

**Fósforo digestível de ingredientes para aves: metodologias e atualidades**  
**Digestible phosphorus of ingredients for poultry: methodologies and news**  
**Fósforo digestible de ingredientes para aves: metodologías y noticias**

Recebido: 15/05/2020 | Revisado: 15/05/2020 | Aceito: 04/06/2020 | Publicado: 16/06/2020

**Felipe Dilelis**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9681-4775>

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil

E-mail: [fdilelis@ufrj.br](mailto:fdilelis@ufrj.br)

**Christiane Silva Souza**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7829-0771>

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil

E-mail: [christianessouza@gmail.com](mailto:christianessouza@gmail.com)

**Túlio Leite Reis**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2141-8740>

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil

E-mail: [tulioreis@hotmail.com](mailto:tulioreis@hotmail.com)

**Flávio Medeiros Vieites**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0037-2125>

Universidade Federal de Juiz de Fora, Brasil

E-mail: [fmvieites@yahoo.com.br](mailto:fmvieites@yahoo.com.br)

**Cristina Amorim Ribeiro de Lima**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2018-5965>

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil

E-mail: [criblima@terra.com.br](mailto:criblima@terra.com.br)

**Resumo**

O fósforo é o segundo mineral mais abundante nas aves, e o excesso ou a deficiência pode elevar à susceptibilidade a doenças do desenvolvimento ósseo. Na atualidade, nutricionistas têm buscado maneiras de atender precisamente as exigências dos animais, bem como de conhecer a disponibilidade nos ingredientes usados nas rações, objetivando o uso eficiente deste mineral. A digestibilidade pré-cecal foi proposta como a medida mais próxima do que seria o fósforo disponível para as aves. A metodologia utilizada foi a de revisão narrativa,

com consulta a documentos publicados em diferentes bases de dados visando descrever e discutir as metodologias aplicadas para a determinação da digestibilidade pré-cecal de fósforo em ingredientes para aves. Os métodos comumente utilizados na determinação são o método direto, o método de regressão e o método de substituição. Cada método possui suas vantagens, desvantagens e limitações. No método direto e no método de substituição faz-se necessária a formulação de uma dieta isenta de fósforo para a determinação das perdas endógenas e posterior correção do valor aparente para o valor verdadeiro. No método de regressão a perda endógena é determinada pelo intercepto da equação linear gerada, sendo mais oneroso e laborioso, devido à necessidade de formulação de várias dietas para um único ingrediente. O conhecimento acerca dos valores de digestibilidade de fósforo em diferentes ingredientes tem grande importância na formulação de dietas avícolas, uma vez que permite estimar de forma mais precisa quanto do fósforo a ser utilizado tem potencial de ser absorvido pelo animal.

**Palavras-chave:** Digestibilidade; Método direto; Método de regressão; Método de substituição.

### **Abstract**

Phosphorus is the second most abundant mineral in the animal organism, and excess or deficiency can increase susceptibility to diseases of bone development. Currently, nutritionists have been looking for ways to precisely meet the phosphorus requirements of animals, as well as to know the availability of phosphorus from the ingredients used in feed, aiming at the efficient use of this mineral. Pre-cecal digestibility of phosphorus has been proposed as the closest measure to what would be available phosphorus for poultry. The methodology used was that of narrative review, with consultation of documents published in different databases in order to describe and discuss the methodologies applied to determine the pre-cecal digestibility of phosphorus in ingredients for birds. The commonly used methods are the direct method, the regression method and the substitution method. Each method has its advantages, disadvantages and limitations. In the direct method and in the substitution method, it is necessary to formulate a phosphorus-free diet for the determination of endogenous losses and subsequent correction of the apparent value to the true value. In the regression method, endogenous loss is determined by the intercept of the generated linear equation, being more costly and laborious, due to the need to formulate several diets for a single ingredient. The knowledge about the digestibility values of phosphorus in different ingredients is very important in the formulation of poultry diets, since it allows to estimate more precisely how much of the phosphorus to be used has the potential to be absorbed by the animal.

**Keywords:** Digestibility; Direct method; Regression method; Substitution method.

## Resumen

El fósforo es el segundo mineral más abundante en el organismo animal, y el exceso o la deficiencia pueden aumentar la susceptibilidad a las enfermedades del desarrollo óseo. Actualmente, los nutricionistas han estado buscando formas de cumplir con precisión los requisitos de fósforo de los animales, así como conocer la disponibilidad de fósforo de los ingredientes utilizados en los piensos, con el objetivo de un uso eficiente de este mineral. La digestibilidad prececal del fósforo se ha propuesto como la medida más cercana a la que estaría disponible para las aves. La metodología utilizada fue la revisión narrativa, con consulta de documentos publicados en diferentes bases de datos y describe cómo analizar los métodos utilizados para determinar la digestibilidad prececal del fósforo en los ingredientes para las aves. Los métodos comúnmente utilizados son el método directo, el método de regresión y el método de sustitución. Cada método tiene sus ventajas, desventajas y limitaciones. En el método directo y en el método de sustitución, es necesario formular una dieta libre de fósforo para la determinación de pérdidas endógenas y la subsiguiente corrección del valor aparente al valor verdadero. En el método de regresión, la pérdida endógena se determina por la intercepción de la ecuación lineal generada, que es más costosa y laboriosa, debido a la necesidad de formular varias dietas para un solo ingrediente. El conocimiento sobre los valores de digestibilidad del fósforo en diferentes ingredientes es de gran importancia en la formulación de las dietas de aves de corral, ya que permite estimar con mayor precisión la cantidad de fósforo a utilizar que tiene el potencial de ser absorbido por el animal.

**Palabras clave:** Digestibilidad; Método directo; Método de reemplazo; Método de regresión.

## 1. Introdução

O fósforo é o segundo mineral mais abundante no organismo das aves, sendo um macromineral essencial que deve ser oferecido na alimentação. O osso refere-se ao principal órgão de armazenamento, contendo aproximadamente 85% do fósforo total do organismo (Angel, 2007). Devido ao metabolismo estar diretamente relacionado aos níveis séricos desse mineral e aos níveis séricos de cálcio, tanto o excesso quanto a deficiência de fósforo podem elevar à susceptibilidade das aves a doenças do desenvolvimento ósseo, tais como o raquitismo e a discondroplasia tibial (Dinev, 2012; Fernandes, 2012). Portanto, nutrir adequadamente em fósforo faz-se de valia para a máxima expressão do potencial produtivo dos animais.

Na nutrição avícola um dos grandes desafios consiste em conhecer quanto do fósforo dos ingredientes, e conseqüentemente da dieta, está realmente disponível para a utilização

pelos animais. Nos ingredientes de origem vegetal, tais como os cereais usados nas rações, a maior parte do mineral presente está complexada com o mio-inositol, formando a molécula de fitato, sendo chamado de fósforo fítico. Em dietas comerciais a capacidade de quebra da molécula de fitato para absorção do fosfato pelas aves é baixa (Li et al., 2016a), portanto, a sua contribuição é desconsiderada no fornecimento deste macromineral. A recomendação de formulação das dietas tem sido feita, em grande parte do mundo, em fósforo não-fítico – Pnf (National Research Council [NRC], 1994).

