



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CRISTINA SATIE HIDESHIMA

**DESEMPENHO DE SUÍNOS EM FASE DE CRECHE, ATÉ O
ABATE, SUBMETIDOS A DIETAS COM REDUÇÃO DOS
NÍVEIS DE CÁLCIO E FÓSFORO, SUPLEMENTADAS COM
FITASE, E EFEITOS NA QUALIDADE DA CARNE E
CARCAÇA**

Londrina
2024

CRISTINA SATIE HIDESHIMA

**DESEMPENHO DE SUÍNOS EM FASE DE CRECHE, ATÉ O
ABATE, SUBMETIDOS A DIETAS COM REDUÇÃO DOS
NÍVEIS DE CÁLCIO E FÓSFORO, SUPLEMENTADAS COM
FITASE, E EFEITOS NA QUALIDADE DA CARNE E
CARÇAÇA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Caio Abércio da Silva.

Londrina
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

H632d Hideshima, Cristina Satie.
Desempenho de suínos em fase de creche, até o abate, submetidos a dietas com redução dos níveis de cálcio e fósforo, suplementadas com fitase, e efeitos na qualidade da carne e carcaça / Cristina Satie Hideshima. - Londrina, 2024.
92 f. : il.

Orientador: Caio Abércio da Silva.
Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2024.
Inclui bibliografia.

1. Desempenho; Enzimas - Tese. 2. Fitato - Tese. 3. Minerais - Tese. 4. Mio-Inositol - Tese. I. Silva, Caio Abércio da. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 636

CRISTINA SATIE HIDESHIMA

**DESEMPENHO DE SUÍNOS EM FASE DE CRECHE, ATÉ O
ABATE, SUBMETIDOS A DIETAS COM REDUÇÃO DOS
NÍVEIS DE CÁLCIO E FÓSFORO, SUPLEMENTADAS COM
FITASE, E EFEITOS NA QUALIDADE DA CARNE E
CARCAÇA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Caio Abércio da Silva
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dra. Ana Maria Bridi
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Rafael Humberto de Carvalho
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Marcos Augusto Alves da Silva
Universidade Estadual do Norte do Paraná -
UENP

Prof. Dr. Edgard Hideaki Hoshi
Universidade Norte do Paraná - UNOPAR

Londrina, 31 de janeiro de 2024.

AGRADECIMENTOS

Tão grande quanto escrever essa Tese foi o desafio de, em apenas algumas páginas, agradecer todas as pessoas que de alguma forma tornaram possível a realização desse projeto.

Deus, obrigada pela oportunidade de realizar esse sonho, por não me deixar desistir mesmo nos momentos de aflição e falta de fé e por rodear minha vida com pessoas extraordinárias que fazem a diferença.

Agradeço aos meus Pais que me deram todas as condições para que eu pudesse estudar, me graduar e continuar seguindo meus objetivos, agradeço pela criação, educação e por me ensinarem os valores da vida.

Meu mais profundo agradecimento às duas pessoas mais importantes na minha vida, meu marido, Maurício e minha filha Érica. Especialmente nesse período sou muito grata pela compreensão, por estarem a todo momento ao meu lado, nos momentos de dificuldade sabendo me apoiar, não me deixar esmorecer, compreendendo a falta de tempo e atenção, isso só foi possível graças ao amor de vocês.

Agradeço a Universidade Estadual de Londrina, Instituição à qual me orgulho de ter feito parte na graduação e agora repetindo a possibilidade de me aprimorar e melhorar como profissional e como pessoa.

A todos os Professores que fizeram parte do Programa de Pós Graduação, meu agradecimento por compartilharem seus conhecimentos e investirem seu tempo em prol de nós, alunos.

Estendo meus agradecimentos também à toda a equipe da Akei Animal Research, nas pessoas da Kelly, Cleandro Pazinato, Marco Aurélio Callegari e os demais funcionários que não mediram esforços para a realização do experimento, também à equipe do GPAC da UEL, nas pessoas da Amanda Gobeti Barro e do Guilherme Agostinis Ferreira, além dos demais colaboradores, que auxiliaram em todos os processos com muita paciência e comprometimento, muito obrigada.

À Dra Maria Nazaré Simões Lisboa, amiga (com muito orgulho) e mentora, que transformou minha visão sobre a Suinocultura, sempre me inspirando, ensinando e compartilhando... Obrigada por fazer parte da minha vida.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Minha gratidão será eterna a você meu amigo, professor, orientador e inspirador Caio Abércio da Silva, obrigada por ter me direcionado pelos caminhos da Suinocultura, é muito difícil traduzir em palavras todo sentimento de gratidão que trago comigo nesses mais de 20 anos de convivência. Graças a você vários sonhos se concretizaram, MUITÍSSIMO Obrigada, do fundo do meu coração.

“Só se pode alcançar um grande êxito quando nos mantemos fiéis a nós mesmos...”

Friedrich Nietzsche

HIDESHIMA, Cristina Satie. **Desempenho de suínos em fase de creche, até o abate, submetidos a dietas com redução dos níveis de cálcio e fósforo, suplementadas com fitase, e efeitos na qualidade da carne e carcaça.** 2024. 92 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes níveis de inclusão da fitase bacteriana (RONOZYME HiPhos) e de fitase de quarta geração (HiPhorius) em dietas com teor reduzido de fósforo e cálcio no desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne em suínos nas fases de creche, crescimento e terminação. O experimento incluiu 125 fêmeas e 125 machos castrados com peso inicial de $6,08 \pm 0,753$ kg e 21 dias de idade, distribuídos em delineamento de blocos casualizados, com cinco tratamentos e dez repetições com cinco animais cada. No primeiro experimento os animais foram alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, correspondendo aos tratamentos: T1: controle positivo (CP), suplementado com fósforo inorgânico e cálcio, atendendo as exigências nutricionais; T2: controle negativo (CN), com redução de 0,18% no fósforo disponível e 0,16% no cálcio; T3: CN+1.000 unidades de fitase (FYT); T4: CN+2.000 FYT; T5: CN+3.000 FYT. Resultados mostram que os tratamentos T3, T4 e T5 apresentaram semelhante ganho de peso diário (GPD) durante a fase creche (0,430 kg, 0,441 kg e 0,428 kg respectivamente) comparados com a T1 (0,481 kg), sendo que T2 apresentou menor GPD (0,398 kg), em relação aos demais tratamentos. A conversão alimentar (CA) dos tratamentos que receberam fitase foram na fase de creche similares ao T1 e diferentes do T2, correspondendo a 1,546; 1,516; 1,535; 1,519 e 1,676. Para as fases de crescimento e terminação os resultados do consumo diário de ração (CDR), GPD e da CA favorecem os grupos T1, T3, T4 e T5, sendo superiores a T2 ($p < 0,05$). Este mesmo resultado foi verificado para o cômputo de todo o período experimental (21 a 156 dias), sendo para T1, T2, T3, T4 e T5, verificados os seguintes GPD e as seguintes CA: 1,041; 0,788; 1,014; 1,028 kg; e 1,046; e 2,419; 2,705; 2,454; 2,450; 2,452, respectivamente. Efeito quadrático foi verificado para a CA considerando toda a fase de CT, com melhor nível de 1.923 FYT/kg. A suplementação com fitase determinou resultados semelhantes ($p > 0,05$) ao do grupo T1 e distintos em relação ao T2 para todos os parâmetros de carcaça, excetuando a espessura de toucinho. Efeitos lineares ($p < 0,05$) foram observados para o percentual e a quantidade de carne magra na carcaça. A suplementação com fitase determinou resultados semelhantes ($p > 0,05$) ao do grupo T1 e distintos em relação ao T2, que apresentou piores resultados, não havendo diferença entre tratamentos somente na espessura de toucinho (ET). Não houve diferença entre os tratamentos para todas as variáveis para as características de qualidade de carne. A suplementação de fitase em dietas à base de farelo de milho e soja com redução severa de P e Ca inorgânicos melhorou o ganho de peso diário, o consumo de ração e a conversão alimentar de suínos em creche, crescimento e terminação, influenciando positivamente também as características de carcaça. No segundo experimento, T1 e T2 seguiram o mesmo modelo da primeira avaliação, com uma dieta T1: CN, uma T2: CP e três dietas CN suplementadas com T3: CN+600 unidades de fitase (FYT); T4: CN+1.200 FYT; T5: CN+1.8000 FYT, que apresentaram resultados semelhantes a T1. Na creche T1 teve o melhor GPD (0,481 kg) quando comparado a T2 (0,398 kg), T3, T4 e T5 não diferiram nos resultados (0,455, 0,448, e 0,431 kg, respectivamente), T2 resultou na pior conversão alimentar

quando comparado aos demais grupos e o CDR foi maior para T1 menor para T5, seguidos dos demais grupos com resultados intermediários. Para as fases de crescimento e terminação, houve diferença entre os tratamentos para todas as variáveis analisadas, com o grupo T2 apresentando os piores resultados. Quanto ao rendimento de carcaça a inclusão de fitase influenciou positivamente todas as variáveis, não havendo diferença entre tratamentos, somente para espessura de toucinho (ET). Efeitos quadráticos foram verificados para CA na fase de creche e de crescimento e terminação, com as melhores doses em 1.320 e 1.404 FYT/kg, respectivamente. A suplementação com fitase garantiu os mesmos resultados de peso final (PF), peso (CP) e rendimento de carcaça (RC) e porcentagem (PCM) quantidade de carne magra na carcaça em relação ao T1, sendo estes diferentes e superiores ao T2, com efeitos quadráticos para PF, PC, RC e PCM, respectivamente, 1.377, 1.324, 1.416 e 1.246 FYT/kg. Níveis crescentes de fitase de quarta geração em dietas à base de farelo de milho e soja com redução severa de P e Ca inorgânicos melhoraram o ganho de peso diário, o consumo de ração e a conversão alimentar de suínos em creche, crescimento e terminação, influenciando positivamente também no rendimento da carcaça.

Palavras-chave: desempenho; enzimas; fitato; minerais; mio-inositol.

HIDESHIMA, Cristina Satie. **Performance of pigs in the nursery phase, up to slaughter, subjected to diets with reduced levels of calcium and phosphorus, supplemented with phytase, and effects on meat and carcass quality.** 2024. 92 f. Thesis (Doctorate /Master's degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the effect of different inclusion levels of bacterial phytase (RONOZYME HiPhos) and fourth generation phytase (HiPhorius) in diets with reduced phosphorus and calcium content on performance, carcass yield and meat quality in pigs in the nursery, growing and finishing phases. The experiment included 125 females and 125 castrated males with an initial weight of 6.08 ± 0.753 kg and 21 days of age, distributed in a randomized block design, with five treatments and ten replications with five animals each. In the first experiment, the animals were fed diets based on corn and soybean meal, corresponding to the treatments: T1: positive control (CP), supplemented with inorganic phosphorus and calcium, meeting nutritional requirements; T2: negative control (CN), with a 0.18% reduction in available phosphorus and 0.16% in calcium; T3: CN+1,000 phytase units (FYT); T4: CN+2,000 FYT; T5: CN+3,000 FYT. Results show that treatments T3, T4 and T5 presented similar daily weight gain (AWG) during the nursery phase (0.430 kg, 0.441 kg and 0.428 kg respectively) compared to T1 (0.481 kg), with T2 showing a lower AWG (0.398 kg), in relation to the other treatments. The feed conversion (CA) of the treatments that received phytase were similar to T1 in the nursery phase and different from T2, corresponding to 1.546; 1.516; 1.535; 1.519 and 1.676. For the growth and finishing phases, the results of daily feed intake (DRC), GPD and AC favor groups T1, T3, T4 and T5, being higher than T2 ($p < 0.05$). This same result was verified for the calculation of the entire experimental period (21 to 156 days), with the following GPD and the following CA being verified for T1, T2, T3, T4 and T5: 1.041; 0.788; 1.014; 1,028 kg; and 1,046; and 2,419; 2,705; 2,454; 2,450; 2,452 respectively. Quadratic effect was verified for AC considering the entire CT phase, with a best level of 1,923 FYT/kg. Phytase supplementation resulted in similar results ($p > 0.05$) to the T1 group and different results in relation to T2 for all carcass parameters, except for backfat thickness. Linear effects ($p < 0.05$) were observed for the percentage and amount of lean meat in the carcass. Phytase supplementation resulted in similar results ($p > 0.05$) to those of the T1 group and different results in relation to T2, which presented worse results, with no difference between treatments only in terms of bacon thickness (ET). There was no difference between treatments for all variables for meat quality characteristics. Phytase supplementation in diets based on corn and soybean meal with severe reduction of inorganic P and Ca improved daily weight gain, feed intake and feed conversion of nursery, growing and finishing pigs, also positively influencing the carcass characteristics. In the second experiment, T1 and T2 followed the same model as the first evaluation, with a T1: CN diet, a T2: CP diet and three CN diets supplemented with T3: CN+600 phytase units (FYT); T4: CN+1,200 FYT; T5: CN+1.8000 FYT, which presented similar results to T1. In the nursery, T1 had the best GPD (0.481 kg) when compared to T2 (0.398 kg), T3, T4 and T5 did not differ in results (0.455, 0.448, and 0.431 kg, respectively), T2 resulted in the worst feed conversion when compared to other groups and the CDR was higher for T1 and lower for T5, followed by the other groups with intermediate results. For the growth and finishing phases, there was a difference between treatments for all variables analyzed, with the

T2 group presenting the worst results. Regarding carcass yield, the inclusion of phytase positively influenced all variables, with no difference between treatments, only for bacon thickness (ET). Quadratic effects were observed for CA in the nursery and growing and finishing phases, with the best doses at 1,320 and 1,404 FYT/kg, respectively. Supplementation with phytase guaranteed the same results in final weight (PF), weight (CP) and carcass yield (RC) and percentage (PCM) amount of lean meat in the carcass in relation to T1, which are different and superior to T2, with quadratic effects for PF, PC, RC and PCM, respectively, 1,377, 1,324, 1,416 and 1,246 FYT/kg. Increasing levels of fourth generation phytase in corn and soybean meal-based diets with severe reduction in inorganic P and Ca improved daily weight gain, feed intake and feed conversion of nursery, grower and finisher pigs, influencing also positively on carcass yield.

Key-words: performance; enzymes; minerals, myo-inositol, performance, phytate.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Estrutura do ácido fítico (myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakiphosphato (IP6, IUPAC) 20
- Figura 2** – Liberação de fósforo do ácido fítico pela ação da fitase..... 21
- Figura 3** – Estrutura do fitato e principais nutrientes passíveis de formação de complexo 24
- Figura 4** – Funções e benefícios de um suplemento dietético de mio-inositol para a saúde humana 30
- Figura 5** – Estruturas dos nove estereoisômeros do inositol. O inositol existe sob 9 formas estereoisoméricas através da epimerização de seus grupos hidroxila.mio-Inositol (framed) é o isômero mais comum de inositol em alimentos e tecidos animais..... 31

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	HIPÓTESE.....	14
3	OBJETIVOS.....	15
3.1	Objetivo geral.....	15
3.2	Objetivos específicos.....	15
4	REVISÃO DE LITERATURA/ REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
4.1	Fósforo.....	16
4.2	Cálcio.....	17
4.3	Fitase.....	19
4.4	Substratos da fitase: ácido fítico, fitato e fitina.....	22
4.5	Superdosagem.....	25
4.6	Restrição de nutrientes.....	26
4.7	Fitase nova geração.....	28
4.8	Mio-inositol.....	29
4.9	Relação do fósforo e da fitase sobre a qualidade da carne.....	32
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	34
	REFERÊNCIAS.....	35
	Artigo A – Avaliação dos parâmetros de desempenho de suínos em fase de creche, crescimento e terminação utilizando superdosagem de fitase em dietas com teor reduzido de cálcio e fósforo.....	45
	Artigo B – Avaliação dos parâmetros de desempenho de suínos em fase de creche, crescimento e terminação utilizando superdosagem de fitase de quarta geração em dietas com severa restrição de cálcio e fósforo.....	71

1 INTRODUÇÃO

Na suinocultura há um foco contínuo para a otimização da relação custo-benefício nutricional, elemento de maior peso econômico no processo produtivo. Nesta premissa, prioriza-se os nutrientes cujos custos na composição das dietas têm maior valor. Neste sentido, o fósforo (P), segundo mineral mais abundante no organismo, depois do cálcio (Ca) (Zhang; Jiang; Tao, 2010), e terceiro elemento de maior custo em uma dieta, tem recebido muita atenção.

O mineral participa da regulação das principais enzimas metabólicas e atua como um tampão intracelular para o equilíbrio ácido-base. Adicionalmente, o P também é imprescindível para a síntese de proteínas e para o metabolismo celular, bem como para a mineralização esquelética (Humer; Schwarz; Schedle, 2015; Oster *et al.*, 2016). Portanto, otimizar o seu aproveitamento pelo animal é determinante na suinocultura, além das questões econômicas e ambientais (She; Li; Zhang, 2017).

O P está presente nos vegetais principalmente na forma de fitato (até 80% do P total), que tem uma disponibilidade limitada como nutriente para animais monogástricos (Dersjant-Li *et al.*, 2017). Particular aos suínos, a digestão do fitato é limitada devido a produção insuficiente de fitases endógenas gástricas e intestinais (Yi; Kornegay, 1996). Esta baixa disponibilidade se deve ao fato de que o fitato tem a capacidade de formar complexos mineral-fitato, o que torna este e outros minerais, como o Ca, menos disponíveis para absorção (Sandberg; Larsen; Sandström, 1993).

Em 1991, uma enzima nutricional, a fitase bacteriana proveniente do *Aspergillus niger*, com a capacidade de hidrolisar o fitato dietético foi introduzida na Holanda. Esta foi desenvolvida para fornecer aos produtores de suínos e aves os meios para reduzir as concentrações de P nos resíduos das unidades de produção intensiva, a fim de minimizar os danos oriundos da perda do P no meio ambiente (Selle *et al.*, 2012).

Os efeitos da adição de fitase exógena às dietas de suínos com foco no incremento da digestibilidade de nutrientes e da melhora do desempenho zootécnico tem sido bastante estudado (Adedokun *et al.*, 2015). Considerando que os custos de alimentação podem atingir até 60-70% do custo total da produção de suínos, aumentar a dose convencional de fitase em 1,5 a 2 vezes pode ser economicamente atraente quando o valor dos nutrientes liberados é comparado ao custo da fitase sendo utilizada (Dersjant-Li *et al.*, 2017).

A quantidade de P inorgânico liberado pela fitase suplementar e a dose que atinge a digestibilidade máxima do P diferem entre os ingredientes da ração. Isso ocorre porque cada ingrediente tem quantidades diferentes de fitato-P e os efeitos da fitase são dependentes do substrato (Selle; Cowieson; Ravindran, 2009). Além do fitato-P, o principal substrato da fitase, outros fatores como a concentração de cálcio (Ca), a relação Ca/P nas dietas de suínos e o estágio fisiológico dos suínos também podem afetar a eficácia da fitase (Dersjant-Li *et al.*, 2015).

À parte desta condição regular de uso da fitase nas dietas de monogástricos, a enzima, mais recentemente, tem sido usada sob o conceito denominado "superdosagem", definido como o uso de níveis de fitase em maiores concentrações que comumente se pratica comercialmente, representando três ou mais vezes o nível necessário para atender as necessidades de P do suíno, condição focada em também incrementar ainda mais o desempenho animal (Humer; Schwarz; Schedle, 2015), reduzindo o fitato total da dieta, com ações oriundas da liberação de derivados de moléculas de inositol estruturalmente inferiores (Holloway *et al.*, 2016).

Especulou-se que os efeitos extra-fosfóricos da fitase podem estar relacionados à liberação de mio-inositol e à destruição completa (e rápida) de ésteres de fosfato de inositol antinutritivos (Walk *et al.*, 2013). O mio-inositol desempenha um papel importante nos processos celulares e na função celular como fosfolipídios ou fosfatos de inositol (Croze; Soulage, 2013). Cowieson *et al.* (2017) demonstraram que a suplementação de fitase aumentou a concentração plasmática de mio-inositol em suínos. O objetivo desse experimento foi avaliar os parâmetros de desempenho de suíno em fase de creche, crescimento e terminação utilizando superdosagem de fitases de terceira e quarta geração, em rações com diferentes níveis de Ca e P.

2 HIPÓTESE

O presente trabalho apresenta duas hipóteses:

H0: Os animais que receberem a alimentação com superdosagem de fitase nas fases de creche, crescimento e terminação apresentarão os mesmos resultados nos índices zootécnicos e rendimento de carcaça quando comparados aos animais que receberam somente a dieta sem a inclusão da enzima;

H1: Os animais que receberem a alimentação com superdosagem de fitase nas fases de creche, crescimento e terminação apresentarão resultados superiores nos índices zootécnicos e rendimento de carcaça, quando comparados aos animais que receberam somente a dieta sem a inclusão da enzima.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o conceito de duas fitases em alta dose em suínos em fases de creche, crescimento e terminação, submetidos a dietas com severa restrição dos níveis de cálcio e fósforo, sobre o desempenho zootécnico, características de carcaça e de qualidade de carne.

3.2 Objetivos específicos

Avaliação dos parâmetros de desempenho de duas fitases (convencional e de última geração) fornecidas em superdosagem em rações com deficiências severas de Ca e P na fase de creche, crescimento e terminação de suínos;

Avaliar a ação de duas fitases (convencional e de última geração) em superdosagem em rações com deficiências severas de Ca e P nas fases de creche, crescimento e terminação, sob as características de carcaça e qualidade de carne de suínos;

Identificar a melhor dose de fitase para os parâmetros de desempenho, carcaça e qualidade de carne, fazendo uso de fitase comercial convencional e de última geração para suínos em fase de creche, crescimento e terminação.

4 REVISÃO DE LITERATURA/ REFERENCIAL TEÓRICO

Os minerais possuem papel importante na nutrição dos suínos, pois a deficiência ou o excesso dietético impossibilita a expressão do seu máximo desempenho.

4.1 Fósforo

O fósforo (P) é o segundo mineral mais abundante no organismo depois do cálcio (Ca), e é um macroelemento essencial que deve ser suplementado nas dietas fornecidas aos suínos (Zhang; Jiang; Tao, 2010). A maior parte do P nas plantas está ligada ao fitato, que apresenta baixo aproveitamento por animais monogástricos, devido à falta de fitase endógena para quebrar o fitato (Ajakaiye *et al.*, 2003). Como resultado, o P orgânico em ingredientes vegetais é comumente ignorado na determinação dos níveis de fósforo disponível (AP) em dietas para suínos (Ketaren *et al.*, 1993). Portanto, é importante ter conhecimento preciso do teor de P dos ingredientes da ração para suínos por considerações econômicas e ambientais (She; Li; Zhang, 2017).

O P é um dos principais constituintes da estrutura esquelética, está envolvido em muitas reações metabólicas importantes (Crenshaw, 2001). Por esta razão, o fornecimento adequado de P aos suínos é necessário para manter a saúde dos animais. Desde que os produtos exógenos de fitase tornaram-se comercialmente disponíveis em 1991, a fitase melhorou a digestão do P e reduziu a excreção deste pelos suínos (Selle; Cowieson; Ravindran, 2009). A adição de fitase tem sido amplamente aplicada na indústria de rações (Almeida; Sulabo; Stein, 2013) e muitos estudos relataram efeitos positivos progressivos de doses graduadas de fitase na digestibilidade do P (Kies *et al.*, 2006).

A quantidade de P inorgânico liberado pela fitase e a dose que atinge a digestibilidade máxima do P diferem entre os ingredientes da ração. Isso ocorre porque cada ingrediente tem quantidades diferentes de fitato-P e os efeitos da fitase são dependentes do substrato (Selle; Cowieson; Ravindran, 2009). Além do fitato-P, o principal substrato da fitase, outros fatores como a concentração de cálcio (Ca), a relação Ca/P nas dietas de suínos e o estágio fisiológico dos suínos também podem afetar a eficácia da fitase (Sung; Kim, 2019).

O fósforo em ingredientes vegetais está presente principalmente na forma de fitato (até 80% do P total), que tem disponibilidade limitada para animais monogástricos (Dersjant-Li *et al.*, 2017). O P presente nos grãos de cereais está principalmente ligado ao ácido fítico (Lott *et al.*, 2000). Além disso, o ácido fítico se liga a outros cátions (Ca^{2+} , Zn^{2+}) para formar o complexo fitato. A baixa atividade da fitase e a baixa solubilidade do fitato contribuem para a utilização limitada de P e de outros minerais no trato gastrointestinal (TGI) de animais monogástricos, necessitando assim do uso de fitases exógenas (Hang *et al.*, 2019).

O fosfato bicálcico e a farinha de ossos constituem as principais fontes de fósforo, usualmente utilizadas na nutrição de suínos. A farinha de ossos foi o primeiro produto a ser utilizado como fonte de fósforo, porém, o seu uso é restrito, principalmente em função de sua composição variável, problemas causados pela contaminação por microrganismos e oferta limitada (Lopes; Tomich, 2001). O fosfato bicálcico é um produto de excelente qualidade, porém de custo muito elevado, onerando ainda mais o custo das rações, que representa em torno de 70% de um animal terminado. O fósforo adicionalmente é considerado um agente poluidor, pois do total de P consumido pelos animais monogástricos, cerca de 70 a 75% são excretados nas fezes e urina (Oliveira *et al.*, 2001).

4.2 Cálcio

O cálcio (Ca^{+2}), classificado como macromineral, é um metal de baixa dureza, prateado, que reage facilmente com o oxigênio do ar e com a água. Na natureza é encontrado principalmente como constituinte de rochas, como calcários, mármore (CaCO_3), gesso (Sulfato de cálcio ou gesso - $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e fluorita (CaF_2). Ocorrendo também em dentes, cascas de ovos, pérolas e nas conchas de muitos animais marinhos, sendo considerado o quinto elemento mais abundante da terra (Peixoto, 2004).

O Ca é um elemento essencial para todos os seres vivos, o mais abundante no organismo, considerado como um dos principais constituintes dos ossos (99%) e apenas 1 a 2% dos demais tecidos corpóreos (Mcdowell, 1992). Essa pequena fração (1 a 2%) encontra-se distribuída nos tecidos e fluídos corporais, na forma de íons livres, ligados à proteína do soro e complexados a ácidos orgânicos ou inorgânicos (Gonzáles; Silva, 2006), apresentando importantes funções no organismo animal,

como manutenção da permeabilidade normal das células, auxiliando na contração muscular, transmissão do impulso nervoso; ativação e estabilização de sistemas enzimáticos e outras funções reguladoras do organismo. A diminuição do cálcio plasmático estimula a produção do paratormônio (PTH), o qual aumenta a reabsorção de cálcio no osso, elevando sua concentração na circulação, e também nos rins, garantindo redução em sua excreção. (Bertechini, 2006).

O fornecimento de cálcio para os animais ocorre através das dietas, e sua suplementação está em função dos ingredientes das rações, pois a concentração deste mineral varia com os alimentos fornecidos como fonte de cálcio, além do potencial genético do animal, níveis de energia das dietas, condições ambientais, sanidade do animal, demais nutrientes presentes na ração, dentre outros fatores (Mcdowell, 1992).

Os alimentos de origem vegetal, normalmente milho e soja, constituem a base da alimentação dos monogástricos e apresentam teores insuficientes de cálcio para suprir as exigências nutricionais (Rostagno, 2017), pois o fósforo destes ingredientes está na forma de fitato, complexando outros minerais e nutrientes, tornando-os pouco disponíveis para os suínos. Desta forma, há necessidade de se praticar a suplementação de cálcio na dieta para atender estas exigências (Sá *et al.*, 2004).

