

**UTILIZAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS E
FITASE EM RAÇÕES PARA LEITÕES DOS 7
AOS 20 kg**

ÉRIKA VIVIANE HEIDENREICH DA ROCHA

2006

ÉRIKA VIVANE HEIDENREICH DA ROCHA

**UTILIZAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS E FITASE EM RAÇÕES
PARA LEITÕES DOS 7 AOS 20 kg**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. José Augusto de Freitas Lima

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2006**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos
da Biblioteca Central da UFLA**

Rocha, Érika Viviane Heidenreich da

Utilização de ácidos orgânicos e fitase em rações para leitões dos 7
aos 20 kg./ Érika Viviane Heidenreich da Rocha. -- Lavras: UFLA, 2006.
80 p. : il.

Orientador: José Augusto de Freitas Lima.
Dissertação (Mestrado) – UFLA.
Bibliografia.

1. Leitões. 2. Fitase. 3. Ácidos orgânicos. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD-636.40855

ÉRIKA VIVIANE HEIDENREICH DA ROCHA

**UTILIZAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS E FITASE EM RAÇÕES
PARA LEITÕES DOS 7 AOS 20 kg**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 4 de setembro de 2006.

Prof. Dr. Elias Tadeu Fialho	UFLA
Prof. Dr. Antônio Gilberto Bertechini	UFLA
Prof. Dr. Raimundo Vicente de Sousa	UFLA
Prof. Dr. Paulo Borges Rodrigues	UFLA

Prof. Dr. José Augusto de Freitas Lima
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

Aos meus pais, Rita Helena e Harohilton Rocha,

pelo amor, exemplo e incentivo em todos momentos da minha vida.

Aos meus irmãos, Gustavo e Weber e minha madrinha, Maria, pelo carinho e apoio sempre.

Ao meu noivo, Ivanée pelo amor, incentivo e companheirismo.

OFEREÇO

A Deus, pela oportunidade de realizar meu trabalho.

A todos os meus amigos e pessoas que me encorajaram e acreditaram no meu trabalho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização do mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão de bolsa de estudos.

Ao Professor José Augusto de Freitas Lima pela valiosa orientação, confiança, incentivo e amizade.

Ao Professor Elias Tadeu Fialho, pela confiança, co-orientação e colaboração, durante todas as etapas deste trabalho.

Ao Professor Antônio Gilberto Bertechini, pelas sugestões e ensinamentos para a realização deste trabalho.

Aos funcionários do Setor de Suinocultura da UFLA, Hélio Rodrigues e Marcelo, pela amizade e dedicação durante a condução do experimento.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal (DZO), Márcio, Eliana, Suelba e Zé Virgílio, pela ajuda e amizade durante todos os momentos.

Aos professores do Departamento de Zootecnia da UFLA, pelos ensinamentos e amizade.

Aos colegas de pós-graduação, Márcio Zangeronimo e Marcelo Milagres, pela amizade, dedicação e fundamental orientação durante o mestrado.

Aos companheiros do NESUI, pelo apoio na realização dos trabalhos, especialmente a Valéria Rodrigues.

Aos meus amigos de jornada Julliana, Janine, Giovana, Lílian, Natália, Everton, Flávio, Karina, Josy, Leandro, Júlio, Vivian, Flávia Cosentino e Bárbara, pela valiosa amizade, companheirismo e incentivo.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

ÉRIKA VIVIANE HEIDENREICH DA ROCHA, filha de Haroldilton Alonso da Rocha e Rita Helena Heidenreich da Rocha, nasceu em Corumbá, MS, em 4 de dezembro de 1981.

Concluiu o ensino médio na Escola Estadual “Professor Soares Ferreira”, em Barbacena, MG, em 1998.

Em setembro de 1999, ingressou na Universidade Federal de Lavras, onde, em agosto de 2004, obteve o título de Zootecnista.

Em março de 2005, iniciou o curso de Pós-graduação em Zootecnia na mesma universidade, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Monogástricos.