Diante desse contexto, a demanda para fosfatos inorgânicos foi aumentada para suprir as necessidades dietéticas de Pnf das aves (Van der Klis & Versteegh, 1999). Porém, a maioria dos fosfatos deriva-se de rochas, que constituem um recurso não renovável, cada vez mais escasso e caro. Estima-se que as reservas de fósforo global podem estar esgotadas em 50 à 100 anos (Neset & Cordell, 2012), e que a produção comercial de aves seja responsável por aproximadamente 50% do consumo mundial de fosfatos utilizados na nutrição animal (Devereux et al., 1994). Além disso, políticas de proteção ambiental têm levado à limitação do despejo de fósforo no meio ambiente, devido ao acúmulo deste mineral levar à aceleração da eutrofização de águas (Sharpley et al., 1994).

Na atualidade, os nutricionistas têm buscado maneiras de atender mais precisamente as exigências de fósforo dos animais, bem como de conhecer a disponibilidade do fósforo dos ingredientes usados nas rações, objetivando o uso eficiente deste mineral. Diversos pesquisadores estudaram formas de avaliar qual seria a maneira mais eficaz de determinar a disponibilidade do fósforo para aves. O grupo de trabalho em nutrição da World Poultry Science Association (WPSA, 2013) indicou a “digestibilidade pré-cecal” como a metodologia para determinar a disponibilidade de fósforo. Uma situação similar existe com a disponibilidade de aminoácidos, onde a digestibilidade pré-cecal é usada para estimar a disponibilidade.

Nesta revisão foram abordados os temas acerca das metodologias aplicadas para a determinação da digestibilidade pré-cecal do fósforo de ingredientes comumente utilizados na formulação de dietas avícolas.

## **2. Metodologia**

Foi realizada uma revisão narrativa (Vosgerau & Romanowski, 2014), através da pesquisa bibliográfica em diferentes bases indexadoras de documentos, artigos e livros, sobre os assuntos relacionados à determinação de fósforo digestível de ingredientes para aves.

Foram utilizadas as palavras-chave “fósforo”, “frango” e “digestibilidade” e as bases indexadoras foram: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Scopus, Scielo, Google Scholar e Web of Science. Não foi definido um recorte temporal, pois buscou-se mostrar a evolução acerca do desenvolvimento da nutrição fosfórica de aves.

Na descrição narrativa são analisadas as produções bibliográficas em determinada área fornecendo o estado da arte sobre um tópico específico, evidenciando novas ideias, métodos ou subtemas que têm recebido maior ou menor ênfase na literatura selecionada (Vosgerau & Romanowski, 2014).

### **3. Resultados e Discussão**

#### **3.1 Digestibilidade pré-cecal como estimativa da disponibilidade de fósforo**

O termo fósforo disponível tem sido utilizado por vários grupos de pesquisa e nutricionistas no mundo, sem uma padronização do que este termo significa. As tabelas de composição de ingredientes, utilizam diferentes conceitos para o termo “fósforo disponível” (National Research Council, 1994; Centraal Veevoederbureau, 1997; Institut National de la Recherché Agronomique, 2004; Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, 2010; Centraal Veevoederbureau, 2016; Rostagno et al., 2017).

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

O termo fósforo não-fítico tem sido utilizado como sinônimo para fósforo disponível por equipes de pesquisa de diversos países, inclusive pelo Brasil (Rostagno et al., 2005; 2011; 2017), sendo obtido através da seguinte equação: Fósforo disponível (%) = fósforo total (%) – fósforo fítico (%). O uso deste conceito permite a fácil obtenção de valores quantitativos, porém leva em consideração que todo o fósforo não fítico vai ser utilizado e nem é capaz de

ser aproveitado pelas aves, pressuposições que não condizem com a utilização do fósforo de ingredientes por aves (Tamim et al., 2004).

Tabelas de composição de ingredientes, como Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (2010) e Institut National de la Recherché Agronomique (2004) utilizam o termo fósforo disponível baseados na biodisponibilidade de fósforo dos ingredientes. Neste conceito, a disponibilidade corresponde à percentagem de fósforo utilizada pelo animal em comparação a uma fonte de fósforo considerada como padrão, que equivale a 100%, geralmente o fosfato monocálcico (Institut National de la Recherché Agronomique, 2004). Um dos critérios biológicos usados para estimar a biodisponibilidade refere-se à mineralização óssea, justamente devido à maior parte do fósforo ser encontrada no esqueleto.

Os parâmetros de indicação da qualidade óssea das aves, como porcentagem de cinzas (Akpe et al., 1987; Coon et al., 2007), resistência à quebra (Coon et al., 2007; Shastak et al., 2012) e densitometria (Onyango et al., 2003; Hester et al., 2004), foram utilizados como variáveis respostas em ensaios de biodisponibilidade de fósforo. Entretanto, outras características também podem ser consideradas, tais como fósforo sérico (Hemme et al., 2005; Shastak et al., 2012), e dados de crescimento ou conversão alimentar (Potter et al., 1995; Jongbloed et al., 2002).

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

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

No Centraal Veevoederbureau (CVB) de 1997, foi publicada e empregada a avaliação de fósforo digestível de ingredientes para formulação de dietas avícolas, utilizadas até os dias atuais (Centraal Veevoederbureau, 2016). A digestibilidade de fósforo dos alimentos para aves baseou-se na mensuração do coeficiente de absorção em ensaios de coleta total em frangos, sob as seguintes condições: período de coleta entre os dias 21 e 24 dias de idade, uma dieta semi-sintética com um teor de fósforo digestível estimado de 1,8 g/kg e um teor de cálcio (Ca) de 5,0 g/kg.

O uso de valores baixos de fósforo digestível foi proposto para que a excreção de fósforo através da urina fosse insignificante, considerando que todo o fósforo excretado seja oriundo da parte da alimentação que não foi absorvido. Assume-se então que parte do fósforo fítico é capaz de ser hidrolisado e absorvido pelas aves, porém que esta hidrólise e absorção em condições experimentais não são iguais às observadas em dietas comerciais, com valores mais elevados de fósforo e cálcio. Portanto, os valores de digestibilidade de ingredientes de origem vegetal são corrigidos através da relação com valores da digestibilidade ileal de dietas comerciais, não sendo aplicadas correções em fontes de origem animal e inorgânicas (Centraal Veevoederbureau, 2016).

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

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

- **Fósforo Fítico (Pf):** todo o conteúdo de fósforo na forma de ácido fítico (mio-inositol-1,2,3,4,5,6-hexaquis dihidrogênio fosfato,  $\text{Insp}_6$ ) e seus sais.

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

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

- **Fósforo digestível (Pd<sub>ig</sub>):** é a parte do Pt do alimento que não é recuperado nas fezes. A determinação do Pd<sub>ig</sub> necessita de estudos com animais com a determinação quantitativa

do P ingerido e da excreção de P nas fezes. Também pode ser determinado usando um indicador indigestível. Por definição, a determinação do P<sub>dig</sub> necessita de aves colostomizadas para a exclusão da urina. Todavia, o conteúdo de P na urina é desprezível quando o consumo de P é inferior à exigência das aves. Se o P<sub>dig</sub> for determinado com um nível de P abaixo da exigência, o valor de P<sub>dig</sub> vai ser muito próximo ao valor de P<sub>r</sub>.