Apesar do aprofundamento nos estudos de nutrição em função do conhecimento das características físicas e químicas das fontes utilizadas como suplemento de cálcio e fósforo (Salguero *et al.*, 2014), bem como da exigência nutricional para cada fase e categoria animal (Rostagno, 2017), na literatura existem poucas informações sobre os valores de cálcio digestível para suínos, estando as exigências expressas na forma de cálcio total, o que pode resultar em excesso e, como consequência, gera um antagonismo ao propósito desejado (Santana *et al.*, 2018).

O valor nutritivo dos alimentos pode ser avaliado pela composição química da fonte, bem como através da digestibilidade do nutriente e dos efeitos sobre o desempenho dos animais, dessa forma, constata-se a importância em determinar o cálcio digestível das fontes utilizadas como suplemento deste mineral e o efeito dessas fontes sobre o desempenho de suínos nas fases de crescimento (Santana *et al.*, 2018).

4.3 Fitase

A fitase (mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase) é a enzima capaz de quebrar a molécula de fitato e liberar fitato-P (Selle; Ravindran, 2008). No que diz respeito à nutrição de suínos, existem quatro possíveis fontes de atividade de enzimas fitatodegradantes: (I) enzimas endógenas geradas pela mucosa do intestino delgado, (II) atividade enzimática microfloral que está presente principalmente no intestino grosso, (III) atividade intrínseca de fitase vegetal derivada de alimentos específicos, que podem estar presentes na dieta dependendo do tratamento térmico prévio e, (IV) a inclusão na dieta de enzimas alimentares fitase exógenas (Selle; Ravindran, 2008).

Esta enzima foi identificada pela primeira vez no farelo de arroz, há mais de um século (Suzuki; Yoshimura; Takaishi, 1907), estando amplamente presente na natureza. Produzida por muitas espécies de bactérias, fungos e leveduras, é capaz de eliminar as propriedades antinutricionais do fitato (Selle; Ravindran, 2008). Esta enzima, em escala comercial é produzida por um número limitado de organismos, sendo o *Aspergillus flavus* um dos mais importantes (Fireman; Fireman, 1998).

O trabalho de Simons *et al.* (1990) é o primeiro registro da aplicação bem-sucedida de fitase microbiana na nutrição de suínos. As fitases microbianas tornaram-se comercialmente disponíveis em 1991 (Lenis; Jongbloed, 1999), quando a legislação introduzida na Holanda destinada a reduzir a produção de P das unidades de produção de suínos e aves gerou impulso para o seu desenvolvimento e aceitação.

O primeiro produto comercial de fitase, que se tornou disponível, ofereceu aos nutricionistas de animais a ferramenta para reduzir drasticamente a excreção de fósforo pelos monogástricos, substituindo os fosfatos inorgânicos pela fitase microbiana (Haefner *et al.*, 2005)

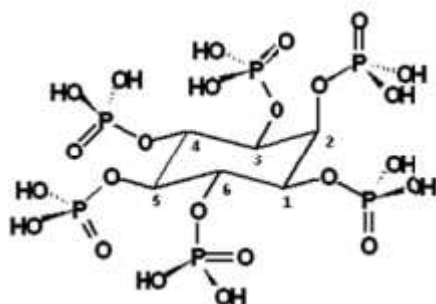
O primeiro e mais extensivamente estudado grupo de fitases é classificado como ácido histidina fosfatases (HAPs), no entanto outras classes de fitase são contempladas: fitase β -hélice (BPPHy, também referida como fitase alcalina), fitase ácida púrpura e proteína tirosina fosfatase (Dersjant-Li *et al.*, 2015).

Atualmente todas as fitases alimentares comerciais pertencem às HAPs e são fosfatases ácidas (Lei *et al.*, 2013). A primeira geração de fitase comercializada foi uma fitase fúngica (*A. niger*) que foi lançada em 1991. Em 1999, descobriu-se que a *E. coli* fosfatases ácidas foram mais eficazes do que fitase fúngica (Rodriguez *et al.*, 1999; Rodriguez; Han; Lei, 1999). Isso levou ao desenvolvimento de novas gerações

de fitases bacterianas, que se apresentaram superiores em vários aspectos à primeira geração de fitases fúngicas como alimentos aditivos (Lei *et al.*, 2013).

Essas fitases podem ser divididas em três e seis fitases, dependendo do sítio do carbono de hidrólise do ácido fítico (posição 3 *versus* 6, Figura 2).

Figura 1 – Estrutura do ácido fítico (myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakiphosphato (IP6, IUPAC)



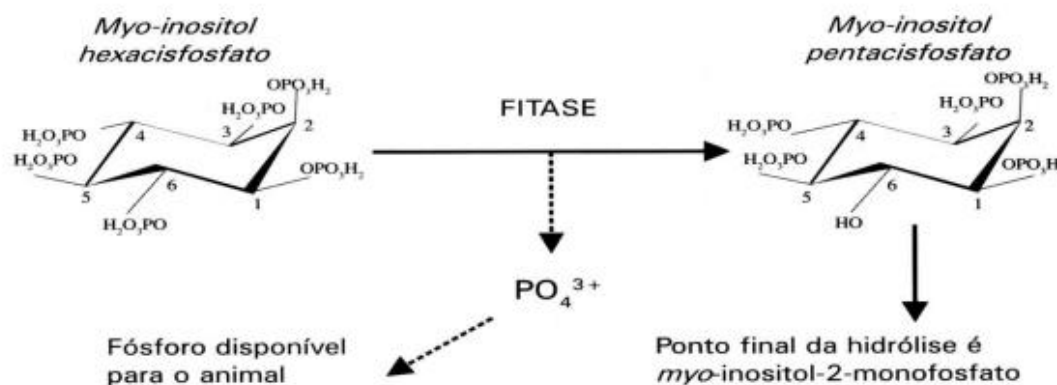
Fonte: IUPAC-IUB (1989, p. 198).

As diferenças na bioeficácia por unidade de fitase podem ser explicadas pelas distintas origens das fitases microbianas (Haefner *et al.*, 2005). Foi observado que as fitases bacterianas de nova geração têm uma afinidade muito específica para o IP6 e o IP5, e apresentam maior resistência à digestão proteolítica do que a fitase fúngica, o que pode explicar parcialmente sua maior eficácia relatada em estudo conduzido (Adeola; Cowieson, 2011).

A atividade da fitase na mucosa intestinal de suínos é reduzida devido à baixa produção da enzima endógena por esta espécie. Nos suínos, a atividade da flora microbiana tem atuação no intestino grosso. Assim, a fitase microbiana produzida por estes microrganismos promove a hidrólise do fitato, liberando o fósforo sem que o animal se beneficie (Figura 3), sendo excretado nas fezes (Vats; Banerjee, 2004).

Surpreendentemente, os suínos não excretam grandes quantidades de fitato-P devido ao papel da fermentação do intestino posterior, essa quantidade individual minimizada se potencializa em escala industrial na produção de suínos, sendo a poluição por P dos ecossistemas aquáticos um sério causador de problemas ambientais, que pode levar à eutrofização das reservas de água, conforme revisado por Sharpley, Robinson e Smith (1995).

Figura 2 - Liberação de fósforo do ácido fítico pela ação da fitase



Fonte: Petersen (2001).

A enzima fitase, quando adicionada nas rações, atua nas ligações do grupo fosfato, liberando o fósforo e outros minerais, que fazem parte dessa molécula (Cromwell, 1991). Os primeiros estudos realizados com a enzima fitase, apesar de promissores, tiveram como principal entrave o alto custo de obtenção do produto (Gomes; Cony; Stella, 2019). Porém, com o avanço da tecnologia de fermentação, a fitase vem sendo comercializada industrialmente, o que tem despertado maior interesse de diversos nutricionistas preocupados com o alto custo do fósforo inorgânico e com a poluição ambiental (Cromwell *et al.*, 1995).

A fitase (mio-inositol hexaquisfosfato fosfohidrolase) catalisa a remoção gradual de fosfato do ácido fítico ou do seu sal fitato (Wyss *et al.*, 1999; Yu *et al.*, 2012). A remoção do grupo fosfato começa com um ácido fítico totalmente fosforilado (IP6), seguido por penta- (IP5), tetra- (IP4), tri- (IP3), di e monoésteres de inositol em ordem decrescente de preferência. Isso significa que a fitase primeiro hidrolisa todo o ácido fítico totalmente fosforilado disponível em penta-ésteres de inositol antes de hidrolisar o último em tetra-ésteres de inositol e assim por diante (Dersjant-Li *et al.*, 2015).

Em uma situação considerada ideal, uma hidrólise completa resultará em um mio-inositol e fosfato (mais aminoácidos, minerais e outros nutrientes que estão ligados ao ácido fítico). No entanto, *in vivo* a hidrólise será incompleta e, portanto, normalmente resultará em uma mistura de inositol-ésteres de fosfato (por exemplo, IP5, IP4etc) (Wyss *et al.*, 1999; Yu *et al.*, 2012).

A fitase, além de aumentar o valor nutricional das rações, auxilia na redução

da suplementação do fósforo, com diminuição dos custos na alimentação, bem como contribui com o meio ambiente, ao evitar que o excesso desse mineral contamine mananciais e o solo (ABCS, 2014).

Existem na literatura vários experimentos adicionando a fitase microbiana, com o objetivo principal de quantificar o efeito da digestibilidade aparente e sua disponibilidade, focados no desempenho zootécnico dos suínos. Um desses estudos foi realizado por Grela *et al.* (2020), que utilizaram dietas deficientes em P disponível, com inclusões crescentes de uma fitase comercial (Ronozyme Hiphos) nas doses de 250, 500, 1000 ou 1500 FTY/kg de ração, e obtiveram menor ganho diário de peso (GPD) em leitões do grupo controle negativo (deficiente em P e Ca) quando comparados ao grupo controle positivo durante o período de engorda e terminação, assim como na conversão alimentar (CA), em que os suínos alimentados com a dieta controle negativo apresentaram piora na CA em relação aos animais da dieta CP. Por sua vez, a CA melhorou com o aumento do nível de fitase nas dietas deficientes em fósforo e, durante o período de terminação, o consumo diário de ração não diminuiu com o aumento do nível de fitase, mas sim, para todos os suínos alimentados com dietas deficientes em fósforo, a CA não foi diferente daquela observada para suínos alimentados com ração CP.

Cowieson *et al.* (2017) pontuam como síntese de uma revisão sobre o tema que diferentes fitases, com efeitos equivalentes na digestibilidade do fósforo devem ter valores equivalentes de liberação de aminoácidos atribuídos e que os valores dependentes da espécie não são apenas justificados, mas de importância crítica para o uso ideal da fitase na produção animal.

É geralmente aceito que o crescimento do suíno na fase de creche é restringido por um suprimento insuficiente de energia, simplesmente devido à capacidade física do intestino, em outras palavras, os porcos jovens não podem consumir ração suficiente para fornecer energia suficiente para suportar todo o seu potencial genotípico de crescimento. Se a fitase aumentasse a disponibilidade de energia, os porcos seriam capazes de crescer mais rápido (Holloway *et al.*, 2019).

4.4 Substratos da fitase: ácido fítico, fitato e fitina

Para descrever o substrato da enzima fitase, três terminologias são frequentemente utilizadas: ácido fítico, fitato e fitina.

O ácido fítico é o termo dado à forma de ácido livre totalmente protonado, enquanto o fitato e a fitina são frequentemente associados aos sais mistos do ácido fítico, por exemplo, Mg, K e Ca. (Maga, 1983). No entanto, ácido fítico, fitato, IP6 e fitina são frequentemente usados como sinônimos na literatura, o que levou a um grau de confusão em alguns casos (Cowieson *et al.*, 2016).

Ácido fítico (1,2,3,4,5,6 myo-inositol hexakis di-hidrogenofosfato) é a principal forma de armazenamento de fósforo no material vegetal e encontra-se amplamente distribuído em cereais, leguminosas e farinhas de oleaginosas, em concentrações que variam entre 7-8 g/kg no milho a 50-60 g/kg em outros cereais (Eeckhout; De Paepe, 1994). No entanto, embora o ácido fítico seja encontrado sob baixas concentrações em relação ao amido, proteína, gordura e fibra, ele desempenha um papel central na determinação da biodisponibilidade de cátions, fósforo e também certos aminoácidos e carboidratos (Cowieson *et al.*, 2009).

Diversos aditivos têm sido utilizados na dieta dos suínos em busca dos melhores desempenhos e rentabilidade. Além da inclusão de ácidos orgânicos, a enzima fitase efetivamente constitui o aditivo mais eficiente neste sentido determinando resultados zootécnicos consistentes. Seu uso é justificado pelo fato das rações serem compostas em grande parte por ingredientes de origem vegetal, em especial o milho e o farelo de soja. Estes apresentam cerca de dois terços do seu fósforo complexado na molécula de ácido fítico, não majoritariamente utilizados pelos suínos porque estes não sintetizam a enzima fitase necessária para hidrolisar este complexo (Costa *et al.*, 2011).

Para Corley, Baker e Easter (1980) e Rostagno (2017), os cereais possuem mais da metade do fósforo na forma de fitato, com disponibilidade biológica que varia entre 18 e 60%. Por isso, de acordo com Smith *et al.* (2004), há necessidade de fazer a suplementação com minerais contendo fósforo, o que favorece a perda de somas de fósforo via fezes.

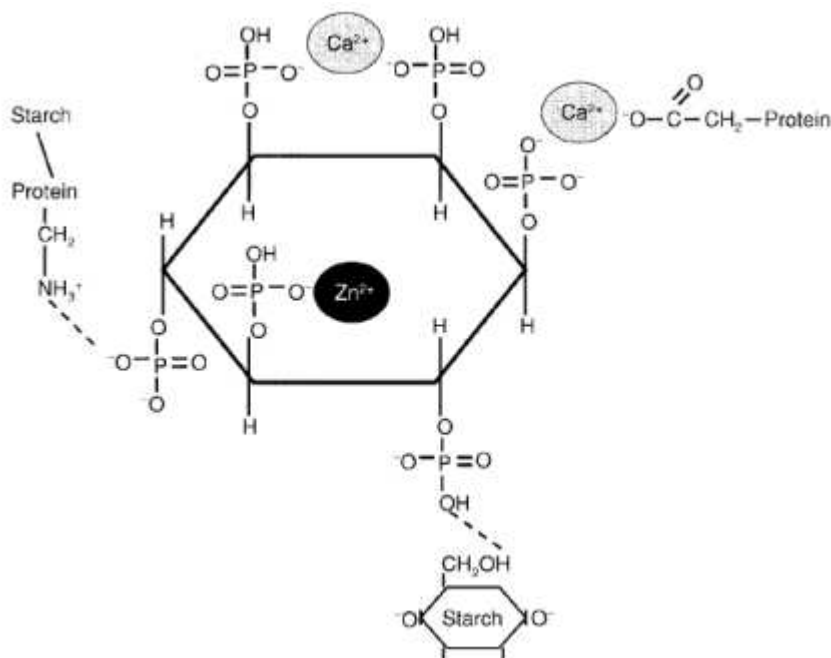
A quantidade de fósforo excretado pelos suínos é alta porque os cereais milho e trigo, usados nas rações, contêm 80% a 90% de fósforo orgânico na forma de ácido fítico ou hexafosfato de inositol (Leytem; Turner; Thacker, 2004; Minggang *et al.*, 1997; Turner *et al.*, 2002). O conteúdo de ácido fítico no milho e no trigo varia de 66% a 78% do fósforo total e no farelo de soja varia de 45% a 61% (Petersen, 2001).

A importância do ácido fítico do ponto de vista antinutricional, deve-se principalmente à sua capacidade de formar complexos com cálcio, ferro, zinco, cobre

e magnésio no alimento *in natura* e no trato intestinal, diminuindo assim a sua biodisponibilidade (Cheryan, 1980; Forbes; Parker; Erdman, 1984). Neste sentido, o ácido fítico desenvolve duas ações antinutricionais: inibidor de protease e a outra por combinação com minerais, formando sais inabsorvíveis no trato intestinal (Khan; Zaman; Elahi, 1991). Além disso, conforme Costa *et al.* (2011), o fitato diminui a disponibilidade das moléculas de glicose conjugadas.

O fitato também afeta negativamente a disponibilidade de aminoácidos nos alimentos (Ravindran *et al.*, 1999), demonstrando uma capacidade na redução da atividade das enzimas digestivas (Caldwell, 1992; Deshpande; Cheryan, 1984; Knuckles; Betschart, 1987), além de formar compostos Ca-fosfato-fitato complexos (Figura 1) com carboidratos (Thompson; Yoon, 1984). Ravindran *et al.*, (1999) também sugeriram que o complexo Ca-fitato se complexa com ácidos graxos no lúmen intestinal e forma sabões metálicos insolúveis, diminuindo assim a digestibilidade da gordura.

Figura 3 - Estrutura do fitato e principais nutrientes passíveis de formação de complexo



Fonte: Adaptado de Kornegay (2001).

As interações proteína-fitato contribuem para as propriedades antinutritivas do fitato em dietas de suínos e aves (Selle *et al.*, 2012). Em termos gerais, a probabilidade é que essas reduções diretas e indiretas na solubilidade da proteína induzidas pelo

fitato deprimam a utilização da proteína.

Fitina, refere-se especificamente ao complexo de mio-inositol hexafosfato com potássio, magnésio e cálcio, forma que é encontrado nas plantas, enquanto o ácido fítico é a forma livre do anel de myo-inositol hexafosfato (Selle; Ravindran, 2008).

4.5 Superdosagem

A atividade de fitase é expressa como o número de unidades de fitase (FTU ou FYT) por unidade de ração. O método padrão da Association of Official Agricultural Chemists (AOAC, 2002) define 1 unidade de fitase como a quantidade de enzima fitase necessária para liberar 1 μmol de P inorgânico por minuto, a pH 5,5, de um excesso de 15 μmol por L de fitato de sódio a 37° C. No entanto, 1 FTU de uma fonte não tem necessariamente a mesma liberação P que 1 FTU de outra fonte (Hang *et al.*, 2019). Isto, porque enzimas diferentes têm diferentes faixas de pH ótimo, nas quais determinando que a diferenciação e as estimativas *in vivo* não são suportadas pelo método AOAC padrão (AOAC, 2002; Kerr *et al.*, 2010).

A "Superdosagem" é definida como o uso de níveis de fitase sob valores superiores (3 vezes ou mais) que atendam a necessidade de P do suíno, com vistas a promover resultados superiores de desempenho comparados com o uso de níveis tradicionais da enzima (Humer; Schwarz; Schedle, 2015), reduzindo o fitato total da dieta e liberando derivados de inositol inferiores (Zier-Rush *et al.*, 2012; Holloway *et al.*, 2016;). A hipótese geral da proposta da superdosagem de fitase contempla a melhora do desempenho dos suínos, sendo este mais consistente na fase de creche do que nas fases subsequentes (Holloway *et al.*, 2019). Fato que poderia ser explicado devido à diminuição da atividade enzimática e à mudança drástica do substrato dietético que ocorre no desmame. Assim, mesmo uma pequena melhora na digestibilidade do amido ou outro nutriente resultaria em melhor desempenho de crescimento devido ao fato de o leitão recém desmamado ter inerentemente capacidade digestiva limitada (Hang *et al.*, 2019).

Assim, uma definição mais objetiva, trata que suplementação de fitase em uma dose que excede o nível padrão usado para liberar P ligado ao fitato é considerada como superdosagem de fitase (geralmente níveis bem acima de 500 FTU/kg e até 2.500 FTU/kg) (Moran *et al.*, 2019).

Alguns estudos mostraram que a superdosagem de fitase melhora o

desempenho dos suínos em comparação a doses padrão de fitase (Wilcock *et al.*, 2014; Lee; Bedford, 2016; Moran *et al.*, 2017;). Teoricamente, é possível que altos níveis de fitase possam desfitinizar as dietas, o que implica na degradação do ácido inositol hexafosfórico antinutricional insolúvel (IP) e subsequente geração de fosfatos de inositol inferiores (IP) em inositol (Cowieson; Wilcock; Bedford, 2011).

Neste sentido, Silva *et al.* (2019) avaliaram o efeito de doses crescentes de fitase bacteriana (RONOZYME HiPhos) no desempenho e nas características de carcaça de suínos em crescimento e terminação, e concluíram que doses de 1000, 2000 ou 3000 FYT/kg de ração em dietas à base de milho e farelo de soja, com redução de fósforo inorgânico e cálcio, promovem a melhora do ganho de peso diário e do consumo de ração, com resultados permanentes até a idade de abate, com uma relação dose-resposta bem definida, além disso auxilia na redução de cálcio e fósforo na dieta sem prejuízo das características de deposição de carne magra na carcaça.

Trabalhando com suínos do desmame até o abate, Holloway *et al.* (2019) observaram que o fornecimento de fitase em níveis de “superdose” – acima do necessário para atender a exigência de fósforo – melhorou o desempenho de crescimento em leitões de creche (6 a 22 kg PV) e proporcionou menores benefícios em suínos em crescimento (37 a 122 kg PV).

O aumento na digestibilidade de outros nutrientes, é uma consequência do uso da superdose de fitase. Estudando o efeito da superdosagem de fitase microbiana na digestibilidade ileal de aminoácidos em suínos, Cowieson *et al.* (2017) concluíram que a fitase melhora os coeficientes de digestibilidade ileal aparente de aminoácidos em suínos, determinando mudanças nos valores da matriz de aminoácidos.

Madrid *et al.* (2013) estudando o efeito da fitase na digestibilidade de nutrientes, utilização de minerais e desempenho em suínos em fase de crescimento, afirmaram que a suplementação com fitase melhorou o desempenho e a digestibilidade da maioria dos minerais estudados.

4.6 Restrição de nutrientes

Um dos importantes desafios enfrentados na suinocultura é a disponibilidade das fontes de fósforo inorgânico, que se mostram cada vez mais escassas e de elevado custo. Assim, a utilização da enzima fitase para monogástricos tornou-se uma realidade mundial, consistindo na mais importante enzima de uso comercial na

suinocultura (ABCS, 2014).

Como a absorção e utilização de P em suínos em crescimento está relacionada com a concentração de Ca dietético, as necessidades de P e Ca devem ser estudadas em conjunto (Lautrou *et al.*, 2021). Complexos insolúveis e indigeríveis de Ca-P podem se formar no intestino (Selle; Cowieson; Ravindran, 2009), comprometendo seu aproveitamento.

Os depósitos de Ca e P no osso são co-dependentes. Se a disponibilização do fósforo for baixa, seu aproveitamento deverá ser maximizado, demandando um aporte ajustados às necessidades para aquela condição de peso, *status* sanitário, potencial genético e função produtiva (Lautrou *et al.*, 2021).

Vários trabalhos que tratam da restrição do Ca e P em dietas que fazem uso da fitase sob o conceito de superdose (Santos *et al.*, 2014; Guggenbuhl *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2019; Grela *et al.*, 2020; Tsai *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2022) em geral determinam resultados positivos. Laird *et al.* (2016), estudando os efeitos da fitase no desempenho de suínos em crescimento e a degradação ileal de inositol fosfato, observaram que a fitase melhorou o desempenho de suínos alimentados com uma dieta com baixo teor de P, no entanto, não houve diferenças entre os tratamentos de 500 e 2.000 FTU/kg.

Utilizando dietas CN, com redução de 0,13% do fósforo disponível e 0,11% do cálcio; e três dietas CN suplementadas com 1.000, 2.000 e 3.000 unidades de fitase (FYT)/kg na ração, Silva *et al.* (2019), observaram um aumento no GPD e ganho de peso final.

Embora teoricamente seja possível desfitinizar uma dieta animal, usando altas doses de fitase exógena, há uma série de fatores que podem limitar a extensão dessa conduta em condições comerciais. Cowieson *et al.* (2016) tratam que o conceito 'nutrição livre de fitato' é complexa. Os autores apontam que os fatores que podem estar envolvidos na hidrólise da fitina, sugerindo maneiras práticas pelas quais a fitina pode ser estrategicamente removida das dietas dos animais e explorando as prováveis consequências desses fatores no desempenho animal, são laboriosas, envolvendo ações que ultrapassam a pura remoção do fitato da dieta e a liberação de fosfato e inositol. A nutrição sem fitato é a criação de um cenário de dieta que pode acomodar os efeitos benéficos da remoção de fitato, a geração de fosfato e inositol livres, traduzindo esta combinação em respostas positivas de ganho de peso e conversão alimentar (Cowieson *et al.*, 2016).

4.7 Fitase nova geração

As enzimas exógenas mais utilizadas atualmente na nutrição de monogástricos são as fitases de origem bacteriana, atuando na hidrólise do fitato e na liberação do fosfato (Adeola; Cowieson, 2011). Existem inúmeras fitases exógenas comercialmente disponíveis, cada uma com diferentes linhagens de produção (Thorsen *et al.*, 2021), pH ótimo, estabilidade gástrica e térmica, e eficácia para degradar tanto o fitato quanto os ésteres de fitato inferiores (Menezes-Blackburn; Gabler; Greiner, 2015).

As fitases são comumente desenvolvidas por meio de engenharia genética (Almeida; Sulabo; Stein, 2013), como a fitase de *Escherichia coli*, expressa em *Trichoderma reesei*, e a fitase de *Citrobacter braakii*, expressa em *Aspergillus oryzae* (Dersjant-Li *et al.*, 2015), podendo ser classificadas em dois grupos, 3-fitases ou 6-fitases, de acordo com a localização no fitato na molécula onde o primeiro ortofosfato é hidrolisado (Braña *et al.*, 2006; Jongbloed *et al.*, 2004).

As fitases recentes, geralmente descritas como produtos de terceira geração, são consideradas uma evolução e avanço de seus produtos de geração anterior, que foram desenvolvidos no final dos anos 1980 e início dos anos 1990 (Zhang *et al.*, 2002).

Os avanços contínuos na engenharia de proteínas levaram a melhorias na temperatura intrínseca e na estabilidade do pH (Thorsen *et al.*, 2021) e no desenvolvimento da próxima geração de novas fitases, os chamados produtos de quarta geração, com temperatura intrínseca aumentada e estabilidade de pH (HiPhorius, DSM Nutritional Products).

Thorsen *et al.* (2021) demonstraram que as fitases comerciais, atualmente disponíveis no mercado foram derivadas de um grupo de microrganismos, entre eles o *Aspergillus spp.*, *Buttiauxela sp.*, *Citrobacter braakii*, *Escherichia coli*, *Hafnia sp.*, e *Peniophora lycii*. Recentemente, a preparação da fitase produzida através da *Citrobacter braakii*, expressa em *Aspergillus Oryzae*, descrita como Fitase HM, resultou numa nova fitase comercial denominada HiPhorius™ (Produtos Nutricionais DSM, Suíça).

