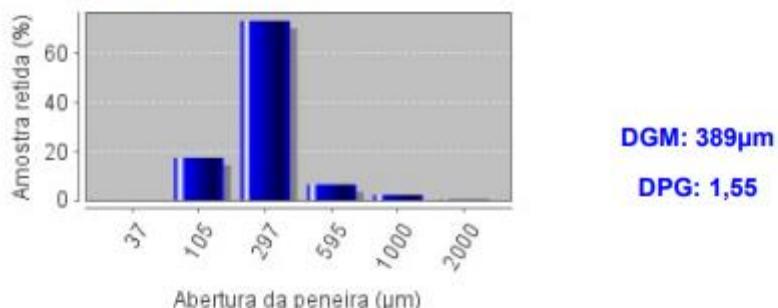
Aplicativo para cálculo do Diâmetro Geométrico Médio (DGM) e Desvio Padrão Geométrico (DPG) das partículas de ingredientes e rações

Análise de granulometria - Método Alternativo

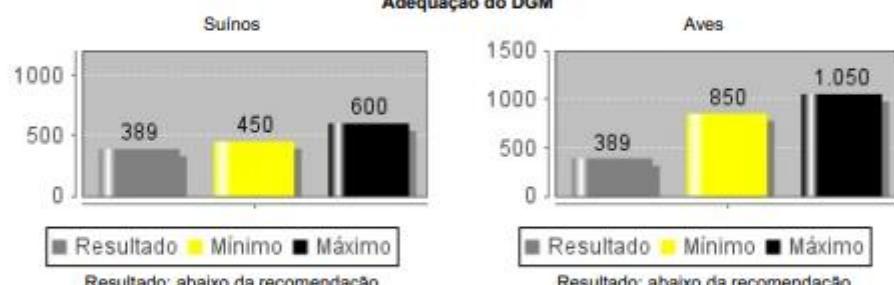
Amostra: Farinha de Peixe 60% Amostra 1

Peneira ABNT nº	Abertura (μm)	Peso peneira (g)	Peneira + amostra (g)	Peso amostra retida (g)	Amostra retida (%)
10	2000	430.30	431.00	0.70	0,3
18	1000	434.50	439.00	4.50	2,2
30	595	310.70	323.80	13.10	6,5
50	297	328.60	476.90	148.30	73,5
140	105	375.90	411.00	35.10	17,4
prato	37	302.40	302.40	0.00	0,0
Total				201.70	99,9

Gráfico de distribuição



Adequação do DGM



OBSERVAÇÃO: as análises devem ser realizadas com material seco em estufa e com volume ideal de amostra de 100g.

Literatura consultada: Headley, V. & Pfeist, H. 1970. Describing particle size. In: Feed Production Council. Feed Manufacturing Technology. Chicago: American Feed Manufacturers Association. P. 582-588.
Henderson, S.M. & Parry, R.L. 1978. Size Reduction. In: Agricultural Process Engineering. 2nd Ed. The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut. Pg. 120-150.
EMBRAPA-CNPSA, 1988 - Comunicado Técnico, 228. EMBRAPA-CNPSA, 1999 - Comunicado Técnico, 232.

Granucalc

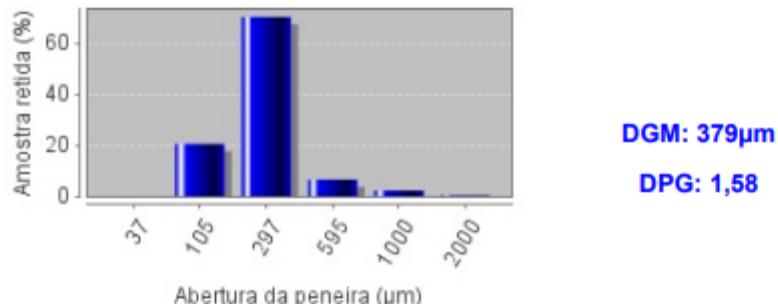
Aplicativo para cálculo do Diâmetro Geométrico Médio (DGM) e
Desvio Padrão Geométrico (DPG) das partículas de ingredientes e rações