- **Fósforo digestível pré-cecal (P<sub>dpc</sub>):** é a parte do P<sub>t</sub> do alimento que não é recuperado no conteúdo terminal do íleo. É determinado através de metodologia de coleta ileal com o uso de indicadores indigestíveis nas dietas.

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

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

O P retido reflete tanto a digestibilidade quanto a utilização pós-absortiva, uma vez que excrementos de aves incluem fezes e urina. Portanto, a oferta dietética de P é relativa à exigência e ao estado metabólico do animal podendo afetar a utilização do P<sub>t</sub> dos ingredientes. Adeola e Applegate (2010) citaram diversos trabalhos que avaliaram o valor de P<sub>r</sub> e P<sub>dpc</sub>, sendo observadas diferenças entre esses coeficientes de digestibilidade do P, e em alguns estudos, o coeficiente de P<sub>r</sub> maior que o de P<sub>dpc</sub>, e em outros os coeficientes de P<sub>r</sub> menores que os de P<sub>dpc</sub>. A padronização do valor de disponibilidade fosfórica como P<sub>dpc</sub> também visa diminuir a utilização mútua de outros tipos de medição do valor fosfórico de ingredientes, portanto é desencorajada a utilização e determinação de valores de P<sub>r</sub> (WPSA, 2013). Além disso, os valores de P<sub>r</sub> podem ser modificados pela atividade microbiana pós ileal, enquanto o P<sub>dpc</sub> tem menor influência desta microbiota (Shastak & Rodehutschord, 2013).

### 3.2 Metodologias utilizadas para determinação do fósforo digestível pré-cecal

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

Para a determinação da digestibilidade pré-cecal faz-se necessário o uso de indicadores indigestíveis. Dentre os principais indicadores utilizados nesta modalidade de pesquisa, têm-se o óxido crômico, o dióxido de titânio e a cinza ácida insolúvel. Estes indicadores têm como característica não alterar a digestibilidade dos nutrientes e ser recuperado em altas taxas nas excretas, bem próxima à concentração incluída na dieta (Sales & Janessens, 2003; Olukosi et al., 2012).

As aves devem ser criadas, até uma determinada idade, recebendo ração para atender às exigências nutricionais preconizadas pelo manual da linhagem. Após um período de adaptação às dietas experimentais, procede-se o abate das aves para a coleta do conteúdo ileal. Ressalta-se que as rações e o conteúdo da digesta pré-cecal devem ser analisados para fósforo e para o indicador escolhido (Dilger & Adeola, 2006).

A relação entre a concentração do indicador, tanto na dieta quanto na digesta, são utilizadas para calcular o fator de indigestibilidade, de acordo com a seguinte equação (Sakomura & Rostagno, 2016):

$$FI = [Ti_i/Ti_f]$$

Onde, FI é o fator de indigestibilidade pré-cecal aparente,  $Ti_i$  é a concentração de indicador na dieta,  $Ti_f$  é a concentração de indicador na digesta pré-cecal.

De posse do fator de indigestibilidade do indicador, é possível correlacionar estes valores com a concentração de P na dieta e na digesta pré-cecal, obtendo-se então o coeficiente de digestibilidade pré-cecal aparente do P ( $C_{pcaP}$ ) da dieta, de acordo com a seguinte equação (Dilger & Adeola, 2006):

$$C_{pcaP} = 1 - [FI \times (P_f/P_i)]$$

Onde,  $C_{pcaP}$  é o coeficiente de digestibilidade pré-cecal aparente de P; FI é o fator de indigestibilidade;  $P_f$  é a concentração de P na digesta ileal e  $P_i$  é a concentração de P na dieta.

A partir da determinação dos C<sub>cpa</sub>P das dietas fornecidas as aves, três metodologias principais foram descritas na literatura na avaliação da digestibilidade de ingredientes: método direto, método da substituição e o método de regressão.

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

Assim, as correções para perdas endógenas são necessárias para a determinação dos coeficientes de digestibilidade pré-cecal verdadeiro de P (C<sub>pcv</sub>P). Para a determinação das perdas endógenas são utilizadas dietas livres de fósforo (Mutucumarana & Ravindran, 2016) no método direto e de substituição, partindo do mesmo pressuposto da utilização de dietas livres de nitrogênio em determinações de aminoácidos digestíveis (Adedokun et al., 2011). Já no método de regressão não é necessária a utilização de uma dieta purificada, sendo a perda endógena calculada como o intercepto da curva (Dilger & Adeola, 2006). A forma de obtenção e cálculo dos C<sub>pcv</sub>P de cada método será melhor explicitada *a posteriori*.

### **3.2.1 Método direto na determinação do pdpc de ingredientes**

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

perdas de P endógenas, obtendo-se então, o valor de digestibilidade verdadeiro (Mutucumarana & Ravindran, 2016).

Para este tipo de determinação as aves deverão receber duas dietas, uma dieta livre de fósforo para a determinação das perdas endógenas, e uma dieta onde o ingrediente teste seja a única fonte de fósforo na dieta. Um exemplo destas dietas experimentais pode ser observado na **Tabela 1**. Para cada ingrediente extra a ser avaliado é necessário a formulação de apenas mais uma dieta teste, sendo necessária apenas uma dieta para determinação das perdas endógenas.

**Tabela 1.** Exemplos de dietas experimentais utilizadas na determinação do CpcvP de ingredientes para aves pelo método direto<sup>1</sup>

<b>Ingredientes, g/kg</b>	<b>Dieta Teste</b>	<b>Dieta livre de fósforo</b>
Ingrediente teste	100	-
Amido de milho	400	450
Óleo de soja	20	20
Açúcar	400	450
Celulose	50	50
Indicador indigestível	5	5
Premix mineral e vitamínico	20	20
Sal comum	5	5

<sup>1</sup>Fonte: Mutucumarana e Ravindran (2016).

Calcula-se então o coeficiente de digestibilidade pré-cecal aparente do P (CpcaP) da dieta teste como descrito anteriormente. Os cálculos para a determinação das perdas endógenas, em grama perdida por quilograma de matéria seca ingerida, são realizados de acordo com os dados obtidos a partir da dieta livre de fósforo, aplicando-se a seguinte equação:

$$PEP = P_{digesta} \times (I_{dieta} / I_{digesta})$$

Onde, PEP representa as perdas endógenas em gP/kgMS ingerida; P<sub>digesta</sub> é o conteúdo de fósforo da digesta em g/kgMS; I<sub>dieta</sub> é o conteúdo do indicador indigestível na dieta em g/kgMS; e I<sub>digesta</sub> é o conteúdo de indicador indigestível presente na digesta em g/kgMS.

O coeficiente de digestibilidade pré-cecal verdadeira do P (CpcvP) do ingrediente teste é calculado de acordo com a seguinte fórmula, proposta por Fan et al. (2008):

$$\text{CpcvP} = \text{CpcaP} + (\text{PEP}/\text{Pdieta})$$

Onde, CpcvP é o coeficiente de digestibilidade pré-cecal verdadeira do P; CpcaP é o coeficiente de digestibilidade pré-cecal aparente do P da dieta teste; PEP representa as perdas endógenas em gP/kgMS ingerida; e Pdieta é o conteúdo de fósforo da dieta em g/kgMS.