Em seu estudo, Thorsen *et al.* (2021) observaram que a fitase HM aumentou a estabilidade intrínseca da temperatura e do pH em comparação com a fitase da geração anterior, ambas alcançadas por engenharia de proteínas. Um dos conceitos

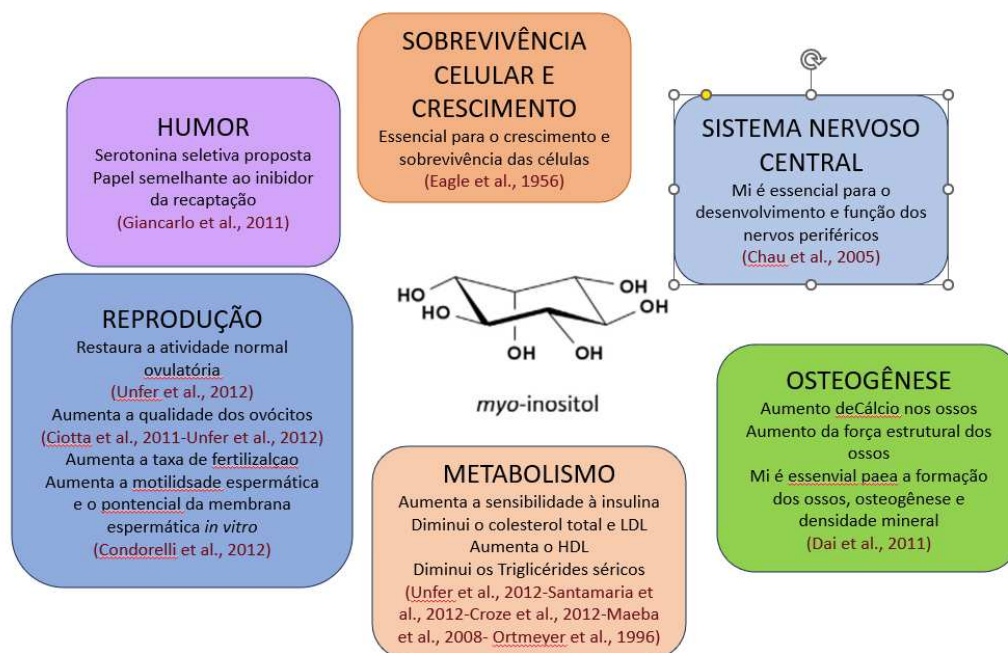
usados para a estabilidade da temperatura foi a introdução de pontes de dissulfeto adicional que levam a temperaturas de desdobramento mais altas e à cinética de desativação térmica mais lenta (Sanchez-Romero *et al.*, 2013).

Um projeto de 2013, onde as pontes dissulfeto projetadas foi baseado em simulações de dinâmica molecular realizadas em diversas temperaturas em um modelo de homologia da fitase de *C. Braakii*. O *Aspergillus oryzae* é um hospedeiro de produção bem conhecido e atualmente é usado para produzir enzimas comerciais usadas em rações animais, bem como em outras áreas, como as industriais (Thorsen *et al.*, 2021).

4.8 Mio-inositol

O mio-inositol (MYO) é um ciclitol naturalmente presente nas células animais e vegetais, seja na forma livre ou como um componente ligado a fosfolipídios ou a derivados de fosfato de inositol (Croze; Soulage, 2013). A molécula tem um papel importante nos vários processos celulares, como base estrutural de mensageiros secundários em células eucarióticas e, em particular, como trifosfatos de inositol (IP3), lipídeos fosfatidilinositol fosfato (PIP2/ PIP3) e possivelmente inositol glicanos. Por esta razão, mio-inositol é essencial ou importante para o bom funcionamento de uma ampla gama de funções celulares, incluindo crescimento celular e sobrevivência, desenvolvimento e função dos nervos periféricos, osteogênese (aumento do cálcio e da força estrutural nos ossos, assim como da densidade mineral), atua no metabolismo, aumentando a sensibilidade à insulina, diminuindo o colesterol total e os triglicérides, na reprodução atua restaurando a atividade ovulatória, aumentando a qualidade dos ovócitos, assim como a motilidade espermática e o potencial da membrana espermática e no humor atua nos níveis de serotonina. (Figura 4).

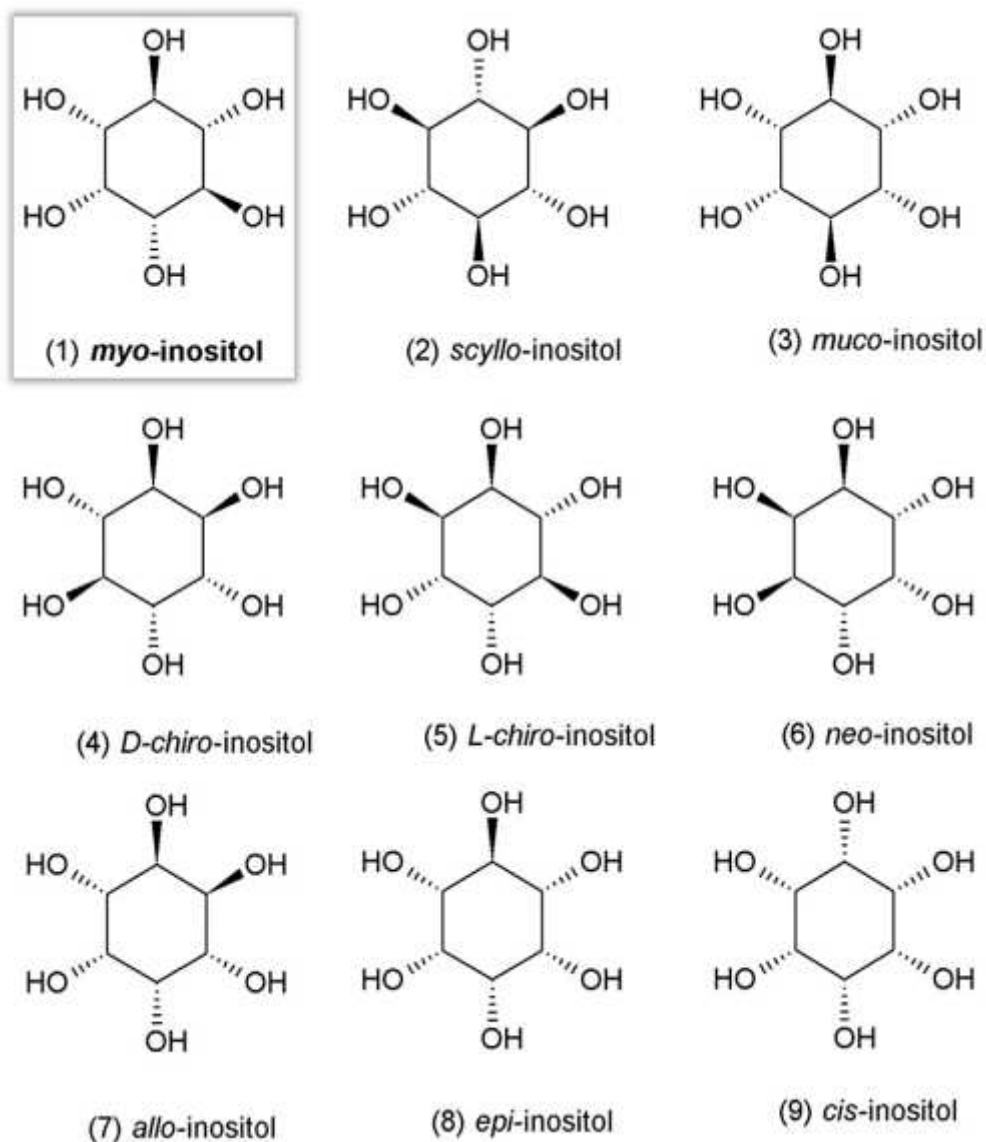
Figura 4 - Funções e benefícios de um suplemento dietético de mio-inositol para a saúde humana



Fonte: Tradução de Croze e Solauge (2013).

Tem sido sugerido que parte do efeito benéfico da fitase microbiana em aves pode ser derivada da geração de MYO através de uma cascata enzimática iniciada pela fitase, que resulta na desfosforilação completa do fitato dietético (Bedford; Partridge, 2010; Cowieson; Wilcock; Bedford, 2011; Józefiak *et al.*, 2010). Deve-se considerar, no entanto, que não existem evidências conclusivas para a desfosforilação completa do fitato, portanto, esse mecanismo é teórico (Cowienson *et al.*, 2016). Inositol é um álcool de açúcar cíclico com uma fórmula semelhante à glicose. Existe em nove formas estereoisoméricas como mostra a Figura 5; no entanto, apenas MYO demonstra atividade biológica (Mcdowell, 2000).

Figura 5 - Estruturas dos nove estereoisômeros do inositol. O inositol existe sob 9 formas estereoisoméricas através da epimerização de seus grupos hidroxila. *myo*-Inositol (framed) é o isômero mais comum de inositol em alimentos e tecidos animais



Fonte: Croze e Soulage (2013).

Todas as células vivas (animais, vegetais, bactérias, fungos) contêm fosfolipídios inositol em suas membranas, e o ácido fítico é a principal forma de armazenamento de fósforo em muitos tecidos vegetais, especialmente nos farelos e nos grãos (Croze; Soulage, 2013). Seu papel não está totalmente definido, embora sua funcionalidade bioquímica decorra de seu envolvimento na estrutura de fosfolipídios e lipoproteínas (Mcdowell, 2000).

Em alimentos e rações, o MYO ocorre em três formas: MYO livre, fosfolipídios contendo inositol e hexafosfato de inositol (ácido fítico) (Combs Junior; Mcclung, 2008), sendo este último simultaneamente o mais abundante e o menos disponível para absorção intestinal em animais monogástricos.

Estudos conduzidos por Lee *et al.* (2016) utilizando superdosagem de fitase para leitões pós-desmame, foi caracterizada como uma ferramenta para reduzir o estresse e apoiar a adaptação ao desmame parecendo estar relacionada com a melhoria das condições gástricas para a digestão, degradação do fitato e fornecimento de MYO em leitões.

O foco mais recente tem sido o uso de altas doses de fitase (> 1.500 FYT/kg) para obter maior desempenho, além dos benefícios já previstos determinados pelo P extra liberado pela fitase. Guggenbuhl, Calvo e Fru (2016) relataram maior ganho diário de peso com a adição de 3.000 FYT/kg de ração em suínos em fase de crescimento e terminação, submetidos a dietas deficientes em P, comparado com uma dieta controle positivo com níveis adequados do mineral. Isso potencialmente indicou efeitos extra fosfórico (que seria o lançamento do meu-inositol através da hidrólise completa dos grupos fosfato no fitato, tendo efeito mimético da insulina na estimulação da captação de glicose pelos tecidos. A insulina estimula a captação de glicose, sendo seu transporte em fator limitante da taxa de síntese de glicogênio muscular) e benefícios do alto nível dietético de suplementação de fitase (Hang *et al.*, 2019).

4.9 Relação do fósforo e da fitase sobre a qualidade da carne

O termo “Qualidade” envolve diversos processos que se iniciam desde a criação dos animais até o momento do preparo para o consumo do alimento *in natura*. Dentre os atributos de qualidade, cor e marmoreio são facilmente visíveis pelos consumidores e, dessa forma, constituem os primeiros parâmetros de escolha no momento da compra. Contudo, outros atributos não avaliados diretamente pelos consumidores como pH, capacidade de retenção de água, maciez e grau de oxidação também podem ser mensurados para se determinar a qualidade da carne (Killinger *et al.*, 2004).

Neste tema, o fósforo é essencial na formação e mineralização da matriz orgânica óssea e no desenvolvimento muscular (Saraiva *et al.*, 2009). Assim, quando a exigência mínima desse mineral é suprida, neste caso, pela fitase, mais animais têm

a oportunidade de mostrar seu potencial genético para deposição de tecido magro, até certo limite, melhorando assim a uniformidade da carcaça. Assim, os benefícios desse padrão de inclusão estão relacionados não apenas ao desempenho animal, mas também à saúde, bem-estar e, possivelmente, à qualidade da carne (Cowieson; Wilcock; Bedford, 2011), sendo esta última determinada pelo aumento significativo nos níveis plasmáticos de mio-inositol (Silva *et al.*, 2019).

Também relacionada à qualidade da carne, os lipídios imprimem características sensoriais importantes, como aroma, cor, maciez e suculência. No entanto, estes podem ser degradados sob diversas formas, sendo oxidados, hidrolisados, ou sofrendo polimerização e pirólise (Araújo, 2004). A oxidação lipídica corresponde a uma das mais importantes deteriorações relacionadas a carne, uma vez que gera produtos indesejáveis que podem restringir a vida útil e além disso, destruir vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais (Osawa; Felício, 2005).

A fase mais expressiva da oxidação lipídica ocorre durante o processamento, estoque e preparo da carne, pela liberação do ferro da hemoglobina e mioglobina (Morrissey *et al.*, 1998). Uma alternativa para minimizar a oxidação lipídica das carnes é a suplementação das rações animais com substâncias que protegem os músculos desta reação, substâncias estas conhecidas como antioxidantes. Sabe-se que o ácido fítico inibe a peroxidação lipídica da carne, acelerando a auto-oxidação de íons ferrosos para íons férricos, formando quelatos férricos, inativando-os cataliticamente (Maga, 1983).

Referente à qualidade de carne, Lozano *et al.* (2011), não encontraram diferença entre os tratamentos experimentais: ração sem fitase, e rações com 500, 1000 e 1500 FTU para os parâmetros avaliados, independentemente do nível de fitase usada, assim como Souza *et al.* (2008), que observaram ausência de diferenças nas análises de cor, pH, firmeza e força de cisalhamento entre os tratamentos incluindo ou não a fitase.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Brasil a base dos ingredientes das dietas ofertadas aos suínos provem de ingredientes de origem vegetal, matérias-primas com elevados níveis de fitato, uma vez reconhecendo a fitase como uma opção real para otimização do aproveitamento do cálcio e fósforo nessas dietas, estudos continuam sendo necessários para padronizar níveis, e solidificar o conceito de superdosagem dessa enzima, já realizado em vários trabalhos, relacionando-os com desempenho, além da qualidade da carcaça e da carne.

REFERÊNCIAS

ABCS - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE SUÍNOS. **Produção de suínos**: teoria e prática. Brasília, DF: ABCS, 2014.

ADEDOKUN, S. A.; OWUSU-ASIEDU, A.; RAGLAND, D.; PLUMSTEAD, P.; ADEOLA, O. The efficacy of a new 6-phytase obtained from *Buttiauxella spp.* expressed in *Trichoderma reesei* on digestibility of amino acids, energy, and nutrients in pigs fed a diet based on corn, soybean meal, wheat middlings, and corn distillers' dried grains with solubles. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 93, n. 1, p.168-175, Jan. 2015. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7912>.

ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, n. 10, p. 3189–3218, Oct. 2011. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3715>.

AJAKAIYE, A.; FAN, M. Z.; ARCHBOLD, T.; HACKER, R. R.; FORSBURG, C. W.; PHILLIPS, J. P. Determination of true digestive utilization of phosphorus and the endogenous phosphorus outputs associated with soybean meal for growing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, n. 11, p. 2766–2775, Nov. 2003. DOI: <https://doi.org/10.2527/2003.81112766x>.

ALMEIDA, F. N.; SULABO, R. C.; STEIN, H. H. Effects of a novel bacterial phytase expressed in *Aspergillus oryzae* on digestibility of calcium and phosphorus in diets fed to weanling or growing pigs. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, London, v. 4, n. 1, p. 1-10, 2013.

AOAC INTERNATIONAL. AOAC official method 2000.12: Phytase activity in feed: colorimetric enzymatic method. *In*: AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis of AOAC international**. 17th ed. Arlington: Oxford University Press, 2002. p. 629-630.

ARAÚJO, J. M. A. Oxidação de lipídios em alimentos. *In*: ARAÚJO, J. M. **Química de Alimentos**. 3. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2004. p. 1-67.

BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. Feed enzymes, the future: bright hope or regulatory mine field. *In*: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. (ed.). **Enzymes in farm animal nutrition**. 2nd ed. 2010. p. 304–312.

BERTECHINI, A. G. Metabolismo dos minerais. *In*: BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Editora UFLA, 2006, p. 169-211.

BRAÑA, D. V.; ELLIS, M.; CASTAÑEDA, E. O.; SANDS, J. S.; BAKER, D. H. Effect of a novel phytase on growth performance, bone ash, and mineral digestibility in nursery and grower-finisher pigs, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 7, p.1839-1849, July 2006. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2005-565>

CALDWELL, R. A. Effect of calcium and phytic acid on the activation of trypsinogen and the stability of trypsin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 40, n. 1, p. 43–46, Jan. 1992.

CHERYAN, M. Phytic acid interactions in foods systems. CRC. Critical Reviews. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 13, n. 4, p. 297-355, 1980.

COMBS JUNIOR, G. F.; McCLUNG, J. P. **The vitamins**: fundamental aspects in Nutrition and Health. 3rd ed. [S. l.]: Academic Press, 2008. p. 413-418.

CORLEY, J. R.; BAKER, D. H.; EASTER, R. A. Biological availability of phosphorus in rice bran and wheat bran as affected by pelleting. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 5, n. 2, p. 286-292, 1980.

COSTA, L. B.; BERENCHTEIN, B.; ALMEIDA, V. V.; TSE, M. L. P.; BRAZ, D. B.; ANDRADE, C.; MOURÃO, G. B.; MIYADA, V. S. Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como promotores de crescimento de leitões desmamados. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 60, n. 231, p. 687-698, 2011.

COWIESON, A.; BEDFORD, M.; SELLE, P.; RAVINDRAN, V. Phytate and microbial phytase: implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. **World's Poultry Science Journal**, Abingdon, v. 65, n. 3, p. 401-418, 2009. DOI: <http://doi.org/10.1017/S0043933909000294>

COWIESON, A.; ROOS, F.; RUCKEBUSCH, J.; WILSON, J.; GUGGENBUHL, P.; LU, H.; ADEOLA, O. Time-series responses of swine plasma metabolites to ingestion of diets containing myo-inositol or phytase. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 118, n. 11, p. 897-905, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114517003026>

COWIESON, A.; RUCKEBUSCH, J. P.; KNAP, I.; GUGGENBUHL, P.; FRU-NJI, F. Phytate-free nutrition: a new paradigm in monogastric animal production. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 222, p. 180–189, Dec. 2016.

COWIESON, A.; WILCOCK, P.; BEDFORD, M. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. **World's Poultry Science Journal**, Abingdon, v. 67, n. 2, p. 225-236, 2011. DOI: <http://doi.org/10.1017/S0043933911000250>

CRENSHAW, T. D. Calcium, phosphorus, vitamin D, and vitamin K in swine nutrition. In: LEWIS, A. J.; SOUTHERN, L. L. (ed.). **Swine nutrition**. Washington, DC: CRC Press, 2001. p. 187–212.

CROMWELL, G. L. Phytase appears to reduce phosphorus in feed, manure. **Feedstuffs**, Lexington, v. 63, n. 41, p. 14-16, 1991.

CROMWELL, G. L.; COFFEY, R. D.; PARKER, G. R.; MONEGUE, H. J.; RANDOLPH, J. H. Efficacy of a recombinant derived phytase in improving the bioavailability of phosphorus in corn-soybean meal diets for pigs. **Journal Animal of Science**, Champaign, v. 73, n. 7, p. 2000-2008, July 1995.

CROZE, M. L.; SOULAGE C. O. Potential role and therapeutic interests of myo-inositol in metabolic diseases. **Biochimie**, Paris, v. 95, n. 10, p.1811-1827, Oct. 2013. DOI: 10.1016/j.biochi.2013.05.011.

DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 95, n. 5, p. 878-896, Mar. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6998>

DERSJANT-LI, Y.; WEALLEANS, A. L.; BARNARD, L. P.; BARNARD, S. LANE. Effect of increasing Buttiauxella phytase dose on nutrient digestibility and performance in weaned piglets fed corn or wheat-based diets, **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 234, p. 101-109, Dec. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.09.008>.

DESHPANDE, S. S.; CHERYAN, M. Effects of phytic acid, divalent cations, and their interactions on α -amylase activity. **Journal of Food Science**, Champaing, v. 49, n. 2, p. 516–524, Mar. 1984.

EAGLE, H.; OYAMA, V. I.; LEVY, M.; FREEMAN, A. Myo-inositol as an essential growth factor for normal and malignant human cells in tissue culture. **Science**, Weekly, v. 123, n. 3202, p. 845-847, May 1956.

EECKHOUT, W.; DE PAEPE, M. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 47, n. 1/2, p. 19–29, May 1994.

FIREMAN, F. A. T.; FIREMAN, A. K. B. A. T. Enzimas na alimentação de suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 1, p. 173-178, 1998.

FORBES, R. M.; PARKER, H. M.; ERDMAN, J. W.; Effects of dietary phytate, calcium and magnesium levels on zinc bioavailability to rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 114, n. 7, p. 1421-1425, 1984.

GOMES, B. K.; CONY, B. S. de L.; STELLA, L. Enzimas exógenas na alimentação de suínos Aditivos, carboidrases, fatores antinutricionais, fitase, proteases. **Nutri-Time Revista Eletrônica**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 8477-8487, maio/jun. 2019.

GONZÁLES, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

GRELA, E. R.; MUSZYŃSKI, S.; CZECH, A.; DONALDSON, J.; STANISŁAWSKI, P.; KAPICA, M.; BREZVYN, O.; MUZYKA, V.; KOTSYUMBAS, I.; TOMASZEWSKA, E. Influence of phytase supplementation at increasing doses from 0 to 1500 FTU/kg on growth performance, nutrient digestibility, and bone status in grower–finisher pigs fed phosphorus-deficient diets. **Animals**, Basel, v. 10, n. 5, p. 847, May 2020.

GUGGENBUHL, P.; CALVO, E. P.; FRU, F. Effect of high dietary doses of a bacterial 6-phytase in piglets fed a corn–soybean meal diet. **Journal of Animal Science**,

Champaign, v. 94, n. 3, p. 307–309, Sept. 2016. Supplement. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9807>

HAEFNER, S.; KNIETSCH, A.; SCHOLTEN, E.; BRAUN, J.; LOHSCHIEDT, M.; ZELDER, O. Biotechnological production and applications of phytases. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 68, n. 5, p. 588–597, 2005. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00253-005-0005-y>.

HANG, C. O.; COWIESON, A. J.; WILSON, J. W.; AJUWON, K. M, ADEOLA, O. Extra-phosphoric effects of super dosing phytase on growth performance of pigs is not solely due to release of *myo*-inositol, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 97, n. 9, p. 3898–3906, Sept. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skz232>

HOLLOWAY, C. L.; BOYD, R. D.; GOULD, S. A.; LI, Q.; PATIENCE, J. F. The impact of “super-dosing” phytase in pig diets on growth performance during the nursery and grow-out periods. **Translational Animal Science**, Oxford, v. 3, n. 1, p. 419–428, Jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/tas/txy148>

HOLLOWAY, C. L.; BOYD, R. D.; WALK, C. L.; PATIENCE, J. F. Impact of super-dosing phytase in diets fed to 40, 60, and 80 kg pigs on phytate catabolism. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 94, p. 112–113, 2016. Supplement 2. DOI: <http://doi.org/10.2527/msasas2016-238>

HUMER, E.; SCHWARZ, C.; SCHEDULE, K. Fitato na nutrição de suínos e aves. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 99, p. 605-625, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/jpn.12258>

IUPAC-IUB - NOMENCLATURE COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY. Numbering of atoms in *myo*-inositol. Recommendations 1988. **Biochemical Journal**, London, v. 258, n. 1, p. 1–2, 1989.

JONGBLOED, A. W.; VAN DIEPEN, J. T. M.; KEMME, P. A.; BROZ, J. Efficacy of microbial phytase on mineral digestibility in diets for gestating and lactating sows. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 91, n. 1-2, p.143–155, 2004.

JÓZEFIAK, D.; PTAK, A.; KACZMAREK, S.; MAĆKOWIAK, P.; SASSEK, M.; SLOMINSKI, B.A. 2010. Multi-carbohydrase and phytase supplementation improves growth performance and liver insulin receptor sensitivity in broiler chickens fed diets containing full-fat rapeseed. **Poultry Science**, Champaign, v. 89, n. 9, p. 1939–1946, Sept. 2010.

KERR, B. J.; WEBER, T. E.; MILLER, P. S.; SOUTHERN, L. L. Effect of phytase on apparent total tract digestibility of phosphorus in corn-soybean meal diets fed to finishing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 1, p. 238-47, Jan. 2010. DOI: <http://doi.org/10.2527/jas.2009-2146>

KETAREN, P. P.; BATTERHAM, E. S.; WHITE, E.; FARRELL, D. J.; MILTHORPE, B. K. Phosphorus studies in pigs. 1. Available phosphorus requirements of grower/finisher pigs. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 70, n. 1, p. 249-268, July 1993.

- KHAN, N.; ZAMAN, R.; ELAHI, M. Effect of heat treatments on the phytic acid content of maize products. **Journal Food Science Agricultural**, [s. l.], v. 54, n. 1, p. 153-156, 1991.
- KIES, A. K.; DE JONGE, L. H.; KEMME, P. A.; JONGBLOED, A. W. Interaction between protein, phytate and microbial phytase: in vitro studies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 54, n. 5, p. 1753–1758, Mar. 2006.
- KILLINGER, K. M.; CALKINS, C. R.; UMBERGER, W. J.; FEUZ, D. M.; ESKRIDGE, K. M. Consumer sensory acceptance and value for beef steaks of similar tenderness, but differing in marbling level. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 11, p. 3294- 3301, Nov. 2004.
- KNUCKLES, B. E.; BETSCHAT, A. A. Effect of phytate and other myo-inositol phosphate esters on α -amylase digestion of starch. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 52, n. 3, p. 719–721, May 1987.
- KORNEGAY, E. T. Digestion of phosphorus and other nutrients: the role of phytases and factors influencing their activity. *In*: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. (ed.). **Enzymes in farm animal nutrition**. p. 237-271, 2001.
- LAIRD, S.; KÜHN, I.; WILCOCK, P.; MILLER, H. M. The effects of phytase on grower pig growth performance and ileal inositol phosphate degradation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 94, p. 142-145, Sept. 2016. Supplement 3. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9762>
- LAUTROU, M.; NARCY, A.; DOURMAD, J. Y.; POMAR, C.; SCHMIDELY, P.; LÉTOURNEAU MONTMINY, M. P. Dietary phosphorus and calcium utilization in growing pigs: requirements and improvements. **Frontiers in Veterinary Science**, Lausanne, v. 8, p. 1-17, Nov. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets>
- LEE, S. A.; BEDFORD M. R. Inositol – An effective growth promotor? **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 72, n. 4, p. 1–17, 2016. DOI: <http://doi.org/10.1017/S0043933916000660>
- LEE, S.A.; FEBERY, E.; WILCOCK, P.; BEDFORD, M.R. Application of Creep Feed and Phytase Super-Dosing as Tools to Support Digestive Adaption and Feed Efficiency in Piglets at Weaning. **Animals**, Basel, v. 11, n. 7, p. 1-12, July 2021. DOI: 10.3390/ani11072080.
- LEI, X. G.; WEAVER, J. D.; MULLANEY, E.; ULLAH, A. H.; AZAIN, M. J. Phytase, a new life for an “Old” Enzyme. **Annual Review of Animal Biosciences**, Palo Alto, v. 1, p. 283–309, Jan. 2013.
- LENIS, N. P.; JONGBLOED, A. W. New technologies in low pollution swine diets: diet manipulation and use of synthetic amino acids, phytase and phase feeding for reduction of nitrogen and phosphorus excretion and ammonia emission — review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 12, n. 2, p. 305–327, Mar. 1999.