Em 4 de setembro de 2006 submeteu-se à defesa de dissertação para a obtenção do título de “Mestre”.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Desmame de leitões e produção de HCl	3
2.2 Utilização de ácidos orgânicos em dietas para leitões	4
2.3 O fósforo e o fitato.....	7
2.4 Enzima fitase	8
2.5 Fitase associada a ácidos orgânicos	10
2.6 Fosfatase alcalina.....	13
2.7 Resistência dos ossos à quebra	14
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 Localização	16
3.2 Instalações experimentais	16
3.3 Animais e manejo	16
3.4 Rações experimentais	17
3.5 Procedimento experimental	20
3.5.1 Desempenho e incidência de diarreia	20
3.5.2 Abate dos animais.....	20
3.5.3 Fosfatase alcalina, uréia e minerais no plasma	21
3.5.4 Teste de resistência dos ossos à quebra.....	21
3.5.5 Teor de cinzas e minerais nos ossos metatarsianos, rações e fezes.....	23
3.6 Delineamento experimental e análise estatística.....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1 Desempenho, escore fecal e pH do estômago.....	26
4.1.1 Desempenho.....	26
4.1.2 Escore fecal.....	29
4.1.3 pH do estômago	31
4.2 Parâmetros sanguíneos.....	33
4.2.1 Atividade da fosfatase alcalina e níveis de uréia no plasma	33
4.2.2 Teores de minerais no plasma.....	35
4.3 Teores de minerais nas fezes e ossos	38
4.3.1 Porcentagem de minerais nas fezes, aos 14 e 28 dias de experimento	38
4.3.2 Porcentagem de minerais nos ossos.....	43
4.4 Disponibilidade do cálcio e do fósforo	45

4.5 Resistência dos ossos à quebra	49
5 CONCLUSÃO.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
ANEXOS.....	65

RESUMO

ROCHA, Érika Viviane Heidenreich da. **Utilização de ácidos orgânicos e fitase em rações para leitões dos 7 aos 20 kg.** 2006. 80 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG.¹

O objetivo da presente pesquisa foi verificar o efeito da inclusão de ácidos orgânicos (AO) a rações de leitões com diferentes níveis de fitase. Foram utilizados 40 leitões recém-desmamados, em um delineamento em blocos casualizados com cinco tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por: T1- ração basal com 500 UF/kg (ração controle); T2- ração basal com 500 UF/kg + 0,2% do complexo de ácidos orgânicos (AO); T3- ração basal com 450 UF/kg + 0,2% do complexo de AO; T4- ração basal com 400 UF/kg + 0,2% do complexo de AO e T5- ração basal com 350 UF/kg + 0,2% do complexo de AO. Foram coletadas amostras de sangue e fezes aos 14 e 28 dias de experimento. Ao abate foi medido o valor de pH do estômago e retirados os 3º e 4º ossos metatarsianos. A adição de AO à ração contendo 500 UF promoveu um maior ($P<0,05$) ganho de peso médio diário em relação ao tratamento controle. Para o consumo de ração médio diário houve uma regressão quadrática ($P<0,05$), em que o nível de 411 UF proporcionou o menor consumo. O tratamento 500 UF + AO apresentou maior porcentagem de ocorrência de fezes normais em relação ao controle nas duas últimas semanas. Para os níveis de uréia aos 14 dias de experimento, houve um aumento linear ($P<0,05$) ao se reduzir os níveis de fitase. Nas fezes, foi encontrado um decréscimo linear ($P<0,05$) para os teores de cálcio aos 14 dias e, para os teores de cinzas, manganês e zinco, aos 28 dias, ao reduzirem-se os níveis da enzima. A redução para 400 UF prejudicou a deposição de magnésio nos ossos. Aos 14 dias de experimento, constatou-se um efeito quadrático ($P<0,05$) na disponibilidade do fósforo, tendo o nível 429 UF sido o que proporcionou o melhor valor. Também neste período, o nível de 350 UF prejudicou a disponibilidade de fósforo. Houve um acréscimo linear ($P<0,05$) na disponibilidade do cálcio aos 28 dias de experimento, ao se reduzir os níveis de fitase na ração. Não houve diferenças significativas ($P>0,05$) para o nível de minerais no plasma, pH estomacal e resistência dos ossos à quebra. A adição de ácidos orgânicos à ração contendo 500 UF proporcionou maior ganho de peso e melhor escore fecal, porém, não afetou as demais variáveis analisadas.

¹ **Comitê de Orientação:** Prof. José Augusto de Freitas Lima – DZO/UFLA (orientador); Prof Elias Tadeu Fialho – DZO/UFLA; Prof. Antônio Gilberto Bertechini – DZO/UFLA.

ABSTRACT

ROCHA, Érika Viviane Heidenreich da. **Utilization of organic acids and phytase in diets for piglets from 7 to 20 kg.** 2006. 80 p. Dissertation (Master in Animal Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.¹