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

Mutucumarana e Ravindran (2016) utilizaram o método direto para a determinação do CpcvP de quatro diferentes farinhas de carne e ossos, relatando valores que variaram de 44% a 62%. Os dados indicaram que apesar de o conteúdo de fósforo dessas farinhas ser totalmente de fósforo não fítico, essas farinhas não têm um alto aproveitamento pelas aves como seria o esperado. As perdas endógenas foram determinadas em 354 mg/kg de MS ingerida.

As variações encontradas nas perdas endógenas pelo método direto podem ter relação com fatores dietéticos, como níveis nutricionais utilizados nas dietas purificadas, bem como fatores relacionados ao estado fisiológico das aves (Al-Masri, 1995; Silva et al., 2011). Na literatura, ainda são escassos, os trabalhos avaliando o CpcvP de ingredientes para aves pelo método direto. Wu et al. (2004) determinaram o CpcaP pelo método direto do sorgo, milho, trigo e cevada, de 36%, 70%, 51% e 61%, respectivamente. Não foram estimadas as perdas endógenas neste experimento, por isso os valores foram expressos em digestibilidade aparente.

### **3.2.2 Método de substituição na determinação do Pdpc de ingredientes**

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

O referido método tem sido muito utilizado para a determinação do valor energético de ingredientes para aves (Coates et al., 1977; Olukosi et al., 2017) e para o cálculo de digestibilidade de proteína bruta, matéria seca e extrato etéreo. Para a determinação de aminoácidos digestíveis também foi avaliado o seu uso, porém o método direto foi o que se consolidou como metodologia padrão (Ravindran et al., 2017). Para a determinação da digestibilidade pré-cecal de fósforo são escassos os trabalhos descritos na literatura com o uso do método de substituição.

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

Devido à necessidade de se atender à exigência de fósforo sem excessos para que não haja comprometimento da digestibilidade deste nutriente, as dietas referências têm sido substituídas por dietas basais, deficientes em P, na determinação dos CpcvP pelo método de substituição. Além disso, fontes ricas em fósforo, como é o caso de fontes inorgânicas são adicionadas em substituição a um inerte na dieta basal, em quantidade suficiente para atender à exigência do animal (Van Harn et al., 2017). Um exemplo destas dietas experimentais pode ser observado na **Tabela 2**.

Calcula-se então o coeficiente de digestibilidade pré-cecal aparente do P (Cpcap) das dietas basal ou referência e da dieta teste. Os cálculos para a determinação das perdas endógenas, em grama perdida por quilograma de matéria seca ingerida, para determinação do

coeficiente de digestibilidade pré-cecal verdadeira do P (CpcvP) das dietas experimentais, realizada de acordo os procedimentos descritos na seção 3.1.

O coeficiente de digestibilidade pré-cecal verdadeira do P (CpcvP) do ingrediente teste é calculado de acordo com a fórmula proposta por Anwar et al. (2018):

$$A = [(T \times T_p) - (B \times B_p) / A_p]$$

Onde, A é o coeficiente de digestibilidade do fósforo do ingrediente teste; A<sub>p</sub> é a proporção de fósforo na dieta teste oriundo do ingrediente teste; B é o coeficiente de digestibilidade do fósforo da dieta basal; B<sub>p</sub> é a proporção de fósforo na dieta teste oriundo da dieta basal; T é o coeficiente de digestibilidade de fósforo da dieta teste; e T<sub>p</sub> é a soma de A<sub>p</sub>+B<sub>p</sub>.

**Tabela 2.** Exemplo de dietas experimentais utilizadas na determinação do CpcvP de ingredientes para aves pelo método de substituição

Ingredientes, g/kg	Dieta Basal <sup>1</sup>	Dieta Teste <sup>1</sup>	DLP*
Ingrediente teste	-	12,7	-
Amido de milho	368	368	450
Farelo de Soja	110	110	-
Óleo de soja	20	20	20
Albúmen em pó	200	200	-
Açúcar	100	100	450
Casca de aveia	70	70	50
Calcário	3,3	2,8	-
Fosfato monocálcico	1,7	1,7	-
Indicador indigestível	5	5	5
Premix mineral e vitamínico	5	5	20
Mix macrominerais	6,7	6,7	5
Inerte	70	57	-

\*DLP: dieta livre de fósforo;

<sup>1</sup>Fonte: Van Harn et al. (2017).

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

O estudo de Van Harn et al. (2017) avaliou cinco fontes de fósforo, sendo três de origem orgânica e duas de origem inorgânica. Os autores determinaram o CpcvP para frangos de corte, através do método de substituição, de farinha de ossos Calfos, farinha de ossos Delfos, farinha de ossos suína, fosfato bicálcio e fosfato monocálcico, sendo os coeficientes 86,9%, 94,5%, 78,2%, 82,4% e 88,5, respectivamente. Os altos valores dos CpcvP de Delfos e Calfos, quando comparados à farinha de ossos, foram justificados pelos autores devido ao processamento químico e termofísico ao qual os ossos foram submetidos, principalmente o Delfos, sendo este produto o resultado da dissolução da matriz óssea em ácido clorídrico, seguido de precipitação do fósforo liberado com hidróxido de cálcio.

Até o presente momento, os trabalhos para determinar o CpcvP pelo método de substituição, descritos e discutidos nessa revisão foram os únicos encontrados na literatura.

### **3.2.3 Método de regressão na determinação do pdpc de ingredientes**

No método de regressão, uma série de dietas semi-purificadas ou de dietas basais, deficientes em fósforo, são formuladas com inclusões graduais do ingrediente teste, de modo que, contenham concentrações graduais de fósforo, onde o ingrediente teste é a única fonte de variação dietética de fósforo. Esta modalidade baseia-se no estabelecimento de uma relação linear entre o consumo do nutriente avaliado e a sua quantidade obtida na digesta ileal (Mutucumarana et al., 2015a).

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

Embora a perda endógena e o CpcvP do ingrediente alimentar específico sejam simultaneamente determinados, a complexidade técnica do método de regressão é uma desvantagem para não obter aceitação mais ampla na pesquisa nutricional. Alguns estudos de regressão com frangos relataram perdas endógenas negativas de P, resultando em estimativas de digestibilidade verdadeira mais baixas do que seus correspondentes aparentes (Iyayi et al., 2013; Liu et al., 2014, Mutucumarana et al., 2015a), sendo tais resultados biologicamente

impossíveis de acontecer, e relatado como uma limitação da técnica de regressão, a qual extrapola os dados a partir da relação linear entre consumo e excreção do nutriente em estudo.

A técnica é mais trabalhosa e onerosa, pois há a necessidade de formular no mínimo três dietas experimentais, sendo uma dieta basal, mais duas dietas com diferentes níveis de inclusão do ingrediente teste, acarretando um maior número de aves, análises e quantidade de dieta experimental (WPSA, 2013). Entretanto, é uma técnica robusta, pois não utiliza um único nível de inclusão do ingrediente, considerando então a interação que possa haver entre o ingrediente teste e os outros ingredientes da dieta. Permite ainda a extrapolação para 0% de fosforo ingerido, determinando simultaneamente as perdas endógenas (Dilger e Adeola, 2006).