Análise de granulometria - Método Alternativo

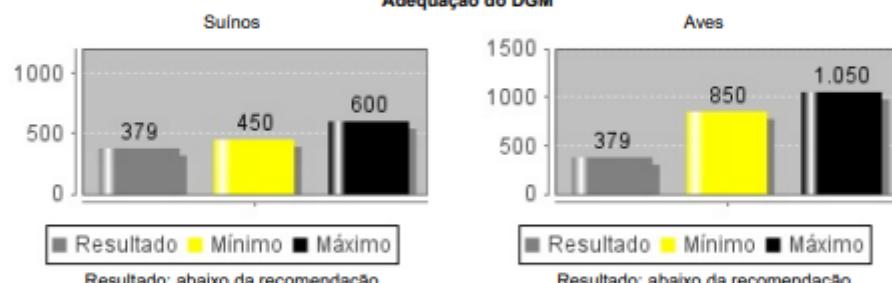
Amostra: Farinha de Peixe 60% Amostra 2

Peneira ABNT n°	Abertura (μm)	Peso peneira (g)	Peneira + amostra (g)	Peso amostra retida (g)	Amostra retida (%)
10	2000	430.30	431.10	0.80	0,4
18	1000	434.50	439.00	4.50	2,3
30	595	310.70	323.90	13.20	6,6
50	297	328.60	469.10	140.50	70,3
140	105	375.90	416.80	40.90	20,5
prato	37	302.40	302.40	0.00	0,0
Total				199,90	100,1

Gráfico de distribuição



Adequação do DGM



OBSERVAÇÃO: as análises devem ser realizadas com material seco em estudo e com volume ideal de amostra de 100g.

Literatura consultada: Headley, V. & Pfeat, H. 1970. Describing particle size. In: Feed Production Council. Feed Manufacturing Technology. Chicago: American Feed Manufacturers Association. P. 562-608.
Henderson, S.M. & Perry, R.L. 1976. Size Reduction. In: Agricultural Process Engineering. 2nd Ed. The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut. Pg. 120-158.
EMBRAPA-CNPSA, 1988 - Comunicado Técnico, 228. EMBRAPA-CNPSA, 1989 - Comunicado Técnico, 232.

Granucalc

Aplicativo para cálculo do Diâmetro Geométrico Médio (DGM) e Desvio Padrão Geométrico (DPG) das partículas de ingredientes e rações

Análise de granulometria - Método Alternativo

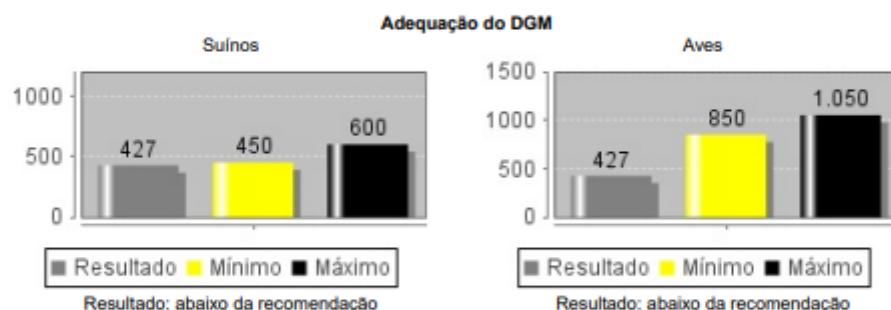
Amostra: Farinha de Peixe 65% Amostra 1

Peneira ABNT n°	Abertura (μm)	Peso peneira (g)	Peneira + amostra (g)	Peso amostra retida (g)	Amostra retida (%)
10	2000	430.30	431.40	1,10	0,5
18	1000	434.50	440.70	6,20	3,1
30	595	310.70	347.10	36,40	18,1
50	297	328.60	453.70	125,10	62,1
140	105	375.90	408.50	32,60	16,2
prato	37	302.40	302.40	0,00	0,0
Total				201,40	100,0



DGM: 427 μm

DPG: 1,65



OBSERVAÇÃO: as análises devem ser realizadas com material seco em escala e com volume ideal de amostra de 150g.