LEYTEM, A. B.; TURNER, B. L.; THACKER, P. A. Phosphorus composition of manure from swine fed low-phytate grains: evidence for hydrolysis in the animal. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 33, n. 6, p. 2380-2383, Dec. 2004.

LOPES, H. O. S.; TOMICH, T. R. A produção animal na visão dos brasileiros: avanços recentes na nutrição mineral de bovinos. *In*: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais [...]**. Piracicaba: SBZ, 2001. p. 205-234.

LOTT, J. N. A.; OCKENDEN, I., RABOY, V., BATTEN, G. D. Phytic acid and phosphorus in crop seeds and fruits: a global estimate. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 10, n. 1, p. 11-33, mar. 2000.

MADRID, J.; MARTINEZ, S.; LOPEZ, C.; HERNANDEZ F. Effect of phytase on nutrient digestibility, mineral utilization and performance in growing pigs. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 154, n. 1-3, p. 144–151, June 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.03.003>

MAGA, J. A. Phytate: its occurrence, food interactions, nutritional significance and methods of analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 30, n. 1, p. 1–9, Jan./Feb. 1983.

MCDOWELL, R. L. Calcium and phosphorus. *In*: MCDOWELL, L. R. (ed.). **Minerals in animal and human nutrition**. San Diego: Academic Press, 1992. p. 31-32.

MCDOWELL, L. R. Vitamin-like substances. *In*: MCDOWELL, L. R. (ed.). **Vitamins in animal and human nutrition**. 2nd ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2000. p. 660–666.

MENEZES-BLACKBURN, D.; GABLER, S.; GREINER, R. Performance of Seven Commercial Phytases in an in Vitro Simulation of Poultry Digestive Tract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 63, p. 6142-6149, July, 2015. DOI: <http://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01996>

MINGGANG, L.; OSAKI, M.; RAO, I. M.; TADANO, T. Secretion of phytase from the roots of several plant species under phosphorus-deficient conditions. **Plant and Soil**, The Hague, v. 195, p. 161-169, Aug. 1997.

MORAN, K.; BOYD, R. D.; ZIER-RUSH, C.; WILCOCK, P.; BAJJALIEH, N.; VAN HEUGTEN, E. Effects of high inclusion of soybean meal and a phytase superdose on growth performance of weaned pigs housed under the rigors of commercial conditions, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 95, n. 12, p. 5455–5465 Dec. 2017. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas2017.1789>

MORAN, P.; WILCOCK, P.; ELSBERND, A.; ZIER-RUSH, C.; BOYD, R. D.; VAN HEUGTEN, E. Effects of super-dosing phytase and inositol on growth performance and blood metabolites of weaned pigs housed under commercial conditions, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 97, n. 7, p. 3007–3015, July 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skz156>

MORRISSEY, P. A.; SHEEHY, P. J.; GALVIN, J. P.; KERRY, D. J.; BUCKLEY, D. J.

Lipid stability in meat and meat products. **Meat Science**, Barking, v. 49, n. 1, p. 73-86, 1998.

OLIVEIRA, V.; FIALHO, E. T.; LIMA, J. A. F.; OLIVEIRA, A. I. G.; FREITAS, R. T. F. Substituição do milho por casca de café em rações isoenergéticas para suínos em crescimento e terminação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 2, p. 424-436, 2001

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E. de. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 655-663, Aug. 2005.

OSTER, M.; JUST, F.; BÜSING, K.; WOLF, P.; POLLEY, C.; VOLLMAR, B.; MURÁNI, E.; PONSUKSILI, S.; WIMMERS, K. Toward improved phosphorus efficiency in monogastrics - Interplay of serum, minerals, bone, and immune system after divergent dietary phosphorus supply in swine. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 310, p. 917-925, May 2016. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00215.2015>

PEIXOTO, E. M. A. Elemento químico: cálcio. **Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 20, nov. 2004.

PETERSEN, S. T. Propriedades e características de Ronozime™ P, a nova fitase da Roche. *In*: SIMPÓSIO ROCHE DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 2001, Campinas. **Anais** [...]. Campinas: Roche, 2001. p. 17-30.

RAVINDRAN, V.; CABAHUG, S.; RAVINDRAN, G.; BRYDEN, W. L. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 78, n. 5, p. 699-706, May 1999.

RODRIGUEZ, E.; HAN, Y.; LEI, X. G. Cloning, sequencing, and expression of an Escherichia coli phosphatase/phytase gene (AppA2) isolated from pig colon. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v. 257, n. 1, p. 117-123, Apr. 1999.

RODRIGUEZ, E.; PORRES, J. M.; HAN, Y.; LEI, X. G. Different sensitivity of recombinant Aspergillus niger phytase (r-PhyA) and Escherichia coli pH 2.5 acid phosphatase (r-AppA) to trypsin and pepsin in vitro. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 365, n. 2, p. 262-257, May 1999.

ROSTAGNO, H. S. (ed.). **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4. ed. Viçosa: UFV, 2017. 488p.

SÁ, L. M.; GOMES, P. C.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; D'AGOSTINI, P. Exigência nutricional de cálcio e sua biodisponibilidade em alguns alimentos para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 157-168, 2004.

SALGUERO, S. C.; ROSTAGNO, H. S.; HANNAS, M. I.; CARVALHO, T. A.; MAIA, R. C.; PESSOA, G. B. S. Digestibilidade do cálcio de ingredientes para suínos,

avaliada por meio de dois Métodos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 66, n. 5, p. 1539-1546, set./out. 2014.

SANCHEZ-ROMERO, I.; ARIZA, A.; WILSON, K. S.; SKJØT, M.; VIND, J.; DE MARIA, L.; SANCHEZ-RUIZ, J. M. Mechanism of protein kinetic stabilization by engineered disulfide crosslinks. **PloS One**, San Francisco, v. 8, n. 7, p. 1-9, July, 2013.

SANDBERG, A. S.; LARSEN, T.; SANDSTRÖM, B. High dietary calcium level decrease colonic phytate degradation in pigs fed a rapeseed diet. **The Journal of Nutrition**, New York, v. 123, n. 3, p. 559–566, Mar. 1993.

SANTANA, A. L. A.; TEIXEIRA, A. de O.; LOPES, D. C.; SANTANA, R. A.; ROCHA JUNIOR, C. M.; MOREIRA, L. M.; HANNAS, M. I.; CORASSA, A. Digestibilidade de cálcio e cálcio digestível de fontes inorgânicas avaliada em suínos por dois métodos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 19, n. 1, p. 93-104, 2018.

SARAIVA, A.; DONZELE, J. L.; OLIVEIRA, R. F. M.; ABREU, M. L. T.; SILVA, F. C. O.; HAESE D. Níveis de fósforo disponível em rações para suínos de alto potencial genético para deposição de carne dos 30 aos 60 kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 7, p. 1279–1285, 2009.

SELLE, P. H.; COWIESON, A. J.; COWIESON, N. P.; RAVINDRAN, V. Protein-phytate interactions in pig and poultry nutrition: a reappraisal. **Nutrition Research Review**, [Cambridge], v. 25, n. 1, p. 1-17, June 2012.
DOI: <http://doi.org/10.1017/S0954422411000151>

SELLE, P. H., COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 124, n. 1-3, p.126–141, Sept. 2009.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.01.006>

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 113, n. 2-3, p. 99–122, Feb. 2008.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.05.014>

SHARPLEY, A. N.; ROBINSON, J. S.; SMITH, S. J. Bioavailable phosphorus dynamics in agricultural soils and effects on water quality. **Geoderma**, Amsterdam, v. 67, n. 1-2, p. 1–15, June 1995.

SHE, T.; LI, D.; ZHANG, S. Methodological aspects of determining phosphorus digestibility in swine: A review, **Animal Nutrition**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 97-102, June 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.02.003>

SILVA C. A.; CALLEGARI, M. A.; DIAS, C. P.; BRIDI, A. M.; PIEROZAN, C. R.; FOPPA, L. Increasing doses of phytase from *Citrobacter braakii* in diets with reduced inorganic phosphorus and calcium improve growth performance and lean meat of growing and finishing pigs. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 14, n. 5, May 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217490>

SIMONS, P. C. M.; VERSTEEGH, H. A. J.; JONGBLOED, A. W.; KEMME, P. A.; SLUMP, P.; BOS, K. D.; WOLTERS, M. G. E.; BEUDEKER, R. F.; VERSCHOOR, G. J. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 64, n. 2, p. 525–540, Sept. 1990.

SMITH, D. R.; MOORE, P. A.; MAXWELL, C. V.; HAGGARD, B. E.; DANIEL, T. C. Reducing phosphorus runoff from swine manure with dietary phytase and aluminum chloride. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 33, p. 1048-1054, May 2004.

SUNG, J.; KIM, B. G. Prediction models for apparent and standardized total tract digestible phosphorus in swine diets, **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 255, p. 1-7, Aug. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114224>

SUZUKI, U.; YOSHIMURA, K.; TAKAISHI, M. Über ein Enzym "Phytase" das Anhydro-oxy-methylen-diphosphosaure spaltet. **College Agriculture Bulletin**, Tokyo, v. 7, p. 503–505, 1907.

THOMPSON, L. U.; YOON J. H. Starch digestibility as affected by polyphenols and phytic acid. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 49, n. 4, p. 228–1229, July 1984.

THORSEN, M.; NIELSEN, L. A.; ZHAI, H. X.; ZHANG, Q.; WULF-ANDERSEN, L.; SKOV, L. K. Safety and efficacy profile of a phytase produced by fermentation and used as a feed additive. **Heliyon**, London, v. 7, n. 6, p. 1-12, June 2021. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021>

TURNER, B. L.; PAPHÁZY, M. J.; HAYGARTH, P. M.; MCKELVIE I. D. Inositol phosphate in the environment. **Philosophical Transactions of the Royal Society B. The Royal Society**, London, v. 357, n. 1420, p. 449-469, Apr. 2002.

VATS, P.; BANERJEE, U. C. Production studies and catalytic properties of phytases (myo-inositolhexakisphosphate phosphohydrolases): an overview. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 35, n. 1, p. 3-14, 2004.

WALK, C. L.; BEDFORD, M. R.; SANTOS, T. S.; PAIVA, D.; BRADDLEY, J. R.; WLDECKI, H.; HONAKER, C.; MCELROY, A. P. Extra-phosphoric effects of superdoses of a novel microbial phytase. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, n. 3, p.719-725, Mar. 2013. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02727>

WILCOCK, P. C.; BRADLEY, L.; CHEWNING, J. J.; WALK, C. L. The effect of superdosing phytase on inositol and phytate concentration in the gastrointestinal tract and its effect on pig performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 92, p. 383, 2014. Supplement 2.

WYSS, M.; BRUGGER, R.; KRONENBERGER, A.; RÉMY, R.; FIMBEL, R.; OESTERHELT, G.; LEHMANN, M.; VAN LOON, A. P. G. M. Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate

phosphohydrolase): Catalytic properties. **Applied And Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, n. 2, p. 367–373, Feb. 1999.

YI, Z.; KORNEGAY, E. T. Sites of phytase activity in the gastrointestinal tract of young pigs. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 61, n. 1-4, p. 361–368, Sept. 1996.

YU, S.; COWIESON, A.; GILBERT, C.; PLUMSTEAD, P.; DALSGAARD, S. Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP1-5) including IP5 isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, n. 6, p. 1824-1832, June 2012.

ZHANG, Y. G.; JIANG, W. M.; TAO, L. H. The effect of dietary P level on the digestibility and output of P and nitrogen. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Helsingfors, v. 8, n. 3/4, p. 348-355, 2010. Part 1.

ZHANG, Q.; WALK, C.; SORBARA, J. O. B.; COWIESON, A. J.; STAMATOPOULOS, K. Comparative effects of two phytases on growth performance, bone mineralization, nutrient digestibility and phytate-P hydrolysis of broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 31, n. 2, p. 1-14, June 2002. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.japr.2022.100247>

ZIER-RUSH, C. E.; SMITH, S.; PALAN, R.; STECKEL, J.; WILCOCK, P.; BOYD, R. D. Effect of a supra-phytase level on post-weaning growth and stool firmness of pigs fed low or high soybean meal diets. *In*: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON DIGESTIVE PHYSIOLOGY OF PIGS, 12., 2012, Keystone, CO. **Proceedings** [...]. Keystone, CO: [AASC], 2012. p. 72.

ARTIGO A – AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE DESEMPENHO DE SUÍNOS EM FASE DE CRECHE, CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO UTILIZANDO SUPERDOSAGEM DE FITASE EM DIETAS COM TEOR REDUZIDO DE FÓSFORO E CÁLCIO

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito extrafosfórico de doses crescentes da fitase bacteriana (RONOZYME HiPhos) em dietas a base de milho e farelo de soja sob desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne em suínos nas fases de creche, crescimento e terminação. Foram utilizados 250 animais, fêmeas e machos castrados, com peso inicial de $6,08 \pm 0,748$ kg e 21 dias de idade, submetidos a 5 tratamentos: T1: controle positivo (CP), suplementado com fósforo inorgânico e cálcio; T2: controle negativo (CN), com redução de 0,18% no fósforo disponível e 0,16% no cálcio; e três dietas CN suplementadas com T3: 1.000, T4: 2.000 e T5: 3.000 unidades de fitase (FYT) / kg de ração. O ganho de peso diário (GPD) foram iguais na fase de creche entre os grupos suplementados com 1.000, 2.000 e 3.000 FYT / kg (0,430 kg, 0,441 kg e 0,428 kg respectivamente) e T1 (0,481 kg), e inferior no T2 (0,398 kg). A conversão alimentar (CA) na mesma fase foi similar entre T1 (1,546) e os grupos suplementados com fitase (1.516; 1.535; 1.519), sendo todos melhores que T2, (1.676). O efeito quadrático para a fitase foi verificado para a CA na fase, tendo o melhor resultado a inclusão de 2.320 FYT / kg. Nas fases de crescimento e terminação (CT) os resultados do consumo diário de ração (CDR), GPD e CA favorecem os grupos T1 e suplementados com fitase, sendo estes superiores ao T2 ($p < 0,05$) e este mesmo resultado foi verificado para o cômputo de todo o período experimental (21 a 156 dias). Um efeito quadrático foi verificado para a CA considerando toda a fase de CT, com melhor nível de 1.923 FYT/kg. A suplementação com fitase determinou resultados semelhantes ($p > 0,05$) ao do grupo T1 e distintos em relação ao T2 para todos os parâmetros de carcaça, excetuando a espessura de toucinho. Efeitos lineares ($p < 0,05$) foram observados para o percentual e a quantidade de carne magra na carcaça. Não houve diferença entre os tratamentos para todas as variáveis para as características de qualidade de carne. A suplementação de fitase em dietas à base de farelo de milho e soja com redução severa de P e Ca inorgânicos melhorou o ganho

de peso diário, o consumo de ração e a conversão alimentar de suínos em creche, crescimento e terminação, influenciando positivamente também as características de carcaça.

Palavras-chave: desempenho; enzimas; fitato; minerais; mio-inositol.

EVALUATION OF PERFORMANCE PARAMETERS OF PIGS IN THE NURSING, GROWING AND FINISHING PHASES USING OVERDOSAGE OF PHYTASE IN DIETS WITH REDUCED PHOSPHORUS AND CALCIUM CONTENT

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the extraphosphoric effect of increasing doses of bacterial phytase (RONOZYME HiPhos) in diets based on corn and soybean meal on performance, carcass yield and meat quality in pigs in the nursery, growth and finishing phases. 250 animals were used, castrated females and males, with an initial weight of 6.08 ± 0.748 kg and 21 days of age, submitted to 5 treatments: T1: positive control (CP), supplemented with inorganic phosphorus and calcium; T2: negative control (CN), with a 0.18% reduction in available phosphorus and 0.16% in calcium; and three CN diets supplemented with T3: 1.000, T4: 2.000 and T5: 3.000 phytase units (FYT)/kg feed. Daily weight gain (DWG) was equal in the nursery phase between the groups supplemented with 1.000, 2.000 and 3.000 FYT/kg (0,430 kg, 0,441 kg and 0,428 kg respectively) and T1 (0,481 kg), and lower in T2 (0,398 kg). Food conversion (FCR) in the same phase was similar between T1 (1.546) and the groups supplemented with phytase (1.516; 1.535; 1.519), all being better than T2 (1.676). The quadratic effect for phytase was verified for CA in the phase, with the best result being the inclusion of 2.320 FYT / kg. In the growth and finishing phases (CT) the results of daily feed intake (DRC), GPD and AC favor the T1 and phytase supplemented groups, which are higher than T2 ($p < 0.05$) and this same result was verified to calculate the entire experimental period (21 to 156 days). A quadratic effect was verified for CA considering the entire CT phase, with a best level of 1923 FYT/kg. Phytase supplementation resulted in similar results ($p > 0.05$) to the T1 group and different results in relation to T2 for all carcass parameters, except for backfat thickness. Linear effects ($p < 0.05$) were observed for the percentage and amount of lean meat in the carcass. There was no

difference between treatments for all variables for meat quality characteristics. Phytase supplementation in diets based on corn and soybean meal with severe reduction of inorganic P and Ca improved daily weight gain, feed intake and feed conversion of nursery, growing and finishing pigs, also positively influencing the carcass characteristics.

Keywords: performance; enzymes; phytate; minerals; myo-inositol.

INTRODUÇÃO

Na produção animal o fósforo (P) dietético provém principalmente de fontes não renováveis, com menor participação oriunda de ingredientes de origem vegetal que compõem as rações. Portanto, sua utilização deve ser maximizada, razão pela qual sua biodisponibilidade deve ser profundamente conhecida (Lautrou *et al.*, 2021). A determinação precisa dos requisitos deste mineral, além de naturalmente atender a premissa de identificação com as demandas nutricionais dos animais, também está em sinergia com a mitigação dos efeitos poluentes no ambiente (Lautrou *et al.*, 2021).

O P é o segundo mineral mais abundante no organismo, depois do cálcio (Ca), sendo um macroelemento essencial que deve ser suplementado nas dietas dos suínos (Zhang; Jiang; Tao, 2010). O P em ingredientes à base de vegetais está presente principalmente na forma de fitato (até 80% do P total), que tem disponibilidade limitada para animais monogástricos (Dersjant-Li *et al.*, 2017), em razão da falta de fitase endógena.

Lautrou *et al.* (2021) descreveram que cerca de 60% do fósforo no organismo animal está presente no osso em uma proporção fixa com o cálcio (Ca), sendo o restante encontrado no músculo. As exigências de P e Ca devem ser estimadas em conjunto, não podendo serem dissociados, pois a absorção e a utilização do P estão relacionadas com a absorção e utilização do Ca. Adicionalmente, deve-se reconhecer que complexos insolúveis e indigeríveis de Ca-P podem se formar no intestino (Selle; Cowieson; Ravindran, 2009).

Com foco na melhor utilização digestiva e/ou metabólica do P, diminuindo assim sua excreção, as fitases, enzimas que facilitam a disponibilidade do P vegetal (presente na forma de ácido fítico, como um éster fosfórico do Inositol), são amplamente utilizadas como aditivos nas rações de suínos e aves, sendo a enzima

alimentar mais amplamente aplicada na nutrição animal (Zhai *et al.*, 2022).

A suplementação de fitase em uma dose que excede o nível padrão usado para liberar P ligado ao fitato é considerada como superdosagem de fitase (geralmente níveis acima de 500 FTU/kg, até 2.500 FTU/kg) (Adeola; Cowieson, 2011; Walk *et al.*, 2013). Estudos com suínos mostram que a superdosagem de fitase melhora o desempenho em comparação a doses clássicas utilizadas comercialmente (Moran *et al.*, 2017, Silva *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2022).

Atribui-se que na superdose de fitase os efeitos extra-fosfóricos, determinados pela enzima, podem estar relacionados à liberação de mio-inositol e à destruição completa (e rápida) de ésteres de fosfato de inositol antinutritivos (Walk *et al.*, 2013). O mio-inositol desempenha um papel importante nos processos e na função celular como fosfolipídios ou fosfatos de inositol, sendo essencial para o bom funcionamento de uma ampla gama de funções celulares, incluindo crescimento celular e sobrevivência, desenvolvimento e função dos nervos periféricos, osteogênese, suportando o aumento à sensibilidade à insulina, redução dos níveis de colesterol total e os triglicerídeos. Na reprodução restaura a atividade ovulatória, aumentando a qualidade dos ovócitos, assim como a motilidade espermática e o potencial da membrana espermática. No humor, atua nos níveis de serotonina. (Croze; Soulage, 2013).

Como uma conduta ainda recente para suínos, a condição de uso da fitase em níveis acima das recomendações tradicionais, denominada superdosagem, demanda ainda novas investigações. Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da superdose de fitase, em rações à base de milho e farelo de soja, sobre o desempenho, características de carcaça e a qualidade da carne de suínos desde o desmame até a idade de abate, diante de uma condição de restrição dietética mais severa de Ca e P.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em conformidade com as recomendações do Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CEUA) e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Akei Animal Research (número do protocolo: 004/21)

Foram utilizados um total de 250 leitões de genética comercial PIC (AG337 x Camborough), 125 fêmeas e 125 machos castrados, desmamados com média de 21

dias e peso médio de $6,079 \pm 0,748$ kg, alojados em baias, sendo cinco animais por unidade experimental.

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso (com base no peso inicial aos 21 dias de idade), com cinco tratamentos e dez repetições com cinco animais. Os tratamentos incluíram cinco dietas (Tabela 1): T1: controle positivo (CP), suplementado com fósforo inorgânico (P) e cálcio (Ca) atendendo as exigências nutricionais destes; T2: controle negativo (CN), com redução do fósforo disponível (-0,18%) e cálcio (-0,16%); T3: CN + 1.000 FYT / kg de alimento; T4: CN + 2.000 FYT / kg de ração; T5: CN + 3.000 FYT / kg de alimento. RONOZYME HiPhos (DSM Nutritional Products, Brasil) foi a fitase usada no experimento, uma 6-fitase produzida pela introdução de substâncias sintéticas a genes que simulam um gene de fitase de *C. braakii* ATCC 51113 e expressam a fitase codificada em *A. oryzae* (Guggenbuhl *et al.*, 2012).

Tabela 1 - Tratamentos experimentais

Tratamentos	Descrição	Redução de Ca e P %
T1	Controle Positivo (PC)	
T2	Controle Negativo (CN)	0,16% Ca e 0,18% P
T3	CN + 1.000 FYT	0,16% Ca e 0,18% P
T4	CN + 2.000 FYT	0,16% Ca e 0,18% P
T5	CN + 3.000 FYT	0,16% Ca e 0,18% P

Fonte: O próprio autor.

Os animais foram submetidos a um programa de alimentação com oito fases: pré-inicial I (21 a 28 dias de idade); pré-inicial II (29 a 35 dias de idade); Inicial I (36 a 49 dias de idade); Inicial II (50 a 63 dias de idade); Crescimento I (64 a 91 dias de idade); Crescimento II (92 a 112 dias de idade); Terminação I (113 a 133 dias de idade); e Terminação II (134 a 156 dias de idade) (Tabelas 2 e 3).

Todas as rações, a base de milho e farelo de soja, foram formuladas para atender as recomendações da Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (Rostagno *et al.*, 2017). Água e ração foram fornecidas *ad libitum*.

Tabela 2 - Composição das rações experimentais utilizadas na fase de creche e seus valores nutricionais e energéticos

Ingredientes (kg)	Creche							
	Pré-inicial I		Pré-inicial II		Inicial I		Inicial II	
	CP	CN	CP	CN	CP	CN	CP	CN
Milho moído 8,8	538,19	551,44	561,69	574,31	596,13	609,39	645,65	658,85
F Soja 45	206,00	206,00	248,00	248,00	280,00	280,00	289,00	289,00
Soro de Leite	150,00	150,00	100,00	100,00	50,00	50,00	0,00	0,00
Plasma Pó	50,00	50,00	25,00	25,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Óleo Soja	16,70	11,30	22,00	16,80	26,20	20,76	23,80	18,40
Fosfato Bic 24/18	19,25	9,20	18,57	9,62	19,60	9,53	18,45	8,40
Calcário Calc 36	2,80	5,00	4,10	5,63	4,37	6,62	4,68	6,93
Sal comum	1,90	1,90	4,50	4,50	5,85	5,85	5,80	5,80
Oxido Zinco 72	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	0,00	0,00
Sulf Cobre Penta	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
DL Metionina	1,70	1,70	1,75	1,75	1,89	1,89	1,67	1,67
L Lisina HCl	4,45	4,45	4,91	4,91	5,66	5,66	5,18	5,18
L Treonina	2,00	2,00	2,25	2,25	2,66	2,66	2,13	2,13
L Triptofano	0,44	0,44	0,47	0,47	0,55	0,55	0,45	0,45
L Valina	0,82	0,82	1,01	1,01	1,34	1,34	0,94	0,94
Adsorvente Micotoxinas	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Premix Mineral	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix Vitamin	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Total	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Valores Calculados								
EM kcal/kg	3350	3350	3350	3350	3350	3350	3350	3350
PB, %	20,06	20,17	19,89	19,99	19,42	19,53	19,51	19,64
PDI Lys, %	1,40	1,40	1,35	1,35	1,30	1,30	1,25	1,25
Calcio, %	0,75	0,59	0,75	0,59	0,75	0,59	0,7	0,54
P total, %	0,71	0,54	0,68	0,52	0,68	0,5	0,64	0,46
P disp., %	0,55	0,37	0,5	0,34	0,48	0,3	0,43	0,25
Sódio %	0,35	0,35	0,35	0,35	0,3	0,3	0,25	0,25
PDI MC/SID Lys	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,57	0,57
PDI Tre/SID Lys	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,65	0,65
PDI Trip/SID Lys	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
PDI Val/SID Lys	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69
PDI Isol/SID Lys	0,50	0,50	0,52	0,52	0,53	0,53	0,55	0,55

Fonte: O próprio autor.

CP: Controle Positivo, CN: Controle Negativo, PDI: Padrão de Digestibilidade Ileal

Tabela 3 - Composição das rações experimentais utilizadas nas fases de crescimento e terminação e seus valores nutricionais e energéticos

Ingredientes (kg)	Crescimento / Terminação							
	Crescimento I		Crescimento II		Terminação I		Terminação II	
	CP	CN	CP	CN	CP	CN	CP	CN
Milho moído 8,8	706,55	719,45	748,22	761,22	797,63	810,89	838,73	851,43
F Soja 45	235,00	235,00	199,00	199,00	161,00	161,00	125,00	125,00
Óleo Soja	20,00	15,00	17,50	12,20	9,40	4,00	7,00	1,75
Fosfato Bic 24/18	14,80	4,70	12,10	2,10	10,58	0,52	9,05	0,00
Calcário Calc 36	7,50	9,70	8,00	10,30	7,90	10,10	7,70	9,30
Sal comum	4,60	4,60	4,60	4,60	3,80	3,80	3,80	3,80
Sulf Cobre Penta	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
DL Metionina	1,43	1,43	1,11	1,11	0,86	0,86	0,52	0,52
L Lisina HCl	4,82	4,82	4,58	4,58	4,35	4,35	4,11	4,11
L Treonina	1,82	1,82	1,61	1,61	1,40	1,40	1,20	1,20
L Triptofano	0,54	0,54	0,51	0,51	0,48	0,48	0,46	0,46
L Valina	0,69	0,69	0,52	0,52	0,35	0,35	0,18	0,18
Adsorvente Micotoxinas	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Premix Mineral	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix Vitamin	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
<i>Total</i>	<i>1000</i>	<i>1000</i>	<i>1000</i>	<i>1000</i>	<i>1000</i>	<i>1000</i>	<i>1000</i>	<i>1000</i>
Valores Calculados								
EM, kcal/kg	3350	3350	3350	3350	3325	3325	3325	3325
PB, %	17,54	17,66	16,21	16,34	14,9	15	13,56	13,66
PDI Lys, %	1,10	1,10	1,00	1,00	0,90	0,90	0,8	0,8
Calcio, %	0,70	0,54	0,65	0,49	0,60	0,44	0,55	0,39
P total, %	0,56	0,38	0,51	0,33	0,47	0,29	0,43	0,27
P disp., %	0,36	0,18	0,31	0,13	0,28	0,1	0,25	0,09
Sódio %	0,20	0,20	0,20	0,200	0,18	0,18	0,17	0,17
PDI MC/SID Lys	0,59	0,59	0,59	0,59	0,60	0,60	0,60	0,60
PDI Tre/SID Lys	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
PDI Trip/SID Lys	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,200	0,2
PDI Val/SID Lys	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69
PDI Isol/SID Lys	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55

Fonte: O próprio autor.