Além disso, o método de regressão foi o método recomendado pelo Grupo de Trabalho nº 2: Filiais da WPSA de Nutrição da Federação Europeia (WPSA, 2013) para determinação dos coeficientes de digestibilidade pré-cecal verdadeira do fósforo de ingredientes para aves. Um exemplo das dietas experimentais utilizadas neste tipo de metodologia pode ser observado na **Tabela 3**.

**Tabela 3.** Exemplo de dietas experimentais utilizadas na determinação do CpcvP de ingredientes para aves pelo método de regressão.

<b>Ingrediente, g/kg</b>	<b>Dieta 1</b>	<b>Dieta 2</b>	<b>Dieta 3</b>	<b>Dieta 4</b>
Ingrediente teste	20	40	60	80
Óleo de soja	20	20	20	20
Dextrose	717	701	686	670
Amido	179	175	171	168
Celulose	50	50	50	50
KCl	3,1	2,6	2,0	1,5
NaCl	4,0	4,0	4,0	4,0
TiO <sub>2</sub>	3,0	3,0	3,0	3,0
Premix mineral e vitamínico	34	3,4	3,4	3,4

<sup>1</sup>Fonte: Mutucumarana et al. (2015).

Em seguida, calcula-se o coeficiente de digestibilidade pré-cecal aparente do P (CpcaP) de cada dieta experimental, como descrito nas seções anteriores. O coeficiente de digestibilidade pre-cecal verdadeiro do P (CpcvP) será calculado de acordo com o procedimento descrito por Dilger e Adeola (2006) para a estimativa da digestibilidade, através dos seguintes cálculos: o valor total de P na digesta ileal, expressa como g/kg de ingestão de matéria seca (MSI), será calculada pela seguinte equação.

$$Pf-MSI \text{ (g/kg)} = Pf-MSf \times (TiI/Tif),$$

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

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

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

Onde PF-MSI representa a concentração de P na digesta com base na matéria seca ingerida, PI representa a concentração de P na dieta com base na MS, TPI representa a indigestibilidade verdadeira de P e IEPL representa as médias estimadas de perdas de P endógeno com base na MS. Nesta equação, TPI e EPL são a inclinação e a interceptação, respectivamente, da regressão linear simples de Pf-MSI em PI.

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

$$\text{CpcvP} = 1 - \text{VPI}$$

Onde, CpcvP e VPI representam o coeficiente de digestibilidade pré-cecal verdadeiro e o coeficiente de indigestibilidade pre-cecal verdadeiro de P, respectivamente.

Diversos trabalhos podem ser encontrados na literatura utilizando o método de regressão para determinação do CpcvP de ingredientes comumente utilizados na alimentação avícola (**Tabela 4**).

**Tabela 4.** Valores de coeficiente de digestibilidade pré-cecal verdadeiro de fósforo (CpcvP) de ingredientes para aves e o método utilizado na determinação

<b>Ingredientes</b>	<b>CPdpc (%)</b>	<b>Metodologia</b>	<b>Pesquisadores</b>
Calfos	86,9	Substituição	Van Harn et al. (2017)
Carne e ossos, farinha	44~62	Direto	Mutucumarana e Ravindran (2016)
	42~69	Regressão	Mutucumarana et al. (2015a)
Delfos	94,5	Substituição	Van Harn et al. (2017)

Fosfato bicálcico	82,4	Substituição	Van Harn et al. (2017)
	59,0	Regressão	Bikker et al. (2016)
	62~75	Sub/Dir	Bünzen (2009)
Fosfato deflourizado	31,5	Regressão	Bikker et al. (2016)
F. monobicálcico	70,7	Regressão	Bikker et al. (2016)
Fosfato monocálcico	88,5	Substituição	Van Harn et al. (2017)
	78,3	Regressão	Bikker et al. (2016)
	61,5	Substituição	Bünzen (2009)
Ossos, farinha	78,2	Substituição	Van Harn et al. (2017)
Camelina, farelo	24~35	Regressão	Pekel et al. (2017)
Canola, farelo	46,9	Regressão	Mutucumarana et al. (2014a)
Girassol, farelo	46,0	Regressão	Pereira e Adeola (2016)
Milho	67,6	Regressão	Mutucumarana et al. (2014a)
	33,0	Regressão	Kupcikova et al. (2017)
	43~73	Regressão	Mutucumarana et al. (2015b)
	43,7	Substituição	Bünzen (2009)
	27,6	Regressão	Li et al. (2017)
Milho DDGS	72,7	Regressão	Mutucumarana et al. (2014b)
	79,8	Regressão	Mutucumarana et al. (2014a)
	61~76	Regressão	Abbasi et al. (2018)
Soja, farelo	68~81	Regressão	Liu et al. (2014)
	52~74	Regressão	Mutucumarana et al. (2015b)
	94	Regressão	Dilger e Adeola (2006)
	48~56	Sub/Dir	Bünzen (2009)
	56,8	Regressão	Li et al. (2017)
Sorgo	33,1	Regressão	Mutucumarana et al. (2014b)
Trigo, farelo	31,2	Regressão	Li et al. (2017)
	50,7	Substituição	Bünzen (2009)
	46,4	Regressão	Mutucumarana et al. (2014b)
	18,0	Regressão	Kupcikova et al. (2017)
Triticale	53~78	Regressão	Witzig et al. (2018)

Fonte: Os autores

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

Além do nível de fósforo da dieta, outras questões ligadas à determinação da digestibilidade de fósforo foram levantadas por diversos autores para justificar a variabilidade

de resultados encontrados sobre o mesmo ingrediente. Dentre eles, têm-se a relação Ca:P, o teor de fitato na dieta, utilização de fitase (Plumstead et al., 2008; Perryman et al. 2016).

### **3.3 Fatores que podem influenciar a digestibilidade de fósforo**

O fósforo é um dos minerais mais abundantes no corpo, e seus níveis séricos alteram-se por um complexo conjunto de processos que ocorrem no intestino, esqueleto e rins. Os reguladores principais da homeostase do fósforo incluem o hormônio paratireoide (PTH), o calcitriol e as fosfatoninas (Penido & Alon, 2012). Além disso, o metabolismo fosfórico está estreitamente relacionado com o metabolismo de cálcio. No lúmen intestinal, devido à alta carga negativa do grupamento fosfato, este mineral pode se quelatar com outros nutrientes, diminuindo a sua solubilidade e impossibilitando a absorção pelo animal (Selle et al., 2009). Desse modo, tanto fatores dietéticos, quanto fatores relacionados ao estado fisiológico da ave podem influenciar a digestibilidade de fósforo.

#### **3.3.1 Fatores dietéticos que podem influenciar a digestibilidade de fósforo**

Dentre os fatores dietéticos que podem influenciar a determinação da digestibilidade de fósforo, destacam-se: o cálcio, o fitato, a fitase e a vitamina D<sub>3</sub>. Os níveis elevados de Ca na dieta, podem aumentar o pH no intestino e, como resultado, diminuir a absorção de fósforo (Keshavarz, 1986). Além disso, é capaz de se complexar com o fitato, diminuindo a capacidade de ação da fitase (Plumstead et al., 2008).