Literatura consultada: Headley, V. & Pfeit, H. 1970. Describing particle size. In: Feed Production Council. Feed Manufacturing Technology. Chicago: American Feed Manufacturers Association. P. 569-588.
Henderson, S.M. & Perry, R.L. 1976. Size Reduction. In: Agricultural Process Engineering. 2nd Ed. The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut. Pg. 120-158.
EMBRAPA-CNPSA, 1988 - Comunicado Técnico, 229. EMBRAPA-CNPSA, 1989 - Comunicado Técnico, 232.

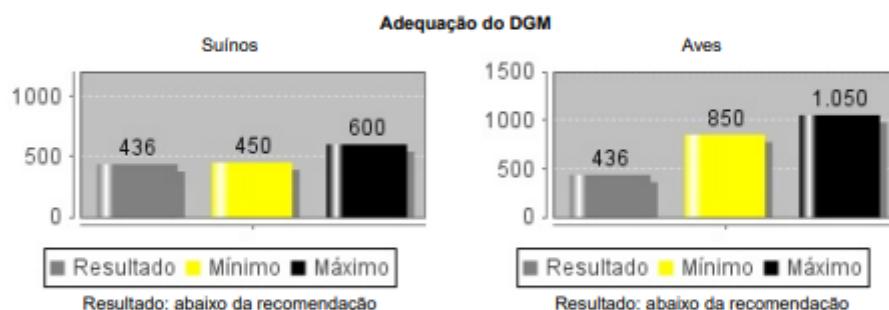
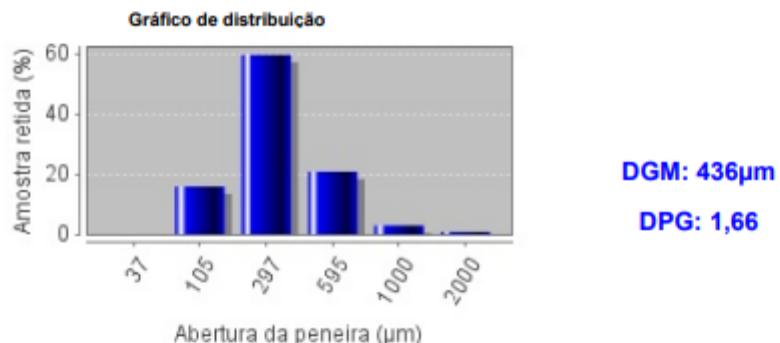
Granucalc

Aplicativo para cálculo do Diâmetro Geométrico Médio (DGM) e Desvio Padrão Geométrico (DPG) das partículas de ingredientes e rações

Análise de granulometria - Método Alternativo

Amostra: Farinha de Peixe 65% Amostra 2

Peneira ABNT nº	Abertura (μm)	Peso peneira (g)	Peneira + amostra (g)	Peso amostra retida (g)	Amostra retida (%)
10	2000	430,30	431,80	1,50	0,8
18	1000	434,50	440,30	5,80	2,9
30	595	310,70	352,20	41,50	20,8
50	297	328,60	447,20	118,60	59,6
140	105	375,90	407,60	31,70	15,9
prato	37	302,40	302,40	0,00	0,0
Total				199,10	100,0



OBSERVAÇÃO: as análises devem ser realizadas com material seco em secura e com volume ideal de amostra de 150g.

Literatura consultada: Headley, V. & Piat, H. 1970. Describing particle size. In: Feed Products Council. Feed Manufacturing Technology. Chicago: American Feed Manufacturers Association. P. 569-568.

Henderson, J. M. & Perry, R. L. 1974. Size Reduction. In: Agricultural Process Engineering. 2nd Ed. The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut. Pg. 130-158.

EMBRAPA-CNPSA, 1988 - Comunicado Técnico, 226. EMBRAPA-CNPSA, 1999 - Comunicado Técnico, 232.