CP: Controle Positivo, CN: Controle Negativo

Foram avaliados o ganho de peso diário (GPD), consumo diário de ração (CDR) e conversão alimentar (CA) no início do estudo e no final de cada fase, correspondendo aos 28, 36, 49, 63, 91, 112, 140 e 156 dias.

Com 156 dias de idade todos os animais foram abatidos, sendo previamente submetidos ao jejum de 12 horas antes do transporte, enquanto a água manteve-se disponível até o abate, precedido pela insensibilização pelo método de eletronarcose, seguido do sacrifício pela secção dos vasos da região de pescoço.

As carcaças foram submetidas à classificação eletrônica (Hennessy Grade Probe, Hennessy Grading Systems, Auckland, NZ) medindo-se a espessura do toucinho (ET) e a profundidade do músculo *Longissimus thoracis et lumborum* (PL) no ponto P2 (59 mm lateral à linha dorsal da carcaça, imediatamente caudal à última costela, meia carcaça esquerda), conforme Berg (2000).

As carcaças foram pesadas (PC) e obtidos os valores de porcentagem e teor de carne magra na carcaça (CM). O percentual de CM foi calculado com base na equação modificada, proposta pelo Hennessy Grading Systems ($\% \text{ CM} = 61,33 - [0,76 \times \text{ET}] + [0,1 \times \text{PL}]$), e o teor de CM foi calculado multiplicando-se o peso da carcaça pelo percentual de CM.

Após o resfriamento das carcaças, 24 horas após o abate foram selecionados aleatoriamente 45 carcaças, 15 amostras por tratamento, dos quais foi retirada uma amostra do músculo *Longissimus dorsi* posicionada entre a última ea a penúltima costela da meia-carcaça esquerda, para as análises da qualidade da carne e da oxidação lipídica.

O pH final da carne *in natura* foi medido utilizando um potenciômetro da marca Hanna. O grau de marmoreio da carne foi determinado com auxílio de padrões fotográficos, utilizando-se escalas de valores numéricos, baseados no American Meat Science Association (AMSA, 2001).

A determinação da cor foi realizada após 30 minutos da amostra em contato com oxigênio, através de um colorímetro portátil CR400 para avaliação dos componentes L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul) pelo sistema CIELAB (MINOLTA, 1998).

A capacidade de retenção de água (CRA) foi medida através do método de perda de água por pressão, expressa como porcentagem de exsudato perdido em relação ao peso inicial (Hamm, 1960).

A maciez da carne foi determinada segundo metodologia proposta por Wheeler *et al.* (1996), sendo as amostras submetidas a uma força de cisalhamento ao eixo de uma lâmina Warner Bratzler, acoplada a um texturômetro Texture Analyser TA – XT2I (Stable Micro Systems).

A oxidação lipídica foi avaliada no dia do descongelamento, sete dias após o congelamento e no descongelamento, realizado 15 dias após a coleta das amostras, determinada através do ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), adaptado de Tarladgis *et al.* (1964), modificado por Crackel *et al.* (1988).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) do procedimento General Linear Model (GLM) e análise de regressão linear, utilizando o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System, versão 9.4), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey. O nível de significância para a diferença entre as médias, α , foi determinada como sendo 0,05.

RESULTADOS

Na fase pré-inicial I não houve diferença ($p < 0,05$) para nenhuma variável entre os tratamentos (Tabela 4). Na fase pré-inicial II (29 a 35 dias de idade) houve diferença ($p < 0,05$) para a conversão alimentar (CA), na qual os tratamentos T3, T4 e T5 foram respectivamente, 11,21; 10,17 e 10,38% melhores que T2, sendo que T1 não diferiu dos demais tratamentos. Para o GPD, CDR e PF não houve diferença significativa entre os tratamentos, mas houve efeito quadrático para a CA, com melhor inclusão sendo 2.050 FYT (Tabela 4).

Na fase Inicial I (36 a 49 dias de idade) (Tabela 4), foi observado que T1 apresentou maior GPD ($p < 0,05$) em relação ao T2 e T3 (respectivamente, 25,35 e 16,15%), enquanto que T4 e T5 não diferiram dos demais tratamentos. A CA dos animais de T2 foi a pior ($p < 0,01$) em relação aos demais tratamentos. Um efeito quadrático com melhor inclusão de 2.211 FTY para o GPD e 2.220 FYT para a CA foram verificados nessa fase.

No último período da fase de creche (Tabela 4), fase inicial II (50 a 63 dias de idade), houve somente diferença ($p < 0,05$) no peso final entre T1 e T2, sendo verificada uma vantagem de 13,36%.

Para o período total da fase de creche (Tabela 4) foi um melhor GPD para T1 em relação a T2, com um ganho superior a 17,25%, todavia os demais tratamentos não diferiram destes. A CA foi pior para T2 com diferenças percentuais de 9,36; 7,75; 9,48 e 8,41%, em relação a T1, T3, T4 e T5, respectivamente. Um efeito de regressão para a CA foi observado, sendo a melhor 2.327 FYT/kg considerada a melhor dose.

Tabela 4 - Médias de peso inicial (PI), ganho de peso diário (GPD), consumo diário de ração (CDR), conversão alimentar (CA), e peso final (PV) de suínos durante cada fase no período de avaliação de creche de acordo com o tratamento experimental

Parâmetros	Tratamentos					C.V. (%)	p-valor	p-valor	
	T1	T2	T3	T4	T5			Linear	Quadrático
Pré-inicial I (21 – 28 dias)									
PI (Kg)	6,080	6,078	6,079	6,082	6,08	12,20	1,000	NS	NS
CDR (Kg)	0,2	0,185	0,161	0,177	0,154	22,30	0,086	NS	NS
GPD (Kg)	0,17	0,145	0,133	0,143	0,122	31,80	0,226	NS	NS
CA	1,379	1,304	1,255	1,267	1,271	23,60	0,937	NS	NS
PF (Kg)	7,273	7,093	7,007	7,086	6,937	12,00	0,956	NS	NS
Pré-inicial II (29 – 35 dias)									
CDR (Kg)	0,445	0,439	0,411	0,415	0,401	13,60	0,395	NS	NS
GPD (Kg)	0,34	0,306	0,323	0,323	0,313	13,70	0,462	NS	NS
CA	1,317ab	1,435a	1,274b	1,289b	1,286b	9,30	0,035	NS	0,0146 ^b
PF (Kg)	9,653	9,29	9,269	9,35	9,129	10,70	0,913	NS	NS
Inicial I (36 – 49 dias)									
CDR (Kg)	0,751	0,701	0,674	0,668	0,66	11,90	0,087	NS	NS
GPD (Kg)	0,489a	0,365b	0,410b	0,425ab	0,420ab	16,40	0,001	NS	0,0247 ^c
CA	1,553b	1,924a	1,656b	1,572b	1,574b	10,40	<0,001	NS	0,000 ^d
PF (Kg)	16,592	14,40	15,010	15,294	15,004	10,90	0,085	NS	NS
Inicial II (50 - 63 dias)									
CDR (Kg)	1,116	0,986	1,027	1,041	1,030	9,30	0,083	NS	NS
GPD (Kg)	0,698	0,602	0,652	0,664	0,646	11,60	0,051	NS	NS
CA	1,601	1,643	1,589	1,577	1,601	6,90	0,815	NS	NS
PF (Kg)	26,360a	22,838b	24,132ab	24,587ab	24,048ab	10,10	0,023	NS	NS
Creche (21 – 63 dias)									
CDR (Kg)	0,729	0,667	0,662	0,668	0,656	9,40	0,058	NS	NS
GPD (Kg)	0,481a	0,398b	0,430ab	0,441ab	0,428ab	11,00	0,001	NS	NS
CA	1,519b	1,676a	1,546b	1,517b	1,535b	5,50	0,001	NS	0,0176 ^e

Fonte: O próprio autor.

T1=Controle Positivo. T2= Controle Negativo. T3= CN + 1,000 FYT/kg A. T4= CN + 2,000 FYT/kg A. T5= CN + 3,000 FYT/kg A. FYT = unidades de fitase por kg de ração. CV = coeficiente de variação. NS = não significativo

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

Valor de P=Resposta linear e quadrática para o aumento dos níveis de fitase na dieta.

^bY = 1.4256 - 0.0002X + 0.00000009449X²; Valor P = 0,0146; R²= 0,2447

^cY = 0.3659 + 0.00005.5135X - 0.000000012466X²; Valor P = 0,0247; R²= 0,1257

^dY = 1.9193 - 0.0003X + 0.000000067566X²; Valor P = 0,0001; R²= 0,05717

^eY = 1.6689-0.0001X + 0.000000035261X²; p = 0,0176; R² = 0.5463

Para a avaliação do desempenho zootécnico nas fases de crescimento e terminação (Tabela 5), o peso inicial (PI) foi considerado uma covariável. O CDR na

fase de crescimento I foi 17,22% maior para T1 ($p < 0,05$), em relação a T2, sendo que os demais tratamentos não apresentaram diferença entre estes. O GPD, a CA e o PF não diferiram entre T1, T3, T4 e T5 ($p > 0,05$), mas foram todos melhores que T2 ($P < 0,05$). Efeitos quadráticos ($p < 0,05$) para o GPD, CA e PF foram observados, com as melhores inclusões de fitase correspondendo, respectivamente, a 2.424 e 2.201 e 2.133 FYT/kg.

Na fase de crescimento II (92 a 112 dias), terminação I (113 a 133 dias) e terminação II (134 a 156 dias) T1, T3, T4 e T5 apresentaram CDR, GPD, e PF semelhantes ($p > 0,05$) e todos superiores a T2 (Tabela 5). Na fase de crescimento II efeitos quadráticos foram verificados para CDR, CA e PF, com melhores inclusões de 2.457, 2.257 e 2.392 FTY/kg, respectivamente. O GPD apresentou nesta fase um comportamento linear com a inclusão de fitase ($Y = 0.8768 + 0.00074305X$).

Na fase de terminação I T2 apresentou pior CA, com T3, T4 e T5, enquanto que T1 não diferiu dos demais tratamentos, sendo observado efeito quadrático para as variáveis GPD e CA, com melhores níveis de inclusão de 2.267 e 1.291 respectivamente.

Na fase de terminação II houve linear para o GPD e efeito quadrático para a CA, com a melhor inclusão de 2.687 FYTkg.

Considerando todo período de crescimento e terminação (63 a 156 dias), para todos os parâmetros avaliados, T1, T3, T4 e T5 não diferiram entre si, mas foram distintos e melhores que T2 ($P < 0,05$). Foi verificado um efeito quadrático para CA, com a melhor dose posicionada em 1.923 FYT/kg.

Tabela 5 - Médias de peso inicial (PI), ganho de peso diário (GPD), consumo diário de ração (CDR), taxa de conversão alimentar (CA), e peso final (PV) de suínos durante as fases de crescimento e terminação de acordo com o tratamento experimental

Variáveis	Tratamentos					C.V. (%)	p-valor	P-valor	
	T1	T2	T3	T4	T5			Linear	Quadrático
Crescimento I (64 – 91 dias)									
PI (Kg)	26,360a	22,838b	24,132ab	24,587ab	24,048ab	10,10	0,023	NS	NS
CDR (Kg)	1,922a	1,590b	1,737ab	1,741ab	1,779ab	11,30	0,019	0,0236 ^c	NS
GPD (Kg)	1,001a	0,771b	0,940a	0,954a	0,964a	11,30	<0,001	NS	<0,001 ^b
CA	1,918b	2,060a	1,846b	1,829b	1,844b	7,50	<0,001	NS	0,0013 ^d
PF (Kg)	54,393a	44,434b	50,672a	51,303a	51,052a	10,00	<0,001	NS	0,0018 ^e
Crescimento II (92 – 112 dias)									
CDR (Kg)	2,535a	2,060b	2,385a	2,494a	2,479a	12,00	<0,001	NS	<0,001 ^g
GPD (Kg)	1,060a	0,826b	1,012a	1,056a	1,059a	12,20	<0,001	<0,001 ^f	NS
CA	2,396	2,502	2,352	2,363	2,338	5,90	0,140	NS	0,109 ^h
PF (Kg)	76,644a	61,780b	71,929a	73,469a	73,296a	9,90	<0,001	NS	<0,001 ⁱ
Terminação I (113 – 133 dias)									
CDR (Kg)	3,135a	2,544b	3,095a	3,103a	3,139a	12,00	0,001	<0,001 ^k	NS
GPD (Kg)	1,159a	0,880b	1,203a	1,181a	1,209a	13,50	<0,001	NS	<0,001 ^j
CA	2,707ab	2,899a	2,575b	2,625b	2,596b	7,30	0,006	NS	0,0016 ^l
PF (Kg)	100,977a	80,261b	97,187a	98,278a	99,156a	10,00	<0,001	<0,001 ^m	NS
Terminação II (134 – 156 dias)									
CDR (Kg)	3,107a	2,491b	2,981a	2,985a	3,105a	13,00	0,031	<0,001 ^o	NS
GPD (Kg)	0,961a	0,685b	0,932a	0,949a	0,981a	15,70	0,001	<0,001 ⁿ	NS
CA	3,237	3,698	3,203	3,149	3,172	10,70	0,054	NS	0,0013 ^p
PF (Kg)	122,127a	95,605b	117,665a	119,166a	120,765a	10,50	<0,001	<0,001 ^q	NS
Crescimento e Terminação (64 – 156 dias)									
CDR (Kg)	2,623a	2,130b	2,491a	2,521a	2,566a	10,80	0,003	<0,001 ^s	NS
GPD (Kg)	1,041a	0,788b	1,014a	1,028a	1,046a	11,80	<0,001	<0,001 ^r	NS
CA	2,519b	2,705a	2,454b	2,450b	2,452b	5,70	0,001	NS	<0,001 ^t

Fonte: O próprio autor.

T1=Controle Positivo. T2= Controle Negativo. T3= CN + 1,000 FYT/kg A. T4= CN + 2,000 FYT/kg A. T5= CN + 3,000 FYT/kg A. FYT = unidades de fitase por kg de ração. CV = coeficiente de variação. NS = não significativo

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

Valor de P=Resposta linear e quadrática para o aumento dos níveis de fitase na dieta.

^bY = 0.7788 + 0.0002X - 0.00000039614X²; Valor P = 0,0000; R²= 0,5667

^cY = 1.6257 + 0.000057266X; Valor P = 0,0236; R²= 0,1277

^dY = 2.0516 - 0.0002X + 0.000000057351X²; Valor P = ; R²= 0,3832

^eY= 44.6702 + 0.0069X - 0.0000016221X²; Valor P = 0,0018; R²=0,3433

^fY= 0.8768 + 0.00074305X; Valor P =0,000; R²=0,4190

^gY= 2.0646 + 0.0004X - 0.000000085018X²; Valor P = 0,0006; R²=0,3542

^hY= 2.4923 - 0.0001X + 0.000000031283X²; Valor P = 0,109; R²=0,1587

ⁱY= 62.1243 + 0.0114X - 0.0000025806X²; Valor P =0,0001; R²=0,3351

^jY= 0.8997 + 0.0003X - 0.000000073695X²; Valor P = 0,000; R²=0,4503

$kY = 2.7017 + 0.0002X$; Valor P = 0,0002; $R^2 = 0,0,3062$
 $lY = 2.876 - 0.0003X + 0.000000073773X^2$; Valor P = 0,0016; $R^2 = 0,3707$
 $mY = 85.0541 + 0.0058X$; Valor P = 0,0000; $R^2 = 0,4438$
 $nY = 0.7506 + 0.000090654X$; Valor P = 0,000; $R^2 = 0,4629$
 $oY = 2.614 + 0.0002X$; Valor P = 0,0003; $R^2 = 0,2902$
 $pY = 2.5216 + 0.0005X - 0.000000092402X^2$; Valor P = 0,0013; $R^2 = 0,3618$
 $qY = 101.753 + 0.0077X$; Valor P = 0,000; $R^2 = 0,4819$
 $rY = 0.8508 + 0.000078769X$; Valor P = 0,000; $R^2 = 0,5278$
 $sY = 2.2262 + 0.0001X$; Valor P = 0,0001; $R^2 = 0,3256$
 $tY = 2.6931 - 0.0003X + 0.000000063136X^2$; Valor P = 0,0001; $R^2 = 0,5169$

No cômputo de todo o período experimental (21 a 156 dias) (Tabela 6), ou uso da fitase, independente da dose, resultou nos mesmos índices zootécnicos do grupo controle (T1) ($p > 0,05$), sendo todos melhores que T2 ($p < 0,05$). Efeitos lineares positivos para o CDR e o GPD e um efeito quadrático para a CA, com a melhor inclusão de fitase de 2102 FYT/kg de ração, foram observados.

Tabela 6 - Médias de ganho de peso diário (GPD), consumo diário de ração (CDR), taxa de conversão alimentar (CA), e de suínos durante todo período de avaliação de creche, crescimento e terminação de acordo com o tratamento experimental

Variáveis	Tratamentos					C.V. (%)	p-valor	Valor P	
	T1	T2	T3	T4	T5			Linear	Quadrático
GPD (Kg)	0,867a	0,667b	0,832a	0,845a	0,854a	10,9	<0,001	<0,001 ^b	NS
CDR (Kg)	2,034a	1,674b	1,922a	1,945a	1,972a	10,1	<0,001	<0,001 ^c	NS
CA	2,346b	2,512a	2,308b	2,299b	2,309b	5	<0,001	NS	<0,001 ^d

Fonte: O próprio autor.

T1=Controle Positivo. T2= Controle Negativo. T3= CN + 1,000 FYT/kg A. T4= CN + 2,000 FYT/kg A. T5= CN + 3,000 FYT/kg A. FYT = unidades de fitase por kg de ração. CV = coeficiente de variação. NS = não significativo

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

Valor de P=Resposta linear e quadrática para o aumento dos níveis de fitase na dieta.

^bY = 0.7134 + 0.000057401X; Valor P = 0,0000; $R^2 = 0,6999$

^cY = 1.7411 + 0.000091474X; Valor P = 0,0003; $R^2 = 0,5412$

^dY = 2.5033 - 0.0002X + 0.000000053575X²; Valor P = 0,0001; $R^2 = 0,5753$

O peso final (PF) ao abate, o peso de carcaça (PC), o rendimento de carcaça (RC), a profundidade de lombo (PL) e a quantidade de carne magra (KCM) mostraram-se semelhantes entre T1, T4, T4 e T5 ($p > 0,05$) e melhores que T2 ($p < 0,05$) (Tabela 7). A porcentagem de carne magra na carcaça (KCM) para T1, T4 e T5 foi maior que T2 ($p < 0,05$), correspondendo a mais 4,27; 3,92 e 3,95%. T3 não diferiu dos

tratamentos. A espessura de toucinho (ET) não houve diferença entre os tratamentos ($p>0,05$).

Todos os parâmetros de carcaça avaliados, excetuando a ET, que não teve efeito de regressão, e a profundidade do lombo (PL) apresentou um efeito quadrático, com a melhor dose em 2.195 FYT/kg, apresentaram efeito linear positivo para o nível de fitase dietética (Tabela 7).

Tabela 7 - Médias de peso final (PF), peso de carcaça (PC), rendimento de carcaça (RC), espessura de toucinho (ET), profundidade de lombo (PL), quilogram a de carne magra (KCM) e porcentagem de carne magra (PCM) dos suínos submetidos diferentes níveis de fitase

Parâmetros	Tratamentos					C.V. (%)	p-valor	P- valor	
	T1	T2	T3	T4	T5			Linear	Quadrático
PF (Kg)	122,020a	101,323b	117,513a	118,863a	122,107a	9,6	<0,001	<0,001 ^b	NS
PC (Kg)	87,031a	69,411b	82,823a	84,449a	86,907a	10,3	<0,001	<0,001 ^c	NS
RC (%)	71,377a	68,619b	70,473a	71,058a	71,232a	3,8	0,0370	<0,001 ^d	NS
ET (mm)	16,940	16,701	16,313	16,617	16,555	21,6	0,9370	NS	NS
PL (mm)	64,180a	57,585b	62,598a	63,605a	62,829a	11,7	0,0210	NS	0,0031 ^e
PCM (%)	56,061a	53,662b	55,792ab	55,853a	55,874a	4,4	0,0200	0,0420 ^f	NS
KCM (kg)	48,253a	37,969b	45,983a	47,057a	48,376a	10,4	<0,001	<0,001 ^g	NS

Fonte: O próprio autor.

T1=Controle Positivo. T2= Controle Negativo. T3= CN + 1,000 FYT/kg A. T4= CN + 2,000 FYT/kg A. T5= CN + 3,000 FYT/kg A. FYT = unidades de fitase por kg de ração. CV = coeficiente de variação. NS = não significativo

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

Valor de P=Resposta linear e quadrática para o aumento dos níveis de fitase na dieta.

^bY =; $110.4871 + 0.0041X$; Valor P=0,000; R²= 0,162

^cY = $76.0183 + 0.0039X$; Valor P=0,000; R²= 0,2406

^dY = $68.7987 + 0.001X$; Valor P=0,009; R²= 0,0927

^eY= $54.5703 + 0.008X - 0.00000182X^2$; Valor P=0,031; R²=0,074

^fY= $54.8014 + 0.0005X$ Valor P=0,420; R²=0,0358

^gY= $41.6589 + 0.0025X$ Valor P= 0,000; R²=0,266

Para os parâmetros de qualidade da carne (Tabela 8) não houve diferença ($p<0,05$) entre os tratamentos para todas as variáveis analisadas e tampouco efeito de regressão

Tabela 8 - Médias observadas de oxidação lipídica no dia 0 (TBARS D0) e dia 7 (TBARS D7), perda por descongelamento (PPD), perda por cocção (PPC), marmoreio, pH, perda de água por pressão (PAP), a luminosidade (L^*), da intensidade de vermelho (a^*), da intensidade de amarelo (b^*) de acordo com o tratamento experimental

Variáveis	Tratamentos					C.V. (%)	p-valor	p-valor	
	T1	T2	T3	T4	T5			Linear	Quadrático
TBARS D0	0,09	0,09	0,089	0,093	0,087	9,6	0,8053	NS	NS
PPD (%)	8,553	9,892	8,536	10,964	9,365	24	0,2407	NS	NS
PPC (%)	23,716	26,908	27,106	29,388	28,125	17,8	0,2485	NS	NS
pH	5,847	5,719	5,815	5,779	5,709	4	0,7936	NS	NS
Marmoreio	1,778	2,278	1,625	1,778	1,944	38,3	0,4763	NS	NS
PAP (%)	27,392	29,254	30,105	28,542	29,02	12,3	0,5326	NS	NS
L	46,507	46,97	47,758	48,096	48,407	7,3	0,7093	NS	NS
a	3,919	4,83	4,304	3,948	4,367	34,7	0,8368	NS	NS
b	12,748	12,881	12,938	12,815	13,476	11,2	0,9213	NS	NS
TBARS D7	0,096	0,073	0,09	0,095	0,089	35,9	0,4433	NS	NS

Fonte: O próprio autor.

T1=Controle Positivo. T2= Controle Negativo. T3= CN + 1,000 FYT/kg A. T4= CN + 2,000 FYT/kg A. T5= CN + 3,000 FYT/kg A. FYT = unidades de fitase por kg de ração. CV = coeficiente de variação.

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

DISCUSSÃO

Na fase de creche, os resultados do GPD e da CA dos grupos tratados com fitase, semelhantes a T1, validam o papel da enzima na condição de superdose, cujas ações estão vinculadas à maior desfosforilação do fitato e à liberação de mais mio-inositol. Moran *et al.* (2019) afirmaram que o mio-inositol pode ser um nutriente condicionalmente essencial para leitões jovens durante o estresse do desmame, quando avaliaram duas doses de fitase (0 e 2.500 FTU/kg) e três concentrações de inositol (0%, 0,15% e 0,30%), e observaram que a superdosagem de fitase tendeu a melhorar o GPD em comparação com suínos alimentados com dietas sem fitase. Assim como, as concentrações crescentes de inositol melhoraram a eficiência alimentar dos suínos alimentados com dietas sem fitase, não gerando, contudo, benefícios quando este foi incorporado aos tratamentos que detinham dietas com fitase. Neste estudo, o inositol exógeno melhorou a eficiência alimentar durante os primeiros dez dias do período de creche no mesmo nível observado com a superdosagem de fitase, resultados que suportam nossos achados para a segunda

semana pós-desmame.

O uso de níveis crescentes de fitase (500, 1000 ou 2000 unidades de fitase (FTU)/kg de ração) em dietas com redução dos níveis de Ca e P em animais desmamados resultou na diminuição linear da excreção de P e Ca pelas fezes e no aumento da retenção desses nutrientes, determinando a melhora do desempenho (Dersjant-Li *et al.*, 2017). Nossos resultados se identificam com esses achados, com os tratamentos que fizeram uso da fitase (T3, T4 e T5) demonstrando resultados semelhantes à dieta controle positivo (T1), e superiores a T2 a partir da fase pré-inicial II, sugerindo que a utilização da superdosagem de fitase na fase de creche é efetiva e pode determinar benefícios que se estendem e se evidenciam mais nas fases de crescimento e terminação.

Em nosso estudo, a redução da ordem de -0,18 e -0,16%, respectivamente, nos níveis de P e de Ca nas dietas que receberam a suplementação com fitase, contrasta com outros estudos que praticaram déficits menores destes minerais nas rações (Santos *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2022), no entanto, independente do nível de fitase praticado, os resultados zootécnicos foram semelhantes aos tratamento controle positivo (T1) (Tabela 4), que detinha níveis adequados destes minerais que, pelas demandas nutricionais classicamente conhecidas, mostram-se mais elevadas nas fase de creche do que nas fases subsequentes (Rostagno *et al.*, 2017). Estas premissas podem justificar a razão pela qual os tratamentos com fitase (T3, T4 e T5 apresentaram valores de GPD semelhantes a T1, mas também não distintos de T2 (controle negativo), o que sinaliza que os melhores achados nas fases de engorda podem ser devido às menores exigências que estes animais têm destes minerais.

As melhores respostas no desempenho zootécnico verificadas para a dose máxima de fitase (2.500 FTU), empregado por Moran *et al.* (2019), para leitões em fase de creche, estão identificados com nossos resultados que em média apontam doses entre 2.058 e 2.327 FYT/kg de ração para o GPD e CA, respectivamente.