Perryman et al. (2016) demonstraram os efeitos de diferentes planos de alimentação, com Ca alto (0,95%) ou baixo (0,13%) e relação fixa Ca:Pt (2,1:1). Os autores observaram diferentes valores de CpcvP do milho. Perryman et al. (2017) estudaram a relação Ca:Pt de 1,4:1 e uma estratégia de fixar (0,35%) o Ca, e concluíram que ao utilizar a relação Ca:Pt de 1,4:1 foram gerados valores de perdas endógenas negativas pelo método de regressão, o que não aconteceu ao fixar o cálcio em 0,35% da dieta, ao avaliarem o CpcvP do milho.

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

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

A vitamina D<sub>3</sub> está relacionada com o melhor aproveitamento dietético de fósforo (Biehl & Baker, 1997). A sua forma ativa, calcitriol, atua diretamente no intestino delgado estimulando a absorção de cálcio e fósforo (Penido & Alon, 2012). A suplementação com vitamina D<sub>3</sub> ativa acarretou um melhor aproveitamento do fósforo fítico, como sugerido por Edwards Jr. (1993). Han et al. (2012) também observaram maior retenção de fósforo em dietas suplementadas com um análogo da vitamina D<sub>3</sub>, 1- $\alpha$ -hydroxycalciferol (1 $\alpha$ -OH D<sub>3</sub>), indicando que a absorção de fósforo melhorou com a inclusão da vitamina. Han et al. (2018) relataram que a vitamina regula a expressão gênica do co-transportador de fósforo da membrana, observando maior expressão gênica em dietas suplementadas com 25-OH-D<sub>3</sub>.

### **3.3.2 Fatores não dietéticos que podem influenciar a digestibilidade de fósforo**

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

O CpcvP do farelo de soja foi determinado por regressão linear, sendo observada variação entre as estações, de 19 a 51%. Como a mesma ração e o mesmo laboratório foram utilizados para o teste, segundo os autores, as diferenças não seriam devido a fatores dietéticos ou laboratoriais. Várias hipóteses foram levantadas pelos autores a partir das diferenças observadas entre as estações experimentais, entre elas: a linhagem da ave utilizada,

a idade dos animais, o sexo das aves, o tempo de adaptação às dietas experimentais e até mesmo o método de eutanásia (Rodehutschord et al., 2017).

Também foram realizadas análises de fitato nas dietas e na digesta de quatro estações selecionadas para determinar a taxa de desaparecimento pré-cecal do fitato. Os autores relatam que os CpcvP foram maiores onde a taxa de desaparecimento do fitato foi maior, sugerindo que os fatores que influenciaram a hidrólise do fitato foram os principais contribuintes para a variação no CpcvP entre as estações, relacionando esses fatores às condições de alimentação e alojamento (boxes ou gaiolas) das aves na fase pré-experimental, o que poderia ter causado uma diferenciação na colonização da microbiota intestinal entre as estações (Rodehutschord et al., 2017).

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

#### **4. Considerações Finais**

O fósforo é um nutriente essencial, caro e escasso. Dessa forma, estratégias que permitam o melhor aproveitamento deste elemento são necessárias, vislumbrando também reduzir os custos de produção e os impactos ambientais da atividade. Ainda, faz-se necessário determinar a escolha dos valores de fósforo digestível pré-cecal verdadeiro, bem como a metodologia para a determinação do valor fosfórico de ingredientes, para possibilitar a maior exatidão na formulação de dietas, levando a uma diminuição das margens de segurança utilizadas.

Apesar do esforço em se consolidar uma técnica padrão para estimar o CpcvP dos ingredientes, diferentes metodologias têm sido testadas. Cabe salientar que deve haver uma padronização, não apenas do método, como também do período pré-experimental, para permitir maior confiança na comparação dos dados gerados entre os diferentes grupos de pesquisa.

## Referências

- Abbasi, F., Liu, J., Zhang, H., Shen, X., & Luo, X. (2018). Effects of dietary total phosphorus concentration and casein supplementation on the determination of true phosphorus digestibility for broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*, 17, 135-144.
- Adedokun, S. A., Adeola, O., Parsons, C. M., Lilburn, M. S., & Applegate, T. J. (2008). Standardized ileal amino acid digestibility of plant feedstuffs in broiler chickens and turkey poults using a nitrogen-free or casein diet. *Poultry Science*, 87(12), 2535-48.
- Adedokun, S. A., Adeola, O., Parsons, C. M., Lilburn, M. S., & Applegate, T. J. (2011). Factors affecting endogenous amino acid flow in chickens and the need for consistency in methodology. *Poultry Science*, 90, 1737-1748.
- Adeola, O. (2001). *Digestion and balance techniques in pigs*. A. J. Lewis, L. L. Southern (Eds.), Swine nutrition (2nd ed.), CRC Press.
- Adeola, O., & Applegate, T. J. (2010). *Phosphorus and calcium equivalency of phytase*. In Proceedings of the 1st International Phytase Summit.
- Akpe, M. P., Waibel, P. E., Larntz, E., Metz, A. L., Noll, S. L., & Walser, M. M. (1987). Phosphorus Availability Bioassay Using Bone Ash and Bone Densitometry as Response Criteria. *Poultry Science*, 66, 713-720.
- Al-masri, M. R. (1995). Absorption and endogenous excretion of phosphorus in growing broiler chicks, as influenced by calcium and phosphorus ratios in feed. *British Journal of Nutrition*, 74, 407-415.
- Amerah, A. M., Plumstead, P. W., Barnard, L. P., & Kumar, A. (2014). Effect of calcium level and phytase addition on ileal phytate degradation and amino acid digestibility of broilers fed corn-based diets. *Poultry Science*, 93, 906-915.
- Ammerman, C. B., Baker, D. H., & Lewis, A. J. (1995). *Bioavailability of Nutrients for Animals: Amino Acids, Minerals and Vitamins*. Academic Press, San Diego, CA.

Angel, R. (2007). Metabolic Disorders: Limitations to Growth of and Mineral Deposition into the Broiler Skeleton after Hatch and Potential Implications for Leg Problems. *Journal Applied Poultry Research*, 16, 138–149.

Anwar, M. N., Ravindran, V., Morel, P. C. H., Ravindran, G., & Cowieson, A.J. (2018). Measurement of the true ileal calcium digestibility of some feed ingredients for broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 237, 118-128.

Biehl, R. R., & Baker, D. H. (1997). Utilization of phytate and nonphytate phosphorus in chicks as affected by source and amount of vitamin D<sub>3</sub>. *Journal of Animal Science*, 75, 2986-2993.

Bikker, P., Spek, J. W., Van Emous, R.A.; & Van Krimpen, M. M. (2016). Precaecal phosphorus digestibility of inorganic phosphate sources in male broilers. *British Poultry Science*, 57, 810-817.

Bünzen, S. (2009). *Digestibilidade do fósforo de alimentos e exigência de fósforo digestível de aves e suínos*. Viçosa, MG: UFV. 129p. Tese (Doutorado em Nutrição de Monogástrico) - Universidade Federal de Viçosa.

Coates, B. J., Slinger, S. J., Summers, J. D., & Bayley, H. S. (1977). Metabolizable energy values and chemical and physical characteristics of wheat and barley. *Canadian Journal Animal Science*, 57, 195-207.

Centraal Veevoederbureau. (1997). *Table on Feed Ingredients*. Data on the Chemical Composition, Digestibility and Nutritional Value of Feedstuffs. Product Board Animal Feed.

Centraal Veevoederbureau. (2016). *Table on Feed Ingredients*. Data on the Chemical Composition, Digestibility and Nutritional Value of Feedstuffs. Product Board Animal Feed.

Coon, C. N., Seo, S., & Manangi, M. K. (2007). The determination of retainable phosphorus, relative biological availability, and relative biological value of phosphorus sources for broilers. *Poultry Science*, 86, 857-868.

Devereux, C., Smart, M., Kalt, F. P., & Takei, N. (1994) *Animal feeds: Phosphate supplements*. In CEH Marketing Research Report; HIS Chemical: Englewood, CO, USA.

Dilger, R. N., & Adeola, O. (2006). Estimation of true phosphorus digestibility and endogenous phosphorus loss in growing chicks fed conventional and low-phytate soybean meals. *Poultry Science*, 85, 661-668.

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

Edwards Jr, H. M. (1993). Dietary 1,25-dihydroxycholecalciferol supplementation increases natural phytate phosphorus utilization in chickens. *The Journal of Nutrition*, 123(3), 567-577.

Fan, M. Z., Archbold, T., Sauer, W. C., Lackeyram, D., Rideout, T., Gao, Y., de Lange, C.F.M., & Hacker, R. R. (2001). Novel methodology allows simultaneous measurement of true phosphorus digestibility and the gastrointestinal endogenous phosphorus outputs in studies with pigs. *Journal of Nutrition*, 131, 2388-2396.

Fan, M. Z., Shen, Y., Yin, Y. L., Wang, Z. R., Wang, Z. Y., Li, T. J., Rideout, T. C., Huang, R. L., Archbold, T., Yang, C. B., & Wang, J. (2008). Methodological considerations for measuring phosphorus utilization in pigs. In: France, J., Kebreab, E. (Eds.), *Mathematical Modelling in animal Nutrition*. CAB International, Oxfordshire, UK, pp. 370-397.

Fernandes, M. N. S. (2012). Principais problemas locomotores na avicultura industrial. *PUBVET*, 6(18), 1369.

Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. (2010). *Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos*. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

- Han, J., Liu, Y., Yao, J., Wang, J., Qu, H., Yan, Y., Yue, J., Ding, J., Shi, Z., & Dong, X. (2012). Dietary calcium levels reduce the efficacy of one alphanhydroxycholecalciferol in phosphorus-deficient diets of broilers. *Journal of Poultry Science*, 49, 34-38.
- Han, J. C., Zhang, J. L., Zhang, N., Yang, X., Qu, H. X., Guo, Y., Shi, C. X., & Yan, X. F. (2018). Age, phosphorus, and 25-hydroxycholecalciferol regulate mRNA expression of vitamin D receptor and sodium-phosphate cotransporter in the small intestine of broiler chickens. *Poultry Science*, 97, 1199-1208.
- Hemme, A., Spark, M., Wolf, P., Paschertz, H., & Kamphues, J. (2005). Effects of different phosphorus sources in the diet on bone composition and stability (breaking strength) in broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 89, 129-133.
- Hester, P. Y., Schreiweis, M. A., Orban, J. I., Mazzuco, H., Kopka, M.N., Ledur, M. C., & Moody, D. E. (2004). Assessing bone mineral density in vivo: dual energy X-ray absorptiometry. *Poultry Science*, 83, 215-221.
- Institut National de la Recherche Agronomique. (2004). *Tablas de composición y de valor nutritivo de las materias primas destinadas a los animales de interés ganadero*. Mundiprensa.
- Iyayi, E. A., Fru-Nji, F., & Adeola, O. (2013). True phosphorus digestibility of black-eyed pea and peanut flour without or with phytase supplementation in broiler chickens. *Poultry Science*, 92, 1595-1603.
- Jongbloed, A. W., P. A. Kemme, G. De Groote, M. Lippens, & Meschy, F. (2002). *Bioavailability of major and trace minerals. EMFEMA report. International Association of the European (EU) Manufacturers of Major, Trace and Specific Feed Mineral Materials*.
- Keshavarz, K. (1986). The effect of dietary levels of calcium and phosphorus on performance and retention of these nutrients by laying hens. *Poultry Science*, 65, 114-121.
- Kupcikova, L., Lichovnikova, M., Anderle, V., Vlcko, T., Ohnoutkova, L., Svidrnoch, M., Maier, V., & Hampel, D. (2017). Pre-caecal digestible phosphorus in maize and wheat for broiler chickens. *British Poultry Science*, 58, 712-717.

Lemme, A., Ravindran, V., & Bryden, W.L. (2004). Ileal digestibility of amino acids in feed ingredients for broilers. *World's Poultry Science Journal*, 60, 423-438.

Li, W., Angel, R., Kim, S. W., Brady, K., Yu, S., & Plumstead, P. W. (2016a). Impacts of dietary calcium, phytate, and nonphytate phosphorus concentrations in the presence or absence of phytase on inositol hexakisphosphate (IP6) degradation in different segments of broilers digestive tract. *Poultry Science*, 95, 581–589.

Li, X., Zhang, D., Yang, T.Y., & Bryden, W.L. (2016b). Phosphorus bioavailability: a key aspect for conserving this critical animal feed resource with reference to broiler nutrition. *Agriculture*, 6, 25.

Li, X., Zhang, D., & Bryden, W.L. (2017). Calcium and phosphorus metabolism and nutrition of poultry: are current diets formulated in excess?. *Animal Production Science*, 57, 2304–2310.

Lima, F. R., Mendonça Júnior, C. X., Alvarez, J. C., Garzillo, J. M., Ghion, E., & Leal, P. M. (1997). Biological evaluations of commercial dicalcium phosphates as sources of available phosphorus for broiler chicks. *Poultry Science*, 76(12), 1707-1713.

Liu, J. B., Chen, D. W., & Adeola, O. (2014). Casein supplementation does not affect true phosphorus digestibility and endogenous phosphorus loss associated with soybean meal for broiler chickens determined by the regression method. *Canadian Journal Animal Science*, 94, 661-668.

Mutucumarana, R. K., Ravindran, V., Ravindran, G., & Cowieson, A. J. 2014a. Measurement of true ileal digestibility and total tract retention of phosphorus in corn and canola meal for broiler chickens. *Poultry Science*, 93, 412-419.

Mutucumarana, R. K., Ravindran, V., Ravindran, G., & Cowieson, A. J. (2014b). Measurement of true ileal digestibility of phosphorus in some feed ingredients for broiler chickens. *Journal Animal Science*, 92, 5520–5529.

Mutucumarana, R. K., Ravindran, V., Ravindran, G., & Cowieson, A.J. (2015a). Measurement of true ileal phosphorus digestibility in meat and bone meal for broiler chickens. *Poultry Science*, 94, 1611-1618.

Mutucumarana, R. K., Ravindran, V., Ravindran, G., & Cowieson, A. J. (2015b). Measurement of true ileal phosphorus digestibility in maize and soybean meal for broiler chickens: Comparison of two methodologies. *Animal Feed Science and Technology*, 206, 76-86.

Mutucumarana, R. K. & Ravindran, V. (2016). Measurement of true ileal phosphorus digestibility in meat and bone meal for broiler chickens using the direct method. *Animal Feed Science and Technology*, 219, 249-256.