Essas diferenças, observadas a partir da suplementação com fitase já na fase de creche, poderia ser explicada pelo fato de que, se houvesse um benefício, provavelmente este seria mais evidente em leitões mais jovens, devido à diminuição da atividade enzimática e à mudança drástica do substrato dietético que ocorre no desmame. Assim, mesmo uma pequena melhoria na digestibilidade do amido ou de outro nutriente resultaria em melhor desempenho, considerando que o recém

desmamado tem uma capacidade digestiva menor (Holloway *et al.*, 2019).

As diferenças entre os tratamentos, especialmente frente ao grupo controle negativo, se evidenciaram na creche a partir da fase pré-inicial I (somente na variável CA), sendo mais pronunciada na fase inicial I. Pode-se estimar que essa observação decorra do papel da fitase sobre a minimização dos efeitos antinutricionais do fitato e/ou a da maior liberação de outros componentes limitantes da dieta; além da ação paralela do inositol (Holloway *et al.*, 2016).

O fitato interage com algumas enzimas gastrointestinais, como α -amilase, sendo que a superdosagem de fitase pode mitigar essa interação, levando a um aumento da digestibilidade do amido, incrementando assim a energia dietética e o desempenho do animal. No entanto, a maior parte do amido é digerida no final do intestino delgado, portanto, uma melhora na digestibilidade deste carboidrato provavelmente é baixa para o leitão, principalmente nas fases pós-desmame, mas, não menos importante, haja vista sua imaturidade enzimática e limitada capacidade digestiva (Holloway *et al.*, 2018).

Nas fases de crescimento e terminação nossos resultados em linha com vários estudos, confirmando os benefícios da superdose de fitase. Grela *et al.* (2020), utilizando dietas com déficits maiores de P e Ca em relação ao nosso estudo, suplementadas com doses crescentes de fitase (Ronozyme Hiphos, 250, 500, 1000 ou 1500 FTY/kg de ração), observaram menor GPD para leitões do grupo controle negativo (deficiente em P e Ca, sem suplementação com fitase) quando comparados ao grupo CP, assim como pior CA. Por sua vez, o GPD melhorou com o aumento do nível de fitase nas dietas deficientes em P e Ca durante o período de terminação, sendo a CA semelhante entre os tratamentos que receberam fitase e com o grupo CP.

Walk *et al.* (2013) ratificaram que a suplementação de fitase, acima de 500 FTY/kg de ração, caracterizando o conceito de superdose, efetivamente pode melhorar o desempenho e a eficiência alimentar do suíno devido à maior hidrólise de fitato e melhorias na utilização ou eficiência geral de nutrientes.

Holloway *et al.* (2019), trabalhando com dietas adequadamente suplementadas com P inorgânico (CP), dietas deficientes neste mineral e com decréscimo dos níveis de lisina e energia (CN), e dietas CN+2.500 FTU de fitase para suínos em fase de creche, crescimento e terminação, observaram que o tratamento CP resultou em maiores pesos finais, maior taxa de crescimento e utilização mais eficiente da ração e da energia metabolizável e líquida da dieta, quando comparado ao CN. O

fornecimento da superdose de fitase melhorou o desempenho e proporcionou melhores benefícios nas fases de crescimento e terminação, sendo estes menos expressivos na fase de creche. Este comportamento no desempenho zootécnico, distinto nas fases, se identificou com nossos resultados. No estudo de Holloway *et al.* (2019) pode-se pressupor que além do maior aporte de P determinado pela superdose de fitase, mais energia e aminoácidos da dieta foram disponibilizados para os animais, todavia, pelas demandas nutricionais mais elevadas que os leitões em fase da creche têm, estas foram menos atendidas que nas fases de engorda.

Nesta linha, Varley *et al.* (2011) ratificam os resultados de nosso estudo. Trabalhando com leitões em fase de creche alimentados com dietas deficientes em P, e dietas de crescimento e terminação com aporte adequado deste mineral, sendo todas suplementadas com fitase (500, 1000 ou 1500 FTU/kg), observaram que a suplementação na fase de creche determinou resultados positivos no desempenho para as fases subsequentes, sem diferenças significativas em CDR, GPD ou CA, contudo com um efeito quadrático para a suplementação de fitase com 1000 FTU/kg na dieta da fase de creche, que produziu uma resposta máxima na mineralização óssea aos 100 kg de peso corporal, apesar dos animais terem recebido uma dieta adequada de Ca e P a partir dos 33 aos 100 kg de peso corporal.

Nossos resultados também se identificam com os obtidos por Santos *et al.* (2014), que embora tenham trabalhado com uma dieta CN com menor redução de Ca e P (0,16 e 0,15%, respectivamente) em relação ao praticado em nosso estudo, e dietas somente dois níveis de fitase CN+500 FYT/kg de ração e CN+2500 FYT/kg de ração, observaram, para suínos em fase crescimento e terminação, que a suplementação melhorou o GPD e a CA em comparação a suínos alimentados com CN.

Tsai *et al.* (2020), utilizando suínos machos castrados alimentados com dieta com baixo ou adequado fósforo suplementado com fitase nas doses de 250, 500, 2500 ou 12.500 FTU/kg, por um período de 14 dias, observaram que o CDR se manteve inalterado, mas o GPD foi melhorado nos machos castrados alimentados com a dieta suplementada com fitase na dose de 2500 FTU/kg. Preservadas a semelhança dos resultados que obtivemos com os trabalhos citados, o destaque de nosso estudo está na razão do déficit de Ca e P praticados nas dietas que receberam fitase (-0,16 e -0,18%, respectivamente), valores que se mostram maiores que os verificados nos trabalhos listados (Grela *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2019; Silva *et al.*,

2022; Tsai *et al.*, 2020). Este benefício suporta o conceito da superdose para déficits ainda maiores destes minerais.

As repostas dos níveis de fitase sobre os parâmetros de desempenho nas fases de crescimento e terminação foram em geral lineares, portanto, em linha com as respostas dose-dependentes (Varley *et al.*, 2011) ou com respostas quadráticas com níveis em média de 2000 a 2400 FYT, identificadas com os achados de Silva *et al.* (2019) e Tsai *et al.* (2020). No entanto, esta condição valoriza nossos achados, pois diferente dos autores acima citados, as limitações de Ca e P dietético em nosso estudo foram mais elevados.

A sustentação dos benefícios da fitase, também verificados em nosso estudo, estão baseados, entre outras virtudes, na melhora que a enzima promove sobre a digestibilidade dos principais minerais demandados nutricionalmente na espécie suína, P e Ca. Neste sentido, Brady *et al.* (2003) enfatizam esse efeito, e Madrid *et al.* (2013), trabalhando com animais de crescimento e terminação, verificaram que a fitase microbiana, mesmo em uma dieta com baixo teor de fósforo total, melhorou a digestibilidade fecal aparente deste e de outros nutrientes, incrementando o desempenho, resultando na diminuição da excreção deste para o ambiente, uma condição importante atualmente.

Almeida, Sulabo e Stein (2013), utilizando seis tratamentos (CP, CN, dietas com inclusão de 500, 1.000, 2.000 e 4.000 FYT/kg de fitase), também relataram uma melhora na digestibilidade de Ca e P, sendo três vezes maior a digestibilidade do P comparada com o Ca.

Adedokun *et al.* (2015), estudando a eficácia *Buttiauxela* 6-fitase expressa em *Trichoderma reesei* (adicionada a 0; 500; 1.000; ou 2.000 unidades de fitase/kg), mostraram que, além de aumentar a utilização de P e Ca, houve digestibilidade ileal aumentada de nitrogênio e vários aminoácidos em suínos em crescimento de maneira dose-dependente. Estes achados suportam os resultados determinados pela fitase e explicam nossos resultados.

A partir dos estudos apresentados, existem duas possíveis explicações para os resultados encontrados no presente estudo. A diferença na inclusão dos minerais Ca e P nas rações poderia ser uma das causas do pior desempenho no tratamento T2 quando comparado aos demais, resultados esses semelhantes ao estudo de Silva *et al.* (2019), que concluíram que a suplementação com fitase (1.000, 2.000 ou 3.000 FYT/kg de ração) em dietas à base de milho e farelo de soja, com redução de 0,11%

de fósforo inorgânico e 0,13% de cálcio na ração, oferecidas para suínos em fase de crescimento e terminação, melhorou o consumo e o GPD, com efeitos dose-resposta, sendo os piores resultados observados para os animais que receberam a dieta CN. No entanto, experimentando doses superiores a 3000 FYT/kg de ração (4.500 FYT), Silva *et al.* (2022) observaram que as respostas positivas em geral se limitam até as doses de 3.000 FYT em dietas a base de milho e farelo de soja. Em nossos estudos, as respostas apresentaram este mesmo comportamento, com respostas lineares para o nível de fitase para o CDR e GPD e quadrática para a CA, considerando todo o computo das fases de crescimento e terminação.

Outra explicação poderia estar vinculada ao efeito melhorador fitase na restauração da relação Ca:P disponível, promovendo principalmente uma maior liberação de P em relação ao Ca. Assim, a melhora no desempenho determinada pela fitase pode ser atribuída ao melhor aproveitamento do P de origem vegetal e à liberação de amido e proteína ligados ao ácido fítico (Brady *et al.*, 2003).

A ausência de diferenças no GPD entre os tratamentos com fitase no período de terminação pode ser atribuída ao fato de os animais estarem próximos de seu potencial genético para o máximo para ganho de peso. Outra hipótese é que os níveis de fitase entre os tratamentos tenham atingido um equilíbrio devido à produção endógena de fitase pelos suínos, uma vez que a concentração de fitase na mucosa intestinal aumenta com a idade, o que melhora a capacidade dos animais de utilizar o ácido fítico na dieta (Madrid *et al.*, 2013).

Para as características de carcaça (Tabela 7), os resultados obtidos diferem dos encontrados por Dersjant-Li *et al.* (2017), que utilizaram dietas suplementadas com fitase de *Buttiauxela sp*, expressa por *Trichoderma reesei*, nas dosagens 250, 500 e 1.000 FYT/kg de ração, e observaram que a fitase não teve impacto significativo nestes parâmetros. Todavia, o limite máximo utilizado pelos autores representa o valor mínimo de fitase empregado em nosso estudo, o que suporta a informação que a concentração da enzima é determinante no valor ou expressão do resultado, um efeito dose-dependente (Dersjant-Li *et al.*, 2015).

Nesta visão, pode se inserir os achados de Fandrejewski *et al.* (1999), que usaram 1.000 FYT/kg de ração da enzima expressa em *Aspergillus niger* e não obtiveram nenhuma diferença nos resultados de abate dos animais. No entanto, Lozano *et al.* (2011), ao trabalharem com a suplementação de fitase expressa em *Aspergillus niger*, para de suínos em fase terminação, observaram maior profundidade

de lombo com 500 e 1.000 FYT/kg de ração em relação ao grupo controle negativo (sem fitase). Alguns autores relatam um aumento na porcentagem de gordura da carcaça, atribuindo esses efeitos a uma utilização progressiva da energia da dieta gerada pelo aumento das doses de fitase. Renova-se a afirmação que ação da fitase também é substrato dependente e neste caso os autores trabalharam com dietas com farelo de gérmen de milho desengordurado, um ingrediente que difere muito do milho quanto a concentração de fitato.

As diferenças na intensidade da ação das fitases são tratadas por Kerr *et al.* (2010), que compararam tipos de fitase e sua habilidade na liberação de energia das dietas. Nesta linha, Brady *et al.* (2003), utilizando uma fitase expressa em *Peniophora lycii* (500, 750 e 1.000 FYT/kg de ração), portanto, diferente da utilizada em nosso estudo, observaram um aumento linear na espessura de toucinho e uma diminuição linear no teor de carne magra.

Nossos resultados estão identificados com os obtidos por Lozano *et al.* (2011), que trabalhando a fitase oriunda do *Aspergillus niger* na suplementação de dietas de suínos em terminação, observaram maior profundidade de lombo com 500 e 1.000 FYT/kg de ração em relação ao grupo controle, e aos achados de Silva *et al.* (2019), que verificaram que dietas com fitase não aumentaram a deposição de gordura, sugerindo que a energia “adicional” fornecida pela fitase não foi suficiente para promover a deposição de gordura, mesmo obtendo melhor GPD e CDR como resultado.

Considerando a avaliação do nível de fitase sobre os parâmetros de carcaça, as respostas lineares positivas para peso final e de carcaça, para o rendimento de carcaça e para a porcentagem e quantidade de carne magra estão em sintonia com os efeitos dose-dependentes da enzima. O efeito quadrático, exclusivamente observado para a profundidade do músculo lombar, com melhor resposta para 2.195 FYT/kg de ração, um valor semelhante ao obtido em alguns parâmetros de desempenho na fase de creche, mas que não se identifica com trabalhos que testaram um mesmo range de fitase e não identificaram este efeito (Silva *et al.*, 2019).

Este resultado sugere que a energia “adicional” fornecida pela fitase não foi suficiente para promover a deposição de gordura. Ao mesmo tempo, as variações comuns das ações das diferentes fitases também devem ser consideradas, como aqueles vinculados à sua origem e expressão, nível de inclusão e características inerentes à dieta.

Referente à qualidade de carne, nossos achados corroboram com os resultados obtidos por Lozano *et al.* (2011), que não encontraram diferença entre os tratamentos para todas os parâmetros avaliados, independentemente do nível de fitase usada, assim como aqueles obtidos por Souza *et al.* (2008), que não diferenças nas análises na cor, pH, firmeza e força de cisalhamento entre os tratamentos que fizeram uso da fitase ou não.

Todavia, os resultados de nosso estudo não se identificam com os achados de Gebert *et al.* (1999), que trabalhando com concentrações muito altas de fitase (5000 FTU), obtiveram efeitos na cor da carne, sendo o valor L 3% maior devido à suplementação enzimática, o que significa que a carne ficou mais pálida. No entanto, a adição de fitase não teve efeito significativo sobre a capacidade de retenção de água da carne fresca, o teor de gordura do músculo *Longissimus dorsi* não foi afetada pela suplementação e houve uma piora na oxidação lipídica (TBARS) no grupo que recebeu a inclusão de fitase.

CONCLUSÃO

Suplementação com fitase a 1.000, 2.000 ou 3.000 FYT / kg de ração em dietas à base de milho e farelo de soja, com redução severa de fósforo inorgânico e cálcio, melhorou o ganho de peso diário, o consumo de ração e a conversão alimentar de suínos em creche, crescimento e terminação, refletindo num resultado positivo também em rendimento de carcaça sem prejuízo da qualidade de carne, compensando os níveis reduzidos de nutrientes. Doses de fitase em níveis ao redor de 2.200 FYT/kg de ração mostraram os melhores desempenhos zootécnicos nas fases avaliadas.

REFERÊNCIAS

- ADEDOKUN, S. A.; OWUSU-ASIEDU, A.; RAGLAND, D.; PLUMSTEAD, P.; ADEOLA, O. The efficacy of a new 6-phytase obtained from *Buttiauxella spp.* expressed in *Trichoderma reesei* on digestibility of amino acids, energy, and nutrients in pigs fed a diet based on corn, soybean meal, wheat middlings, and corn distillers' dried grains with solubles. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 93, n. 1, p.168-175, Jan. 2015. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7912>.
- ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, n. 10, p. 3189–3218, Oct. 2011. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3715>.
- ALMEIDA, F. N.; SULABO, R. C.; STEIN, H. H. Effects of a novel bacterial phytase expressed in *Aspergillus oryzae* on digestibility of calcium and phosphorus in diets fed to weanling or growing pigs. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, London, v. 4, n. 1, p. 1-10, 2013.
- AMSA - AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION. **Meat evaluation handbook**. Savoy: AMSA, 2001.
- BARROS, L. B. **Efeitos de níveis de lisina da dieta sobre a qualidade da carne de fêmeas suínas abatidas em diferentes pesos**. 2001. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.
- BERG, E. (ed.). **Composition and quality assessment procedures**. Des Moines: National Pork Producers Council, c2000. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbnmnibpcajpcgicfindmkaj/https://porkgateway.org/wp-content/uploads/2015/07/pork-composition-and-quality-assessment-procedures.pdf>. Acesso em: 23 set. 2022.
- BRADY, S. M.; CALLAN, J. J.; COWAN, D.; MCGRANE, M.; O'DOHERTY, J. V. Effect of two microbial phytases on the performance and nutrient retentions on grower-finisher pigs fed barley-maize-soyabean meal-based diets. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, Dublin, v. 42, n. 1, p. 101–117, June 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**: II métodos físicos e químicos. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981. v. 2.
- CRACKEL, R. L.; GRAY, I. J.; PEARSON, A. M.; BOOREN, A. M.; BUCKLEY, D. J. Some further observations on the TBA test as an index of lipid oxidation in meats. **Food Chemistry**, London, v. 28, n. 3, p. 187-196, 1988. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217490>
- CROZE, M. L.; SOULAGE C. O. Potential role and therapeutic interests of myo-inositol in metabolic diseases. **Biochimie**, Paris, v. 95, n. 10, p.1811-1827, Oct.

2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2013.05.011>

DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 95, n. 5, p. 878-896, Mar. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6998>

DERSJANT-LI, Y.; WEALLEANS, A. L.; BARNARD, L. P.; BARNARD, S. LANE. Effect of increasing Buttiauxella phytase dose on nutrient digestibility and performance in weaned piglets fed corn or wheat-based diets, **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 234, p. 101-109, Dec. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.09.008>

FANDREJEWSKI, H.; WEREMKO, D.; RAJ, S.; SKIBA, G.; HAN, I. K. Performance, body and carcass composition and bone characteristics of pigs fed rapeseed and soybean meal-cereal diets supplemented with microbial phytase. **Journal of Animal and Feed Sciences**, Jabłonna, v. 8, p. 533–547, 1999.

GEBERT, S.; BEE, G.; PFIRTER, H. P.; WENK, C. Phytase and vitamin E in the feed of growing pigs: II. Influence on carcass characteristics, meat and fat quality. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 81, n. 1, p. 20-30, Feb. 1999.

GRELA, E. R.; MUSZYŃSKI, S.; CZECH, A.; DONALDSON, J.; STANISŁAWSKI, P.; KAPICA, M.; BREZVYN, O.; MUZYKA, V.; KOTSYUMBAS, I.; TOMASZEWSKA, E. Influence of phytase supplementation at increasing doses from 0 to 1500 FTU/kg on growth performance, nutrient digestibility, and bone status in grower–finisher pigs fed phosphorus-deficient diets. **Animals**, Basel, v. 10, n. 5, p. 847, May 2020.

GUGGENBUHL, P.; WACHÉ, Y.; NUNES, S. C.; FRU, F. Effects of a 6-phytase on the apparent ileal digestibility of minerals and amino acids in ileorectal anastomosed pigs fed on a corn–soybean meal–barley diet, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, p. 182–184, Dec. 2012. Supplement 4. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.53892>

HOLLOWAY, C. L.; BOYD, R. D.; GOULD, S. A.; LI, Q.; PATIENCE, J. F. The impact of “super-dosing” phytase in pig diets on growth performance during the nursery and grow-out periods. **Translational Animal Science**, Oxford, v. 3, n. 1, p. 419–428, Jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/tas/txy148>

KERR, B. J.; WEBER, T. E.; MILLER, P. S.; SOUTHERN, L. L. Effect of phytase on apparent total tract digestibility of phosphorus in corn-soybean meal diets fed to finishing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 1, p. 238-247, Jan. 2010. DOI: <http://doi.org/10.2527/jas.2009-2146>

LAUTROU, M.; NARCY, A.; DOURMAD, J. Y.; POMAR, C.; SCHMIDELY, P.; LÉTOURNEAU MONTMINY, M. P. Dietary phosphorus and calcium utilization in growing pigs: requirements and improvements. **Frontiers in Veterinary Science**, Lausanne, v. 8, p. 1-17, Nov. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets>

LOZANO, A. P.; PACHECO, G. D.; SILVA, C. A.; BRIDI, A. M.; VINOKUROVAS, S. L.; DALTO, D. B.; *et al.* Níveis de fitase em rações para suínos em fase de terminação. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 60, n. 232, p. 839–850, dic. 2011.

MADRID, J.; MARTINEZ, S.; LOPEZ, C.; HERNANDEZ F. Effect of phytase on nutrient digestibility, mineral utilization and performance in growing pigs. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 154, n. 1/3, p. 144–151, June 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.03.003>

MORAN, P.; WILCOCK, P.; ELSBERND, A.; ZIER-RUSH, C.; BOYD, R. D.; VAN HEUGTEN, E. Effects of super-dosing phytase and inositol on growth performance and blood metabolites of weaned pigs housed under commercial conditions, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 97, n. 7, p. 3007–3015, July 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skz156>

MORAN, K.; BOYD, R. D.; ZIER-RUSH, C.; WILCOCK, P.; BAJJALIEH, N.; VAN HEUGTEN, E. Effects of high inclusion of soybean meal and a phytase superdose on growth performance of weaned pigs housed under the rigors of commercial conditions, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 95, n. 12, p. 5455–5465 Dec. 2017. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas2017.1789>

ROSTAGNO, H. S. (ed.). **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4. ed. Viçosa: UFV, 2017. 488p.

SANTOS, T. T.; WALKER, L.; WILCOCK, P.; CORDERO, G.; CHEWNING, J. Performance and bone characteristics of growing pigs fed diets marginally deficient in available phosphorus and a novel microbial phytase. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 94, n. 3, p. 493-497, Sept. 2014. DOI: <https://doi.org/10.4141/cjas2013-190>

SELLE, P. H., COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 124, n. 1-3, p.126–141, Sept. 2009. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.01.006>

SILVA, C. A. da; CALLEGARI, M. A.; DIAS, C. P.; BRIDI, A. M.; PIEROZAN, C. R.; FOPPA, L.; MARTINS, C. C. S.; DIAS, F. T. F.; PASSOS, A.; HERMES, R. Increasing doses of phytase from *Citrobacter braakii* in diets with reduced inorganic phosphorus and calcium improve growth performance and lean meat of growing and finishing pigs. **PLoS One**, San Francisco, v. 14, n. 5, May 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217490>

SILVA, C. A.; CALLEGARI, M. A.; DIAS, C. P.; SOUZA, K. L. de; CARVALHO, R. H. de; ALEBRANTE, L.; MARTINS, C. C. da S.; HECK, A.; FASCINA, V. B. Increasing doses of bacterial phytase (*Citrobacter braakii*) improves performance and carcass characteristics of pigs in growing and finishing phases. **Animals**, Basel, v. 12, n. 19, p. 1-11, 2022.

SOUZA, C. M.; NUNES, R. C.; MATOS, M. P. C.; COELHO, K. O.; MESQUITA, A. J.;

NUNES, I. A. Efeito da remoção de suplementos microminerais e vitamínicos, associada a redução do fósforo e adição da fitase sobre a vida de prateleira da carne suína refrigerada. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 3, p. 746-752, jul./set. 2008.

TARLADGIS, B. G.; PEARSON, A. M.; DUGAN JUN, L. R. Chemistry of the 2-thiobarbituric test for determination of oxidative rancidity in foods II. Formation of the TBA-malonaldehyde complex without acid-heat treatment. **Journal of Food Science and Agriculture**, New Jersey, v. 5, p. 602-604, 1964.

TSAI, T. C.; DOVE, R.; BEDFORD, M. R.; AZAIN, M. J. Effect of phytase on phosphorous balance in 20-kg barrows fed low or adequate phosphorous diets. **Animal Nutrition**, [s. n.], v. 6, n. 1, p. 9–15, Mar. 2020.

VARLEY, P. F.; FLYNN, B.; CALLAN, J. J.; O'DOHERTY, J. V. Effect of phytase level in a low phosphorus diet on performance and bone development in weaner pigs and the subsequent effect on finisher pig bone development. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 138, n. 1/3, p. 152–158, June 2011.

WALK, C. L.; BEDFORD, M. R.; SANTOS, T. S.; PAIVA, D.; BRADDLEY, J. R.; WLDECKI, H.; HONAKER, C.; MCELROY, A. P. Extra-phosphoric effects of superdoses of a novel microbial phytase. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, n. 3, p.719-725, Mar. 2013. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02727>

ZHAI, H.; BERGSTROM JR.; ZHANG, J.; DONG, W.; WANG, Z.; STAMATOPOULOS, K.; COWIESON, AJ. Use of fixed calcium to phosphorus ratios in experimental diets may create bias in phytase efficacy responses in swine. **Translational Animal Science**, Oxford, v. 6, n. 3, p. 1-9, Aug. 2022. DOI: <https://doi: 10.1093/tas/txac124>.

ZHANG, Y. G.; JIANG, W. M.; TAO, L. H. The effect of dietary p level on the digestibility and output of p and nitrogen. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Helsingfors, v. 8, n. 3/4, p. 348-355, 2010. Part 1.

ARTIGO B – AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE DESEMPENHO DE SUÍNO EM FASE DE CRECHE, CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO UTILIZANDO SUPERDOSAGEM DE FITASE DE QUARTA GERAÇÃO EM DIETAS COM SEVERA RESTRIÇÃO DE CÁLCIO E FÓSFORO

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito extrafosfórico de doses crescentes de uma nova fitase bacteriana (HiPhorius) em dietas com teor reduzido de fósforo e cálcio no desempenho e rendimento de carcaça em suínos nas fases de creche, crescimento e terminação. Foram utilizadas 125 fêmeas e 125 machos castrados com peso inicial de $6,079 \pm 0,744$ kg e 21 dias de idade, distribuídos em delineamento de blocos casualizados com cinco tratamentos e dez repetições com cinco animais cada. Os animais foram alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, correspondendo aos tratamentos: T1: controle positivo (CP), suplementado com fósforo inorgânico e cálcio; T2: controle negativo (CN), com redução de 0,18% no fósforo disponível e 0,16% no cálcio; e três dietas CN suplementadas com 600 (T3), 1.200 (T4) e 1.800 unidades de fitase (FYT) (T5). Na fase de creche o T1 teve o melhor ganho de peso diário GPD (0,481 kg/dia) em relação ao grupo T2 (0,398 kg/dia), não diferindo de T3, T4 e T5 (0,455, 0,448, e 0,431kg/dia kg, respectivamente), e T2 apresentou pior conversão alimentar (CA) (1,676) comparado aos demais grupos T1, T3, e T4 (1,519; 1,533; 1,515 e 1,524 respectivamente), não havendo diferença para o consumo diário de ração (CDR). Nas fases de crescimento e terminação houve diferenças para todos os parâmetros, com piores resultados para T2 e semelhantes entre T1 e tratamentos que receberam fitase. Efeitos quadráticos foram verificados para a CA na fase de creche e de crescimento e terminação, com as melhores doses em 1,320 e 1,404 FYT/kg, respectivamente. A suplementação com fitase proporcionou resultados similares de peso final (PF), peso (PC) e rendimento de carcaça (RC) e porcentagem (PCM) quantidade de carne magra na carcaça ao T1, sendo estes diferentes e superiores ao T2, com efeitos quadráticos para PF, PC, RC e PCM, respectivamente, 1.377, 1.324, 1.416 e 1.246 FYT/kg. A fitase de quarta geração supre o déficit dietético de Ca e P, com resultados de desempenho nas fases de creche, crescimento e terminação e de características de carcaça equivalentes à dieta isenta da limitação destes minerais, .