National Research Council. (1994). *Nutrient requirements of poultry*. (9th ed.) National Academy Press.

Neset, T. S. & Cordell, D. (2012). Global phosphorus scarcity: Identifying synergies for a sustainable future. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 2–6.

Olukosi, O. A., Bolarinwa, O. A., Cowieson, A. J., & Adeola O. (2012). Marker type but not concentration influenced apparent ileal amino acid digestibility in phytase-supplemented diets for broiler chickens and pigs. *Journal Animal Science*, 90(12), 4414-4420.

Olukosi, O. A., Adedokun, S. A., & Agboola, J. O. (2017). Species-dependent response to the influence of adaptation length during assay for metabolisable energy of cereal grains employing the difference method. *Animal Feed Science and Technology*, 231, 111-118.

Onyango, E. M., Hester, P. Y., Strohshine, R. & Adeola, O. (2003). Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. *Poultry Science*, 82(11), 1787-1791.

Pekel, A. Y., Adedokun, S. A., & Adeola, O. (2017). True phosphorus digestibility of camelina meal in broiler chickens. *Canadian Journal of Animal Science*, 98, 194-203.

Penido, M. G. M. G. & Alon, U.S. (2012). Phosphate homeostasis and its role in bone health. *Pediatr Nephrol.*, 27(11), 2039-2048.

Pereira, L. F. P. & Adeola, O. (2016). Energy and phosphorus values of sunflower meal and rice bran for broiler chickens using the regression method. *Poultry Science*, 95, 2081-2089.

Perryman, K. R., Masey O'Neill, H. V., Bedford, M. R., & Dozier, III, W. A. (2016). Effects of calcium feeding strategy on true ileal phosphorus digestibility and true phosphorus retention determined with growing broilers. *Poultry Science*, 95, 1077–1087.

Perryman, K. R., Masey O'Neill, H. V., Bedford, M. R., & Dozier, III, W. A. (2017). Methodology affects measures of phosphorus availability in growing broilers: Effects of calcium feeding strategy and dietary adaptation period length on true ileal phosphorus digestibility and predicted endogenous phosphorus losses. *Poultry Science*, 96, 611-621.

Plumstead, P. W., Leytem, A. B., Maguire, R. O., Spears, J. W., Kwanyuen, P., & Brake, J. (2008). Interaction of calcium and phytate in broiler diets. 1. Effects on apparent prececal digestibility and retention of phosphorus. *Poultry Science*, 87, 449-458.

Potter, L. M., Potchanakorn, M., Ravindran, V., & Kornegay, E. T. (1995). Bioavailability of phosphorus in various phosphate sources using body weight and toe ash as response criteria. *Poultry Science*, 74(5), 813-20.

Ravindran, V., Adeola, O., Rodehutsord, M., Kluth, H., van der Klis, J.D., van Eerden, E. & Helmbrecht, A. (2017). Determination of ileal digestibility of amino acids in raw materials for broiler chickens – Results of collaborative studies and assay recommendations. *Animal Feed Science and Technology*, 225, 62-72.

Rodehutsord, M., Adeola, O., Angel, R., Bikker, P., Delezie, E., Dozier, W.A., Umar Faruk, M., Francesch, M., Kwakernaak, C., Narcy, A., Nyachoti, C.M., Olukosi, O.A., Preynat, A., Renouf, B., Saiz Del Barrio, A., Schedle, K., Siegert, W., Steinfeldt, S., van Krimpen, M.M., Waititu, S.M., & Witzig, M. (2017). Results of an international phosphorus digestibility ring test with broiler chickens. *Poultry Science*, 96, 1679-1687.

Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Donzele, J. L., Sakomura, N. K., Perazzo, F. G., Saraiva, A., Teixeira, M. L., Rodrigues, P. B., Oliveira, R. F., Barreto, S. L. T., & Brito, C. O. (2005). *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais* (2a ed.). Universidade Federal de Viçosa.

Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Donzele, J. L., Gomes, P. C., Oliveira, R. F., Lopes, D. C., Ferreira, A. S., & Barreto, S. L. T. (2011) *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais* (3a ed.). Universidade Federal de Viçosa.

Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Hannas, M. I., Donzele, J. L., Sakomura, N. K., Perazzo, F. G., Saraiva, A., Teixeira, M. V., Rodrigues, P. B., Oliveira, R. F., Barreto, S. L. T., & Brito, C. O. (2017). *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais* (4a ed.). Universidade Federal de Viçosa.

Sakomura, N. K. & Rostagno, H. S. (2016). *Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos* (2a ed.). FUNEP.

Sales, J., & Janssens, G. P. J. (2003). Acid-insoluble ash as a marker in digestibility studies: a review. *Journal Animal Feed Science*, 12(3), 383-401.

Selle, P. H., Cowieson, A. J., & Ravindran, V. (2009). Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. *Livestock Science*, 124, 126-141.

Sharpley, A. N., Chapra, S. C., Wedepohl, R., Sims, J. T., Daniel, T. C., & Reddy, K. R. (1994). Managing agricultural phosphorus for protection of surface waters: Issues and options. *Journal Environmental Quality*, 23, 437-451.

Shastak, Y., Witzig, M.; Hartung, K. & Rodehutschord, M. (2012). Comparison of retention and prececal digestibility measurements in evaluating mineral phosphorus sources in broilers. *Poultry Science*, 91, 2201–2209.

Shastak, Y., & Rodehutschord, M. (2013). Determination and estimation of phosphorus availability in growing poultry and their historical development. *World's Poultry Science Journal*, 69, 569-585.

Silva, E. P., Rabello, C. B., Lima, M. B., Lima, S. B. P., Lima, R. B., & Lima, T. S. (2011). Age effect on the endogenous and metabolic losses in industrial and free-range broiler chickens. *Ciência Animal Brasileira*, 12, 37-47.

Tamim, N. M., Angel, R. & Christman, M. (2004). Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. *Poultry Science*, 83, 1358-1367.

Van der Klis, J. D. & Versteegh, H. A. J. (1999). *Phosphorus nutrition of poultry*. In: Recent Developments in Poultry Nutrition 2; Garnsworthy, P.C., Wiseman, J., Eds. Nottingham University Press.

Van Harn, J., Spek, J.W., Van Vuure, C.A. & Van Krimpen, M. M. (2017). Determination of pre-cecal phosphorus digestibility of inorganic phosphates and bone meal products in broilers. *Poultry Science*, 96, 1334-1340.

Vosgerau, D. S. R. & Romanowski, J. P. (2014) Estudos de revisão: implicações conceituais e metodológicas. *Rev. Diálogo Educ.*, 14(41),165-189.

Witzig, M., Ingelmann, C. J., Möhring, J. & Rodehutsord, M. (2018). Variability of prececal phosphorus digestibility of triticale and wheat in broiler chickens. *Poultry Science*, 97, 910–919.

World Poultry Science Association. (2013). Determination of phosphorus availability in poultry. *World's Poultry Science Journal*, 69, 687-698.

#### **Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Felipe Dilelis – 30%

Christiane Silva Souza – 15%

Túlio Leite Reis – 15%

Flávio Medeiros Vieites – 20%

Cristina Amorim Ribeiro de Lima – 20%