Palavras-chave: aditivo; *Aspergillus oryzae*; fitato; minerais; suínos.

EVALUATION OF PERFORMANCE PARAMETERS OF PIGS IN THE NURSING, GROWING AND FINISHING PHASES USING OVERDOSAGE OF FOURTH GENERATION PHYTASE IN DIETS WITH SEVERE CALCIUM AND PHOSPHORUS RESTRICTION

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the extraphosphoric effect of increasing doses of a new bacterial phytase (HiPhorius) in diets with reduced phosphorus and calcium content on performance and carcass yield in pigs in the nursery, growing and finishing phases. The experiment included 125 females and 125 castrated males with an initial weight of 6.079 ± 0.744 kg and 21 days of age, distributed in a randomized block design with five treatments and ten replications with five animals each. The animals were fed diets based on corn and soybean meal, corresponding to the treatments: T1: positive control (CP), supplemented with inorganic phosphorus and calcium; T2: negative control (CN), with a 0.18% reduction in available phosphorus and 0.16% in calcium; and three CN diets supplemented with 600 (T3), 1,200 (T4), and 1,800 phytase (FYT) units (T5). In the nursery phase, T1 had the best daily weight gain DWG (0.481 kg/day) when compared to T2 (0.398 kg/day), and T3, T4 and T5 did not differ from T1 (0.455, 0.448, and 0.431 kg/day). T2 also presented the worst feed conversion (FCR) (1.676) when compared to the other groups (1.519; 1.533; 1.515 and 1.524 for T1, T3, T4 and T5), with no difference for daily feed consumption (DFC). In the growth and finishing phases there were differences for all parameters, with worse results for T2 and similar between T1 and groups that received phytase. Quadratic effects were verified for FCR in the nursery and growth and finishing phases, with the best doses at 1,320 and 1,404 FYT/kg, respectively. Supplementation with phytase guaranteed the same results in final weight (FW), weight (BW) and carcass yield (CY) and percentage (%LM) amount of lean meat in the carcass in relation to T1, these being different and superior to T2, with quadratic effects for FW, CW, CY and %LM, respectively, 1,377, 1,324, 1,416 and 1,246 FYT/kg. Fourth generation phytase makes up for the dietary Ca and P deficit, with performance results in the nursery, growth and finishing phases equivalent to the T1 diet, preserving carcass characteristics at the same level as the T1 diet.

Keywords: additive; *Aspergillus oryzae*; minerals; phytate; swine.

INTRODUÇÃO

As fitases de origem bacteriana são as enzimas exógenas mais utilizadas atualmente na nutrição de monogástricos, atuando na hidrólise do fitato quanto dos ésteres de fitato inferiores (Adeola; Cowieson, 2011). Há uma grande variedade de fitases exógenas comercialmente disponíveis, provenientes de diferentes linhagens bacterianas como base de produção (Thorsen *et al.*, 2021), com ações otimizadas em pH diferentes, e com estabilidade gástrica e térmica distintas (Menezes-Blackburn; Gabler; Greiner, 2015).

As fitases são comumente desenvolvidas por meio de engenharia genética (Almeida; Sulabo; Stein, 2013), como a fitase de *Escherichia coli* expressa em *Trichoderma reesei* e a fitase de *Citrobacter braakii* expressa em *Aspergillus oryzae* (Dersjant-Li *et al.*, 2015), sendo classificadas em dois grupos, 3-fitases ou 6-fitases, que correspondem à localização na molécula de fitato onde o primeiro ortofosfato é hidrolisado (Braña *et al.*, 2006; Jongbloed *et al.*, 2004).

O uso de fitases na alimentação animal para animais monogástricos tem uma longa história com reconhecidas vantagens (Dersjant-Li *et al.*, 2015), focado em promover a utilização do fósforo presente nos ingredientes de origem vegetal na ração, que estão na forma de fitato, minimizando seu efeito antinutricional e aumentando a disponibilidade de mio-inositol, reduzindo assim as emissões do mineral para o ambiente.

Usualmente, sua inclusão nas dietas dos suínos é de 500 unidades de fitase (FYT) por quilograma de ração (Dersjant-Li *et al.*, 2017; Selle; Cowieson; Ravindran, 2009), entretanto, nesta condição é comum que menos de 50% do fitato dietético seja hidrolisado. Níveis maiores de inclusão, portanto, mostram-se necessários para que mais de 60% do fitato seja hidrolisado, reduzindo seus efeitos antinutricionais e melhorando a eficiência na utilização do fósforo orgânico (Dersjant-Li *et al.*, 2015). Também deve-se considerar os chamados efeitos “extra-fosfóricos” que as fitases detêm, aumentando a digestibilidade do cálcio, de aminoácidos e proteínas e da própria energia (Guggenbuhl; Simões Nunes, 2007; Haefner *et al.*, 2005; Selle; Ravindran, 2008; Romero *et al.*, 2016), permitindo a redução dos níveis desses nutrientes nas rações.

Esta condição de otimização de nutrientes, além do fósforo, em especial é obtida com mais êxito quando se adota o aumento da dose convencional de fitase

para 1.500-2.000 FTU/kg de ração, valores estes que podem ser economicamente atraentes quando os valores dos nutrientes liberados são comparados ao custo da fitase utilizada (Cowieson *et al.*, 2017)

As fitases comerciais mais recentes, geralmente descritas como produtos de terceira geração, são consideradas uma evolução e avanço de seus produtos de geração anterior, que foram desenvolvidos no final dos anos 80 e início dos anos 90 (Zhang *et al.*, 2022). Os avanços contínuos na engenharia de proteínas levaram a melhorias na temperatura intrínseca e na estabilidade do pH (Thorsen *et al.*, 2021) e o desenvolvimento da próxima geração de novas fitases, os chamados produtos de quarta geração com temperatura intrínseca aumentada e estabilidade de pH.

De acordo com Thorsen *et al.* (2021), as fitases comerciais, atualmente disponíveis no mercado são derivadas de um grupo de microrganismos, entre eles *Aspergillus spp.*, *Buttiauxela sp.*, *Citrobacter braakii*, *Escherichia coli*, *Hafnia sp.*, e *Peniophora lycii*. Recentemente, a fitase produzida através da *Citrobacter braakii*, expressa em *Aspergillus. oryzae* descrita como Fitase HM, uma quarta geração desta classe de enzima, foi disponibilizada comercialmente (HiPhorius™, Produtos Nutricionais DSM, Suíça), com atributos que indicam maior eficiência.

Diversos estudos demonstraram resultados com diferentes inclusões, principalmente utilizando as fitases descritas como de terceira geração, tanto no desempenho de suínos nas diversas fases pelas quais passa o suíno, como também nas características de carcaça e na qualidade da carne, porém, estudos com as chamadas fitases de quarta geração ainda são escassos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de doses crescentes da nova fitase (Hiphorius, DSM Nutritional Products Brasil) no desempenho e nas características de carcaça de suínos nas fases de creche, crescimento e terminação, utilizando rações à base de milho e farelo de soja, com redução severa de cálcio e fósforo disponíveis.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em conformidade com as recomendações do Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CEUA) e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Akei Animal Research (número do protocolo: 004/21).

Um total de 250 leitões (AG337 x Camborough), 125 fêmeas e 125 machos

castrados, peso médio de $6,079 \pm 0,744$ kg e idade de 21 dias foram usados. Os animais foram divididos em delineamento de blocos casualizados (de acordo com o peso inicial), com cinco tratamentos e dez repetições, com cinco suínos por baia que foi considerada a unidade experimental. A temperatura e a umidade relativa do ar durante o período experimental foram de $24,5 \pm 4,9$ °C e $64,8 \pm 12,7\%$.

Os tratamentos incluíram cinco dietas, correspondendo a: T1: controle positivo (CP), suplementado com fósforo inorgânico (P) e cálcio (Ca) fornecido por fosfato bicálcico e calcário; T2: controle negativo (CN), com redução do fósforo disponível (-0,18%) e cálcio (-0,16%); T3: CN + 600 FYT / kg de alimento; T4: CN + 1.200 FYT / kg de ração; T5: CN +1.800 FYT / kg de ração.

Hiphorius (DSM Nutritional Products, Brasil) foi a fitase usada no experimento, uma 6-fitase produzida pela introdução de substâncias sintéticas genes que simulam um gene de fitase de *C. braakii* ATCC 51113 e expressam a fitase codificada em *A. oryzae*, uma cepa geneticamente modificada.

Os animais foram submetidos a um programa de alimentação com oito fases: pré-inicial I (21 a 28 dias de idade); pré-inicial II (29 a 35 dias de idade); Inicial I (36 a 49 dias de idade); Inicial II (50 a 63 dias de idade); Crescimento I (64 a 91 dias de idade); Crescimento II (92 a 112 dias de idade); Terminação I (113 a 133 dias de idade); e Terminação II (134 a 156 dias de idade) (Tabelas 1 e 2). Todas as rações eram baseadas em milho e farelo de soja, formuladas de acordo com as exigências mínimas de Rostagno *et al.*, (2017). Tanto a ração quanto a água foram fornecidas *ad libitum*. Foram avaliados o ganho de peso diário (GPD), consumo diário de ração (CDR) e conversão alimentar (CA) no início do estudo e no final de cada fase, correspondendo aos 28, 36, 49, 63, 91, 112, 140 e 156 dias.

Tabela 1 - Composição das rações experimentais utilizadas na fase de creche e seus valores nutricionais e energéticos.

Ingredientes (kg)	Creche							
	Pré-inicial I		Pré-inicial II		Inicial I		Inicial II	
	CP	CN	CP	CN	CP	CN	CP	CN
Milho moído 8,8	538,19	551,44	561,69	574,31	596,13	609,39	645,65	658,85
F Soja 45	206	206	248	248	280	280	289	289
Soro de Leite	150	150	100	100	50	50	-	-
Plasma Pó	50	50	25	25	-	-	-	-
Óleo Soja	16,7	11,3	22	16,8	26,2	20,76	23,8	18,4
Fosfato Bic 24/18	19,25	9,2	18,57	9,62	19,6	9,53	18,45	8,4
Calcário Calc 36	2,8	5	4,1	5,63	4,37	6,62	4,68	6,93
Sal comum	1,9	1,9	4,5	4,5	5,85	5,85	5,8	5,8
Oxido Zinco 72	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	-	-
Sulf Cobre Penta	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
DL Metionina	1,7	1,7	1,75	1,75	1,89	1,89	1,67	1,67
L Lisina HCl	4,45	4,45	4,91	4,91	5,66	5,66	5,18	5,18
L Treonina	2	2	2,25	2,25	2,66	2,66	2,13	2,13
L Triptofano	0,44	0,44	0,47	0,47	0,55	0,55	0,45	0,45
L Valina	0,82	0,82	1,01	1,01	1,34	1,34	0,94	0,94
Adsorvente Micotoxinas	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Premix Mineral	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Premix Vitamin	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Total	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Valores Calculados								
EM, kcal/kg	3350	3350	3350	3350	3350	3350	3350	3350
PB, %	20,06	20,17	19,89	19,99	19,42	19,53	19,51	19,64
PDI Lys, %	1,4	1,4	1,35	1,35	1,3	1,3	1,25	1,25
Calcio, %	0,75	0,59	0,75	0,59	0,75	0,59	0,7	0,54
P total, %	0,71	0,54	0,68	0,52	0,68	0,5	0,64	0,46
P disp., %	0,55	0,37	0,5	0,34	0,48	0,3	0,43	0,25
Sódio %	0,35	0,35	0,35	0,35	0,3	0,3	0,25	0,25
PDI MC/SID Lys	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,57	0,57
PDI Tre/SID Lys	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,65	0,65
PDI Trip/SID Lys	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
PDI Val/SID Lys	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69
PDI Isol/SID Lys	0,5	0,5	0,52	0,52	0,53	0,53	0,55	0,55

Fonte: O próprio autor.

CP: Controle Positivo, CN: Controle Negativo, PDI: Padrão de Digestibilidade Ileal

^fVitamin premix provided per kg of diet: 6,000 IU vitamin A; 1,500 IU vitamin D3; 15 mg vitamin E; 1.5 mg vitamin K3; 1.35 mg vitamin B1; 4 mg vitamin B2; 2 mg vitamin B6; 20 µg vitamin B12; 20 mg; 9.35 mg pantothenic acid; 600 µg folic acid; 80 µg biotin; 300 µg Se.

^gMineral premix provided per kg of diet: 100 mg Fe; 10 mg Cu; 40 g Mn; 1 mg Co; 100 mg Zn; 1.5 mg I.

Tabela 2 - Composição das rações experimentais utilizadas nas fases de crescimento e terminação e seus valores nutricionais e energéticos.

Ingredientes (kg)	Crescimento / Terminação							
	Crescimento I		Crescimento II		Terminação I		Terminação II	
	CP	CN	CP	CN	CP	CN	CP	CN
Milho moído 8,8	706,55	719,45	748,22	761,22	797,63	810,89	838,73	851,43
F Soja 45	235	235	199	199	161	161	125	125
Óleo Soja	20	15	17,5	12,2	9,4	4	7	1,75
Fosfato Bic 24/18	14,8	4,7	12,1	2,1	10,58	0,52	9,05	
Calcário Calc 36	7,5	9,7	8	10,3	7,9	10,1	7,7	9,3
Sal comum	4,6	4,6	4,6	4,6	3,8	3,8	3,8	3,8
Sulf Cobre Penta	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
DL Metionina	1,43	1,43	1,11	1,11	0,86	0,86	0,52	0,52
L Lisina HCl	4,82	4,82	4,58	4,58	4,35	4,35	4,11	4,11
L Treonina	1,82	1,82	1,61	1,61	1,4	1,4	1,2	1,2
L Triptofano	0,54	0,54	0,51	0,51	0,48	0,48	0,46	0,46
L Valina	0,69	0,69	0,52	0,52	0,35	0,35	0,18	0,18
Adsorvente Micotoxinas	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Premix Mineral	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Premix Vitamin	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Total	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Valores Calculados								
EM, kcal/kg	3350	3350	3350	3350	3325	3325	3325	3325
PB, %	17,54	17,66	16,21	16,34	14,9	15	13,56	13,66
PDI Lys, %	1,1	1,1	1	1	0,9	0,9	0,8	0,8
Calcio, %	0,7	0,54	0,65	0,49	0,6	0,44	0,55	0,39
P total, %	0,56	0,38	0,51	0,33	0,47	0,29	0,43	0,27
P disp., %	0,36	0,18	0,31	0,13	0,28	0,1	0,25	0,09
Sódio %	0,2	0,2	0,2	0,2	0,18	0,18	0,17	0,17
PDI MC/SID Lys	0,59	0,59	0,59	0,59	0,6	0,6	0,6	0,6
PDI Tre/SID Lys	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
PDI Trip/SID Lys	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
PDI Val/SID Lys	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69
PDI Isol/SID Lys	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55

Fonte: O próprio autor.

CP: Controle Positivo, CN: Controle Negativo, PDI: Padrão de Digestibilidade Ileal

^fVitamin premix provided per kg of diet: 6,000 IU vitamin A; 1,500 IU vitamin D3; 15 mg vitamin E; 1.5 mg vitamin K3; 1.35 mg vitamin B1; 4 mg vitamin B2; 2 mg vitamin B6; 20 µg vitamin B12; 20 mg; 9.35 mg pantothenic acid; 600 µg folic acid; 80 µg biotin; 300 µg Se.

^gMineral premix provided per kg of diet: 100 mg Fe; 10 mg Cu; 40 g Mn; 1 mg Co; 100 mg Zn; 1.5 mg I.

Aos 156 dias de idade todos os animais foram encaminhados a um frigorífico comercial, sendo previamente submetidos à restrição alimentar por 12 horas antes do transporte, enquanto a água manteve-se disponível até o abate, precedido pela insensibilização pelo método de eletronarcorese, seguido do sacrifício pela secção dos vasos da região de pescoço.

As carcaças foram submetidas à classificação eletrônica (Hennessy Grade Probe, Hennessy Grading Systems, Auckland, NZ) medindo-se a espessura do toucinho (ET) e a profundidade do músculo *Longissimus thoracis et lumborum* (PL) no ponto P2 (59 mm lateral à linha dorsal da carcaça, imediatamente caudal à última costela, meia carcaça esquerda), conforme BERG (2000).

As carcaças foram pesadas (PC), e obtidos os valores de porcentagem e teor de carne magra na carcaça (CM). O percentual de CM foi calculado com base na equação modificada, proposta pelo Hennessy Grading Systems ($\% \text{ CM} = 61,33 - [0,76 \times \text{ET}] + [0,1 \times \text{PL}]$), e o teor de CM foi calculado multiplicando-se o peso da carcaça pelo percentual de CM.

Cada baía serviu como unidade experimental para dados de desempenho e cada indivíduo representou a unidade experimental para as características de carcaça. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) do procedimento General Linear Model (GLM) à análise de regressão linear para os níveis de fitase empregado, sendo utilizado o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System, versão 9.4). As médias de todos os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey. O nível de significância para a diferença entre as médias e para as regressões foi determinada como sendo igual ou menor que 0,05.

RESULTADOS

Nas fases pré-inicial I e pré-inicial II (Tabela 4) não foram observadas diferenças entre os tratamentos para as variáveis analisadas. Já na fase Inicial I, o grupo CP (T1) apresentou resultados similares aos grupos deficientes de Ca e P e suplementados com a fitase para GPD, e diferiu do grupo CN (T2). Para CA houve efeito quadrático com melhor dose de inclusão de 1.114 FYT.

Na fase Inicial II somente PF diferiu entre os tratamentos, sendo T1 o melhor resultado, T2 o pior e os demais não diferindo entre os tratamentos. Um efeito linear e quadrático para as doses de fitase foi observado durante a fase Inicial II para CA, respectivamente, com melhor ponto para o nível de 1114 FYT/kg,

Tabela 3 - Médias de peso inicial (PI), ganho de peso diário (GPD), consumo diário de ração (CDR), conversão alimentar (CA), e peso final (PV) de suínos durante cada fase no período de avaliação de creche de acordo com o tratamento experimental.

Variáveis	Tratamentos					C.V. (%)	p-value	Valor P	
	T1	T2	T3	T4	T5			Linear	Quadrático
Pré-inicial I (21 – 28 dias)									
PI (Kg)	6,08	6,078	6,079	6,081	6,079	12,1	1,000	NS	NS
GPD (Kg)	0,17	0,145	0,161	0,128	0,137	34,8	0,441	NS	NS
CDR (Kg)	0,2	0,185	0,182	0,156	0,184	22,7	0,44	NS	NS
CA	1,379	1,304	1,175	1,196	1,387	26,2	0,281	NS	NS
PF (Kg)	7,273	7,093	7,205	6,979	7,035	12	0,956	NS	NS
Pré-inicial II (29 – 35 dias)									
GPD (Kg)	0,34	0,306	0,334	0,294	0,304	14,4	0,167	NS	NS
CDR (Kg)	0,445	0,439	0,445	0,4	0,408	14,2	0,277	NS	NS
CA	1,317	1,435	1,331	1,365	1,35	9,3	0,245	NS	NS
PF (Kg)	9,653	9,29	9,545	9,036	9,164	11,1	0,755	NS	NS
Inicial I (36 – 49 dias)									
GPD (Kg)	0,489a	0,365c	0,418bc	0,441ab	0,393bc	16,1	<0,001	NS	NS
CDR (Kg)	0,751	0,701	0,697	0,663	0,643	11,4	0,243	0,0367 ^b	NS
CA	1,553bcc	1,924a	1,671b	1,509	1,641b	10,3	<0,001	NS	0,000 ^c
PF (Kg)	16,592	14,407	15,393	15,208	14,660	10,9	0,059	NS	NS
Inicial II (50 - 63 dias)									
GPD (Kg)	0,698	0,602	0,652	0,664	0,646	11,6	0,051	NS	NS
CDR (Kg)	1,116	0,986b	1,027	1,041	1,030	9,3	0,083	NS	NS
CA	1,601	1,643	1,589	1,577	1,601	6,9	0,815	NS	0,0227 ^d
PF (Kg)	26,360a	22,838b	24,132ab	24,587ab	24,048ab	10,1	0,023	NS	NS
Creche (21 – 63 dias)									
GPD (Kg)	0,698a	0,602b	0,701a	0,693ab	0,680ab	11,2	0,019	NS	NS
CDR (Kg)	1,116a	0,986b	1,083ab	1,095ab	1,030ab	9,3	0,033	NS	NS
CA	1,601ab	1,643a	1,548ab	1,587ab	1,519b	6,3	0,048	NS	0,000 ^e

Fonte: O próprio autor.

T1=Controle Positivo. T2= Controle Negativo. T3= CN + 0,600 FYT/kg. T4= CN + 1,200 FYT/kg. T5= CN + 1,800. FYT/kg A. FYT = unidades de fitase por kg de ração. CV = coeficiente de variação. NS = não significativo

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

Valor de P=Resposta linear e quadrática para o aumento dos níveis de fitase na dieta.

^bY = 1.9344 - 0.0006X + 0.00000026736X²; Valor P = 0,0227; R² = 0,4678

^cY = 0.7075 - 0.000034729X²; Valor P = 0,0367; R²= 0,1099

^dY = 1.9344 - 0.0006X + 0.00000026736X²; Valor P = 0,000; R²= 0,0468

^eY = 1.6244 - 0.000055398X; Valor P = 0,000; R²= 0,1326

Considerando todo o período de creche (21 a 63 dias), para o GPD e CDR T1 apresentou o melhor resultado, com T3, T4 e T5 não diferiram entre os tratamentos, e T2 com o pior desempenho, ($P < 0,05$), já para a CA, T2 apresentou o pior resultado comparado aos demais grupos. Um efeito linear e quadrático para as doses de fitase foi observado para a CA considerando toda a fase de creche, com a melhor dose de 1320 FYT/kg.

Relativo ao período de crescimento e terminação, os resultados são apresentados na Tabela 4, na fase de crescimento I (64 a 91 dias) mesmo PI apresentado diferença, não houve interferência nos resultados, uma vez que essa variável foi considerada uma covariável no estudo estatístico. Observamos para GPD, CA e PF, T1, T3, T4 e T5 com resultados similares e superiores a T2 e para CRD, T1 com melhor resultado, T2 com pior e os demais tratamentos não diferindo entre si. Os efeitos quadráticos foram observados para o GPD, CDR, CA e PF, sendo as melhores doses de fitase, respectivamente, 1.219, 1.263, 1.280 e 1.116 FYT/g. Na fase de crescimento II para GPD, CDR e PF, T1, T3, T4 e T5 não diferiram entre si apresentando o melhor resultado e T2 o pior, já para CA, T5 teve melhor resultados, T2 o pior e os demais tratamentos não diferiram. Os efeitos quadráticos foram, na fase de crescimento II as melhores doses foram para o GPD e CA, respectivamente, 1.540 e 1.217 FYT /kg.

Na fase de terminação I (113 a 133 dias), o GPD, CDR e PF foram melhores para T1, T3, T4 e T5 que não diferiram entre si, mas foram distintos de T2 ($P < 0,05$), que mostrou um pior resultado. Para a CA, T2 novamente apresentou o pior valor comparado com T3 e T5, sendo que T1 e T4 não diferiram entre os demais tratamentos. Na fase terminação I, o GPD, DCDR, CA e PF apresentaram efeito quadrático, com os seguintes pontos: 1.412, 1.361, 1.608 e 1.385 FTY/kg, respectivamente.

Na fase de Terminação II para as variáveis GPD e PF apresentaram diferença significativa, onde o T1, T3, T4 e T5 foram melhores que T2 ($P < 0,01$). Na terminação II, para a mesma sequência de parâmetros, os pontos de melhor dose de fitase foram: 1.379, 1.193, 1.364 e 1.778.

Tabela 4 - Médias de peso inicial (PI), ganho de peso diário (GPD), consumo diário de ração (CDR), conversão alimentar (CA), e peso final (PF) de suínos durante cada fase no período de avaliação de crescimento e terminação de acordo com o tratamento experimental

Variáveis	Tratamentos					C.V. (%)	p-value	Valor P	
	T1	T2	T3	T4	T5			Linear	Quadrático
Crescimento I (64 – 91 dias)									
PI (Kg)	26,360a	22,838b	25,209ab	24,913ab	24,176ab	9,8	0,015	NS	NS
GPD (Kg)	1,001a	0,771b	0,966a	0,963a	0,946a	11,9	<0,001	NS	<0,001 ^b
CDR (Kg)	1,922a	1,590b	1,797ab	1,799ab	1,767ab	10,9	0,017	NS	0,413 ^c
CA	1,918b	2,060a	1,860b	1,869b	1,868b	5,4	<0,001	NS	<0,001 ^d
PF (Kg)	54,393a	44,434b	52,263a	51,870a	50,656a	10	<0,001	NS	0,0096 ^e
Crescimento II (92 – 112 dias)									
GPD (Kg)	1,060a	0,826b	1,018a	1,046a	1,063a	12,2	<0,001	<0,001 ^f	NS
CDR (Kg)	2,535a	2,060b	2,482a	2,427a	2,409a	11,3	<0,001	NS	0,097 ^g
CA	2,396ab	2,502a	2,448ab	2,318ab	2,266b	7	0,010	<0,001 ^h	NS
PF (Kg)	76,644a	61,780b	73,630a	73,837a	72,978a	9,8	<0,001	<0,001 ⁱ	NS
Terminação I (113 – 133 dias)									
GPD (Kg)	1,159a	0,880b	1,195a	1,149a	1,218a	14,4	<0,001	NS	<0,001 ^j
CDR (Kg)	3,135a	2,544b	3,111a	3,168a	3,136a	12,9	0,001	NS	<0,001 ^k
CA	2,707ab	2,899a	2,603b	2,760ab	2,575b	7,1	0,001	NS	0,0026 ^l
PF (Kg)	100,977a	80,261b	98,734a	97,959a	98,558a	10,1	<0,001	NS	<0,001 ^m
Terminação II (134 – 156 dias)									
GPD (Kg)	0,961a	0,685b	0,910a	0,983a	0,937a	17,5	0,003	NS	<0,001 ⁿ
CDR (Kg)	3,107	2,491	2,938	2,768	3,015	15,6	0,057	NS	0,0321 ^o
CA	3,237	3,698	3,241	3,132	3,222	11,1	0,066	NS	0,0051 ^p
PF (Kg)	122,127a	95,605b	118,808a	119,542a	119,204a	10,6	<0,001	NS	<0,001 ^q
Crescimento e Terminação (64 – 156 dias)									
GPD (Kg)	1,041a	0,788b	1,017a	1,029a	1,032a	12,1	<0,001	<0,001 ^r	NS
CDR (Kg)	2,623a	2,130b	2,527a	2,554a	2,524a	11	0,003	NS	0,0013 ^s
CA	2,519b	2,705a	2,483b	2,481b	2,443b	5,3	0,002	NS	<0,001 ^t

Fonte: O próprio autor.

T1=Controle Positivo. T2= Controle Negativo. T3= CN + 0,600 FYT/kg. T4= CN + 1,200 FYT/kg. T5= CN + 1,800. FYT/kg A. FYT = unidades de fitase por kg de ração. CV = coeficiente de variação. NS = não significativo

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

Valor de P=Resposta linear e quadrática para o aumento dos níveis de fitase na dieta.

^bY = 0.7805 + 0.0004X - 0.0000001472X²; Valor P = 0,0007; R²= 0,5055

^cY = 1.5982 + 0.0004X - 0.00000016607X²; Valor P = 0,0413; R²= 0,2237

^dY = 2.0488 - 0.0003X + 0.00000013821X²; Valor P = 0,0001 R²= 0,5822

^eY = 44.804 + 0.0143X - 0.0000062795X², Valor P = 0,0096 R²= 0,3797

^fY = 0.8335 + 0.0003X - 0.00000012125X²; Valor P = 0,0000; R²= 0,4182

^gY = 2.0858 + 0.0007X - 0.00000030541X²; Valor P = 0,0097; R²= 0,3357

^hY = 2.5094 - 0.0001X; Valor P = 0,0002; R²= 0,3085

ⁱY = 65.4715 + 0.0056X; Valor P = 0,0004; R²= 0,2933

^jY = 0.904 + 0.0005X - 0.00000017078X²; Valor P = 0,0000; R²= 0,5259

$kY = 2.5652 + 0.0011X - 0.00000041572X^2$; Valor P =0,0009; R²= 0,4055
 $lY = 2.8589 - 0.0003X + 0.000000077271X^2$; Valor P =0,0026; R²= 0,2350
 $mY = 81.2922 + 0.0314X - 0.000012412X^2$; Valor P =0,0000; R²= 0,5831
 $nY = 0.6865 + 0.0005X - 0.00000018825X^2$; Valor P =0,0003; R²= 0,4741
 $oY = 2.5431 + 0.0005X - 0.00000013829X^2$; Valor P =0,0321; R²= 0,1326
 $pY = 3.6906 - 0.0009X + 0.00000037947X^2$; Valor P =0,0051; R²= 0,3215
 $qY = 96.6745 + 0.0413X - 0.000016348X^2$; Valor P =0,0000; R²= 0,6292
 $rY = 0.8543 + 0.0001X$; Valor P=0,0000; R² = 0.4449
 $sY = 2.1453 + 0.0007X - 0.00000029618X^2$; Valor P=0,001; R² = 0,4051
 $tY = 2.1453 + 0.0007X - 0.00000029618X^2$; Valor P=0,0000; R² = 0.5196

Considerando todo período de crescimento e terminação (64 aos 156 dias), para GPD, CDR, CA, T2 teve o pior resultado comparado aos demais tratamentos. Efeitos quadráticos em todo o período de engorda foram observados para o CDR e o GPD, cm melhores doses estimadas em 1.231 e 1.276 FYT/kg, e com efeito linear para a CA.

Tabela 6 - Médias de peso inicial (PI), ganho de peso diário (GPD), consumo diário de ração (CDR), conversão alimentar (CA), e peso final (PV) de suínos durante todo período de avaliação de creche, crescimento e terminação de acordo com o tratamento experimental

Variáveis	Tratamentos					C.V. (%)	p-value	Valor P	
	T1	T2	T3	T4	T5			Linear	Quadrático
Todo período (21 – 156 dias)									
GPD (Kg)	0,867a	0,667b	0,832a	0,845a	0,854a	10,9	<0,001	NS	<0,001 ^b
CDR (Kg)	2,034a	1,674b	1,922a	1,945a	1,972a	10,1	<0,001	NS	<0,001 ^c
CA	2,346b	2,512a	2,308b	2,299b	2,309b	5,0	<0,001	<0,001 ^d	NS

Fonte: O próprio autor.

T1=Controle Positivo. T2= Controle Negativo. T3= NC + 0,600 FYT/kg. T4= CN + 1,200 FYT/kg. T5= CN + 1,800. FYT/kg A. FYT = unidades de fitase por kg de ração. CV = coeficiente de variação. NS = não significativo

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

Valor de P=Resposta linear e quadrática para o aumento dos níveis de fitase na dieta.

^bY = 0.6746 + 0.0003X – 0.00000012406X²; Valor P = 0,0000; R²= 0,4261

^cY = 1.686 + 0.0005X - 0.00000021552X²; Valor P =0,0001; R²= 0,2281

^dY = 2.4605 - 0.0001X; Valor P =;0,000; R²= 0,3907

Para as características de carcaça (Tabela 7), excetuando a espessura de toucinho (ET), que não diferiu entre os tratamentos, todos as demais variáveis diferiram entre si (P<0,05). O peso final (PF), peso de carcaça (PC), rendimento de

carcaça (RC), porcentagem de carne magra (PCM) e foram melhores para T1 (Controle positivo) e para tratamentos que receberam fitase ($p < 0,05$), quando comparados com T2. Já para a profundidade de lombo (PL), T1 novamente apresentou o melhor resultado ($P < 0,05$), não diferindo de T3 e T4, seguido posteriormente por T5, enquanto que o pior resultado ($P < 0,01$) foi para o T2.

Efeitos quadráticos ($P < 0,05$) para a dose de fitase foram observados para as características PF, PC, RC e PCM, com as melhores doses estimadas em 1377, 1324, 1446 e 1246.

Tabela 7 - Médias de peso final (PF), peso de carcaça (PC), rendimento de carcaça (RC), espessura de toucinho (ET), profundidade de lombo (PL), quilograma de carne magra (KCM) e porcentagem de carne magra (PCM) dos suínos submetidos diferentes níveis de fitase

Parâmetros	Tratamentos					C.V. (%)	p-value	Valor P	
	T1	T2	T3	T4	T5			Linear	Quadrático
PF (Kg)	122,020a	101,323b	118,907a	120,343a	119,202a	10,0	<0,001	NS	0,0040 ^b
PC (Kg)	87,031a	69,411b	84,007a	84,529a	84,010a	10,7	<0,001	NS	0,0006 ^c
RC (%)	71,377a	68,619b	70,662a	70,253a	70,465a	3,6	0,0300	NS	0,0285 ^d
ET (mm)	16,940	16,701	17,480	17,062	18,043	20,6	0,5580	NS	NS
PL (mm)	64,180a	57,585c	61,512ab	63,571ab	59,793b	10,9	0,0010	NS	NS
KCM AKEI (Kg)	56,061a	53,662b	55,407ab	56,026a	54,760ab	4,4	0,0040	NS	NS
PCM AKEI (%)	48,253a	37,969b	46,524a	47,286a	45,953a	9,9	<0,001	NS	0,0005 ^e

Fonte: O próprio autor.

T1=Controle Positivo. T2= Controle Negativo. T3= CN + 0,600 FYT/kg. T4= CN + 1,200 FYT/kg. T5= CN + 1,800. FYT/kg A. FYT = unidades de fitase por kg de ração. CV = coeficiente de variação. NS = não significativo

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

Valor de P=Resposta linear e quadrática para o aumento dos níveis de fitase na dieta.

^bY = 106.9641 + 0.0234X – 0.000009.3515X²; Valor P = 0,0040; R²= 0,0595

^cY = 72.5615 + 0.0216X – 0.0000086399X²; Valor P = 0,0006; R²= 0,0838

^dY = 67.9048 + 0.0047X -0.0000018944X²; Valor P =;0,0285; R²= 0,0348

^eY = 38.7895 + 0.0155X – 0.00000646X²; Valor P =;0,0005; R²= 0,0,0864

DISCUSSÃO

O fato de as diferenças entre os tratamentos darem início a partir da fase Inicial I da creche poderia ser explicado pelo fato de após o desmame precoce ocorrer uma baixa produção de ácido clorídrico (HCl) resultando num pH médio da digesta no estômago de 4 - 5, variando os valores entre 6 – 7 na parte superior e 2 – 3 na região

fúndica do estômago (Balduan *et al.*, 1988). E a respeito das fitases de quarta geração, em seu estudo, Thorsen *et al.* (2021) observaram que a fitase HM aumentou a estabilidade intrínseca da temperatura e do pH em comparação com a fitase da geração anterior, ambas alcançadas por engenharia de proteínas, logo seria melhor observado o efeito diferencial esperado pelas fitases de quarta geração nas fases mais tardias em que o suíno já teria uma alta produção de HCl e o pH estomacal seria ainda mais alto.

Os resultados em todas as fases avaliadas mostram que a fitase, independente da dose empregada, demonstrou resultados de desempenho equiparáveis ao tratamento sem fitase e com níveis dietéticos adequados de Ca e P (CP), sendo melhores que o tratamento CN.

Muitos fatores podem influenciar a atividade da fitase, como a faixa de pH ideal para sua ação, tipo de fitase e resistência à protease, espécies, idade dos animais, tempo de retenção, conteúdo de fitato, níveis de cálcio e composição da ração (Dersjant-Li *et al.*, 2015).

O pH ideal poderia ser um dos fatores relacionados com os resultados obtidos no presente trabalho, em que o efeito da superdose da fitase teve início efetivo, com dados superiores em relação ao CN, a partir da fase inicial I da creche, se estendendo até as fases finais de engorda, onde os animais do grupo CP e os demais grupos suplementados com fitase tiveram resultados superiores de desempenho quando comparados ao grupo CN e que se mantiveram até o abate desses animais.

A maneira mais eficaz de reduzir o efeito antinutricional do fitato é hidrolisar completamente o fitato o mais rápido possível na parte superior do trato digestório (Yu *et al.*, 2012). As atividades 'reais' de diferentes fitases comerciais variam consideravelmente, devido ao seu pH ótimo de ação que são distintos. A faixa de pH ideal fornecerá uma indicação da eficácia de uma fitase no estômago e na parte superior do intestino delgado (Dersjany-Li *et al.*, 2015). Isso explicaria o fato da superioridade dos resultados de desempenho dos animais terem iniciado a partir da fase inicial I da creche, uma vez que a baixa produção de ácido após o desmame precoce resulta num pH médio entre 4 e 5 na digesta no estômago, variando os valores entre 6 e 7 na parte superior e entre 2 e 3 na região fúndica do estômago (Balduan *et al.*, 1988).

Animais adultos, por sua vez, ajustam o pH gástrico através da secreção de ácido clorídrico pelas células parietais. Já, em leitões recém desmamados a condição

é um pouco diferente, pois eles apresentam pH gástrico elevado e mais variável em relação aos animais adultos (Gomes; Cony; Stella, 2019). Reconhecida que a maior estabilidade em pHs mais baixos é uma das características inovadoras das fitases de nova geração, seus benefícios mostram ser mais consistentes nos locais de ação com mais alto desafio, como é o caso do estômago de animais em crescimento, cuja acidez do meio aumenta gradualmente com a idade.

Com relação à superdosagem da fitase, em nosso estudo, as duas maiores doses da enzima (1200 e 1800 FYT/kg) avaliada se insere neste conceito, observamos que em todas as fases, quer na creche como no crescimento ou na terminação, os valores médios entre 1200 até 1700 FYT /kg representaram as melhores doses para vários parâmetros de desempenho (Tabelas 4, 5 e 6).

Neste sentido, nossos resultados mostram-se contrários aos observados por Gonçalves, Dritz e Tokach (2016), que realizaram uma revisão referente aos efeitos da superdosagem de fitase no desempenho de suínos em fases de creche e de crescimento e terminação e concluíram que os resultados foram mais impactantes em leitões em fase de creche, sendo menos pronunciados sobre suínos em fases de crescimento e terminação.

É provável que as enzimas avaliadas nesta revisão (Gonçalves; Dritz; Tokach, 2016) não contemplavam fitases com a mesma virtude da que avaliamos, até porque os valores dos melhores efeitos da fitase na condição de superdose em vários estudos com enzimas disponíveis até então comercialmente encontraram-se acima dos observados em nosso trabalho, com valores ótimos em geral entre 2000 e 3000, associado ainda a reduções dietéticas menores de Ca e P que praticadas em nosso estudo FTU/kg (Moran *et al.*, 2017; Moran *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2022; Tsai *et al.*, 2020).

Holloway *et al.* (2019), trabalhando dietas CP e CN com doses crescentes de fitase (2500 FTU na creche e 1.000, 1750 e 2500 FTU na fase final), além de redução de gordura em creche e redução de lisina em crescimento e terminação, concluíram que o fornecimento de fitase na condição de superdose melhorou o desempenho em leitões na fase de creche e beneficiou os suínos em crescimento e terminação. Deve-se reconhecer, entretanto, que os melhores resultados foram obtidos com as doses mais altas da enzima, diferindo dos nossos achados, que remete novamente às características da enzima testada.

As virtudes da superdosagem de seus efeitos exclusivamente sobre a melhora

da digestibilidade de P e Ca dietético, devendo ser considerados adicionalmente os efeitos “extra-fosfóricos”, que disponibilizam outros minerais, além de aminoácidos, proteína e energia (; Haefner *et al.*, 2005; Guggenbuhl; Simões Nunes, 2007; Selle; Ravindran, 2008; Sanchez-Romero *et al.*, 2013; Cowieson *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2022), razões que podem suportar os desempenhos equivalentes aos obtidos com o tratamento CP, com apontamentos de melhores doses de fitase para valores entre 1200 e 1700 FYT/kg

Relativa à digestibilidade do Ca e do P, Almeida, Sulabo e Stein (2013), trabalhando com suínos em fase de crescimento e terminação, submetidos a seis tratamentos (CP, CN, dietas com inclusão de 500, 1.000, 2.000 e 4.000 FYT/kg de fitase), relataram uma melhora linear ($P < 0,05$) na digestibilidade desses minerais à medida que a dose de fitase incrementou. Adedokun *et al.* (2015), estudando a eficácia *Buttiauxela* 6-fitase expressa em *Trichoderma reesei* (adicionada a 0; 500; 1.000; ou 2.000 unidades de fitase/kg), verificaram que, além de aumentar a utilização de P e Ca, houve uma melhora da digestibilidade ileal do N e de vários aminoácidos em suínos em fase de creche e de crescimento, seguindo assim uma relação dose-dependente para a enzima. Mesmo estudos mais antigos (Braña *et al.*, 2006), comparando duas fitases em doses crescentes, Phyzyme (250, 500, 750 ou 1.000 FTU/kg) e Natuphos (250 e 500 FTU/kg para os estudos de creche e 500 e 1.000 FTU/kg para crescimento e terminação), mais uma dose muito alta de Phyzyme (nível de tolerância, em 10.000 FTU/kg), apontaram que os melhores resultados de desempenho e digestibilidade são doses dependentes, preservadas as diferenças entre as enzimas desses estudos e a fitase avaliada em nosso estudo, que consiste na numa fitase de quarta geração

Os maiores diferenciais desta fitase de quarta geração são a temperatura intrínseca aumentada e a estabilidade ao pH (Zhang *et al.*, 2022). Por se tratar de um produto inovador, praticamente não foram realizados estudos com suínos, no entanto, em frangos, Zhang *et al.* (2022), ao avaliarem simultaneamente duas fitases sobre o desempenho, a mineralização óssea, a digestibilidade dos nutrientes dietéticos e a hidrólise de fitato-P, adotando um tratamento controle positivo (CP), um controle negativo deficiente em Ca e P (CN), e tratamentos que contemplavam CN mais a nova fitase (Fitase quarta geração) sob as seguintes doses a 187,5, 375, 750, 1.500 ou 2.000 FYT/kg ou a dieta CN mais a fitase comercialmente disponível (Fitase terceira geração) a 500, 1.000 ou 2.000 FYT/kg, verificaram que a fitase de quarta geração (a

mesma utilizada em nosso estudo) determinou maior hidrólise do fitato e melhor digestibilidade do P comparada com a sua predecessora.

Corroborando com os resultados do presente trabalho, Thorsen *et al.* (2021) estudaram o perfil de segurança e eficácia de uma fitase produzida por fermentação e usada como aditivo alimentar na dieta de leitões, e observaram que o desempenho destes foi deprimido pela deficiência de P na ração, como demonstrado pela redução significativa no GPD e CDR dos leitões CN em comparação com CP durante todo estudo, sendo este desempenho gradualmente corrigida pela adição crescente desta fitase de quarta geração.

Uma virtude de nosso estudo está na razão do déficit de Ca e P praticados nas dietas que receberam fitase (-0,16 e -0,18%, respectivamente) serem em geral maiores que os utilizados na maioria dos estudos com superdose de fitases de geração anteriores (Almeida; Sulabo; Stein, 2013; Gonçalves; Dritz; Tokach, 2016; Silva *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2022), o que valoriza os resultados obtidos.

Para as características de carcaça (Tabela 7), nossos resultados estão identificados com obtidos Silva *et al.* (2019) e Silva *et al.* (2022), que verificaram que dietas com fitase não aumentaram a deposição de gordura, sugerindo que a energia “adicional” fornecida pela fitase não foi suficiente para promover a deposição de gordura, mesmo gerando melhores CDR e GPD. No entanto, o peso final de abate (PF) e o peso da carcaça (PC) mostram-se com mesmo comportamento observado por Silva *et al.* (2022), que, todavia, trabalharam com doses mais elevadas de uma fitase de terceira geração (entre 1500 e 4500 FYT/kg). Adicionalmente para esses dois parâmetros fica caracterizada a condição de efetividade da nova fitase frente a de terceira geração, onde para o PF e para o PC, os níveis ótimos da fitase de quarta geração foram de 1377 e 1324 FYT, respectivamente, e para a de terceira geração, na mesma sequência, para os mesmos parâmetros, 2146 e 2101 FYT/kg (Silva *et al.*, 2022).

Todos as demais variáveis de carcaça (rendimento, profundidade do músculo lombar, e porcentagem e quilograma de carne magra) posicionam os grupos suplementados com fitase como iguais ao tratamento T1, superiores a T2 (Tabela 7). Todavia, para os parâmetros mais impactantes economicamente, peso da carcaça e porcentagem de carne magra na carcaça (PCM) todas as doses de fitase empregadas responderam de maneira semelhante ao grupo CP. Destaca-se ainda que o melhor nível de fitase para PCM foi de 1.246 FYT/kg.

Esta condição supera os resultados de trabalhos conduzidos com a fitase de terceira geração, que tampouco determinaram diferenças nas características de carcaça entre os grupos tratados com fitase e o grupo CN (Silva *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2022), sugerindo uma maior potencialidade da enzima testada neste trabalho, somada ao fato que os níveis de deficiência de CA e P mais uma vez eram maiores que nos estudos citados.

Esses resultados diferem dos encontrados por Dersjant-Li *et al.* (2017), que utilizaram dietas suplementadas com fitase de *Buttiauxela sp*, expressa por *Trichoderma reesei*, nas dosagens 250, 500 e 1.000 FYT/kg de ração, e observaram que a fitase não teve impacto significativo nas características da carcaça; e dos obtidos por Fandrejewski *et al.* (1999), que usaram 1.000 FYT/kg de ração da enzima expressa em *Aspergillus niger* e não obtiveram nenhuma diferença nos resultados de abate dos animais. Todavia, os limites utilizados pelos autores diferem dos valores de fitase empregado em nosso estudo, já que se trata de um produto diferenciado, o que suporta a informação que a concentração da enzima é determinante no valor ou expressão do resultado, a relação dose-dependente que é atribuída (Dersjant-Li *et al.*, 2015).

CONCLUSÃO

A fitase de quarta geração, independente da dose empregada, mostra-se efetiva em dietas de suínos em fase de creche e de crescimento e terminação deficientes em CA e P, determinando resultados de desempenho e de carcaça equivalentes a dieta com adequado suprimento desses minerais. Os melhores resultados, considerando as suplementações enzimáticas aplicadas, indicam que as doses mais efetivas para os parâmetros de desempenho e de carcaça encontram-se entre 1.200 e 1.700 FYT/kg de ração.

REFERÊNCIAS

- ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, n. 10, p. 3189–3218, Oct. 2011. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3715>.
- ADEDOKUN, S. A.; OWUSU-ASIEDU, A.; RAGLAND, D.; PLUMSTEAD, P.; ADEOLA, O. The efficacy of a new 6-phytase obtained from *Buttiauxella* spp. expressed in *Trichoderma reesei* on digestibility of amino acids, energy, and nutrients in pigs fed a diet based on corn, soybean meal, wheat middlings, and corn distillers' dried grains with solubles. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 93, n. 1, p. 168-175, jan. 2015. DOI 10.2527/jas.2014-7912
- ALMEIDA, F. N.; SULABO, R. C.; STEIN, H. H. Effects of a novel bacterial phytase expressed in *Aspergillus oryzae* on digestibility of calcium and phosphorus in diets fed to weanling or growing pigs. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, London, v. 4, n. 1, p. 1-10, 2013.
- BERG, E. (ed.). **Composition and quality assessment procedures**. Des Moines: National Pork Producers Council, c2000. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://porkgateway.org/wp-content/uploads/2015/07/pork-composition-and-quality-assessment-procedures.pdf>. Acesso em: 28 set. 2022.
- BRAÑA, D. V.; ELLIS, M.; CASTAÑEDA, E. O.; SANDS, J. S.; BAKER, D. H. Effect of a novel phytase on growth performance, bone ash, and mineral digestibility in nursery and grower-finisher pigs, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 7, p.1839-1849, July 2006. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2005-565>
- BOLDUAN, G.; JUNG, H.; SCHABEL, E.; SCHNOIDER. Recent advances in the nutrition of weaner piglets. **Pig News and Information**, Farnham Royal, v. 9, n. 4, p. 3891-385, 1988.

COWIESON, A.; ROOS, F.; RUCKEBUSCH, J.; WILSON, J.; GUGGENBUHL, P.; LU, H.; ADEOLA, O. Time-series responses of swine plasma metabolites to ingestion of diets containing myo-inositol or phytase. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 118, n. 11, p. 897-905, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114517003026>

DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, London, v. 95, n. 5, p. 878-896, Mar. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6998>

DERSJANT-LI, Y.; WEALLEANS, A. L.; BARNARD, L. P.; BARNARD, S. LANE. Effect of increasing Buttiauxella phytase dose on nutrient digestibility and performance in weaned piglets fed corn or wheat-based diets, **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 234, p. 101-109, Dec. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.09.008>

FANDREJEWSKI, H.; WEREMKO, D.; RAJ, S.; SKIBA, G.; HAN, I. K. Performance, body and carcass composition and bone characteristics of pigs fed rapeseed and soybean meal-cereal diets supplemented with microbial phytase. **Journal of Animal and Feed Sciences**, Jabłonna, v. 8, p. 533–547, 1999.

GOMES, B. K.; CONY, B. S. de L.; STELLA, L. Enzimas exógenas na alimentação de suínos Aditivos, carboidratos, fatores antinutricionais, fitase, proteases. **Nutri-Time Revista Eletrônica**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 8477-8487, maio/jun. 2019

GONÇALVES, M. A. D.; DRITZ, S. S.; TOKACH, M. D. Fact sheets – comparing phytase sources for pigs and effects of superdosing phytase on growth performance of nursery and finishing pigs. **Journal of Swine Health and Production**, Perry, v. 24, n. 2, p. 97–101, 2016.

GUGGENBUHL, P.; SIMÕES NUNES, C. Effects of two phytases on the ileal apparent digestibility of minerals and amino acids in ileo-rectal anastomosed pigs fed on a maize–rapeseed meal diet. **Livestock Science**, Amsterdam, v.109, n. 1/3), p. 261–263, May 2007. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.110>

HAEFNER, S.; KNIETSCH, A.; SCHOLTEN, E.; BRAUN, J.; LOHSCHIEDT, M.; ZELDER, O. Biotechnological production and applications of phytases. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 68, n. 5, p. 588–597, 2005. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00253-005-0005-y>.

HOLLOWAY, C. L.; BOYD, R. D.; GOULD, S. A.; LI, Q.; PATIENCE, J. F. The impact of “super-dosing” phytase in pig diets on growth performance during the nursery and grow-out periods. **Translational Animal Science**, Oxford, v. 3, n. 1, p. 419–428, Jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/tas/txy148>

JONGBLOED, A. W.; VAN DIEPEN, J. T. M.; KEMME, P. A.; BROZ, J. Efficacy of microbial phytase on mineral digestibility in diets for gestating and lactating sows. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 91, n. 1-2, p.143–155, 2004. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.07.017>

MENEZES-BLACKBURN, D.; GABLER, S.; GREINER, R. Performance of Seven Commercial Phytases in an in Vitro Simulation of Poultry Digestive Tract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 63, p. 6142-6149, July, 2015. DOI: <http://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01996>

MORAN, K.; BOYD, R. D.; ZIER-RUSH, C.; WILCOCK, P.; BAJJALIEH, N.; VAN HEUGTEN, E. Effects of high inclusion of soybean meal and a phytase superdose on growth performance of weaned pigs housed under the rigors of commercial conditions, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 95, n. 12, p. 5455–5465 Dec. 2017. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas2017.1789>

MORAN, P.; WILCOCK, P.; ELSBERND, A.; ZIER-RUSH, C.; BOYD, R. D.; VAN HEUGTEN, E. Effects of super-dosing phytase and inositol on growth performance and blood metabolites of weaned pigs housed under commercial conditions, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 97, n. 7, p. 3007–3015, July 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skz156>

ROSTAGNO, H. S. (ed.). **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2017. 488p.

SANCHEZ-ROMERO, I.; ARIZA, A.; WILSON, K. S.; SKJØT, M.; VIND, J.; DE MARIA, L.; SKOV, L. K.; SANCHEZ-RUIZ, J. M. Mechanism of protein kinetic stabilization by engineered disulfide crosslinks. **PloS One**, San Francisco, v. 8, n. 7, July 2013. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0070013>. Acesso em: 30 set. 2022.

SELLE, P. H., COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 124, n. 1-3, p.126–141, Sept. 2009. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.01.006>

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 113, n. 2-3, p. 99–122, Feb. 2008. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.05.014>

SILVA, C. A. da; CALLEGARI, M. A.; DIAS, C. P.; BRIDI, A. M.; PIEROZAN, C. R.; FOPPA, L.; MARTINS, C. C. S.; DIAS, F. T. F.; PASSOS, A.; HERMES, R. Increasing doses of phytase from *Citrobacter braakii* in diets with reduced inorganic phosphorus and calcium improve growth performance and lean meat of growing and finishing pigs. **PLoS One**, San Francisco, v. 14, n. 5, May 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217490>

SILVA, C. A.; CALLEGARI, M. A.; DIAS, C. P. ; SOUZA, K. L. de; CARVALHO, R. H. de; ALEBRANTE, L.; MARTINS, C. C. da S.; HECK, A.; FASCINA, V. B. Increasing doses of bacterial phytase (*Citrobacter braakii*) improves performance and carcass characteristics of pigs in growing and finishing phases. **Animals**, Basel, v. 12, n. 19, p. 1-11, 2022.

THORSEN, M.; NIELSEN, L. A.; ZHAI, H. X.; ZHANG, Q.; WULF-ANDERSEN, L.;

SKOV, L. K. Safety and efficacy profile of a phytase produced by fermentation and used as a feed additive. **Heliyon**, London, v. 7, n. 6, p. 1-12, June 2021. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021>

TSAI, T. C.; DOVE, R.; BEDFORD, M. R.; AZAIN, M. J. Effect of phytase on phosphorous balance in 20-kg barrows fed low or adequate phosphorous diets. **Animal Nutrition**, [s. n.], v. 6, n. 1, p. 9-15, Mar. 2020.

YU, S.; COWIESON, A.; GILBERT, C.; PLUMSTEAD, P.; DALSGAARD, S. Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP1-5) including IP5 isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, n. 6, p. 1824-1832, June 2012.

ZHANG, Q.; WALK, C.; SORBARA, J. O. B.; COWIESON, A. J.; STAMATOPOULOS, K. Comparative effects of two phytases on growth performance, bone mineralization, nutrient digestibility and phytate-P_h hydrolysis of broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 31, n. 2, p. 1-14, June 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.japr.2022.100247>