The objective of this present research was to verify the effect of addition organic acids (OA) with different levels of phytase in diets for piglets. A total of 40 piglets weaned were used in a randomized block design with five treatments and four repetitions. The treatments were constituted by: T1-basal diet with 500 UF/kg (control diet); T2-basal diet with 500 UF/kg + 0.2% complex of OA; T3-basal diet with 450 UF/kg + 0.2% complex of OA; T4-basal diet with 400 UF/kg + 0.2% complex of OA and T5-basal diet with 350 UF/kg + 0.2% complex of OA. Sample of blood and feces were collected from the animals at 14th and 28th of experimental day. At slaughter, the pH of the stomach was measured and removed the 3rd and 4th metatarsals bones. The addition of OA in the 500 UF diet increased ($P<0.05$) the daily average gain compared to the control treatment. There was a quadratic effect ($P<0.05$) on daily average feed intake, and the level 411 UF promoted the lowest feed intake. The normal feces were more frequent in diet 500 UF + OA than in the control on the two last weeks of the experimental period. A linear increase ($P>0.05$) was observed in the urea level in plasma when the enzyme was reduced, at 14th day. In the feces, there was a linear decreased ($P<0.05$) on the content of calcium, at 14th day, and ash, manganese and zinc, at 28th day, when the level of the enzyme was reduced. The level 400 UF shown decrease of magnesium content in the bones. At 14th day of experimental period, there was a quadratic effect ($P<0.05$) on phosphorus availability and the level 429 UF shown the best result. In the same period, the level of 350 UF decreased the phosphorus availability. There was a linear increase ($P<0.05$) on the calcium availability, at 28th day, when the level of phytase was reduced in the diet. There was no difference ($P>0.05$) in the level of plasma minerals, pH of the stomach and bone strength. The organic acids addition to 500 UF diet shown the highest weigh gain and better fecal score, but other variables analyzed were not influenced by the treatments.

¹ **Guidance committee:** Prof. José Augusto de Freitas Lima – DZO/UFLA (adviser); Prof. Elias Tadeu Fialho – DZO/UFLA; Prof. Antônio Gilberto Bertechini – DZO/UFLA.

1 INTRODUÇÃO

A carne suína é uma importante fonte de proteína animal e, no Brasil, tem uma grande importância a produção comercial de suínos. Porém, ainda existe a necessidade de pesquisas para se aprimorar este sistema.

O desmame de leitões tem como consequência uma série de problemas fisiológicos e nutricionais, pois nessa fase de vida, eles não estão preparados fisiologicamente para se alimentar com dietas à base de vegetais. O estresse do desmame também é relacionado com a separação da mãe e à formação de uma nova hierarquia social.

Os aditivos são muito utilizados na nutrição animal como uma possível forma de minimizar estes problemas, podendo melhorar a população microbiana do trato digestório, assim como o aproveitamento de nutrientes pelo animal; conservar os alimentos e diminuir o impacto da contaminação do meio ambiente, evitando que quantidades significativas sejam desperdiçadas. A utilização de aditivos no Brasil torna-se importante quando se procura um máximo aproveitamento dos nutrientes das dietas. Sendo assim, há a necessidade de pesquisas mais consistentes sobre a utilização de aditivos na alimentação de leitões.

Dentre os diferentes aditivos, destacam-se os ácidos orgânicos e as enzimas. Os ácidos orgânicos trazem benefícios importantes à produção de suínos, principalmente na fase de creche, pois acidificam o trato digestório do animal, impedindo ou retardando o crescimento de microorganismos indesejáveis, como a *E. coli*. Os acidificantes atuam reduzindo o pH do estômago, local onde ocorrem as primeiras reações enzimáticas. A fitase é uma enzima que possibilita a disponibilização do fósforo e outros minerais que se encontram complexados com o fitato, como cálcio, zinco, ferro e manganês,

entre outros. Uma maior disponibilidade desses elementos no trato digestório dos animais diminui os gastos da inclusão de minerais inorgânicos na ração, além de contribuir para uma menor poluição ambiental.

Como a melhor atividade enzimática da fitase ocorre em pH mais baixos, a redução do pH do estômago causada pelos acidificantes poderá potencializar o efeito da fitase. Porém, pouco se sabe sobre o efeito da combinação desses dois aditivos na alimentação de leitões recém-desmamados.

O objetivo desta pesquisa foi verificar o efeito da inclusão de ácidos orgânicos em rações com diferentes níveis de fitase para leitões dos 7 aos 20 kg sobre o desempenho, escore fecal, atividade da fosfatase alcalina, níveis de uréia, minerais no plasma, excreção de minerais e mineralização óssea.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Desmame de leitões e produção de HCl

Ao desmame, o leitão passa de uma alimentação líquida e altamente digestível para outra seca e menos digestível. O sistema digestório do leitão deve se adaptar e modificar o pH, a secreção enzimática, a motilidade e a absorção intestinal provocadas pelo novo regime alimentar (Hansen et al., 1993). Os problemas após o desmame estão, principalmente, relacionados com o consumo de rações que não estão adequadas à fisiologia digestiva dos leitões nesta fase, quando a produção de enzimas ainda não é suficiente para o aproveitamento do alimento pelos animais.

O HCl, no estômago dos leitões, tem como função promover um ambiente favorável para a atuação de enzimas, hidrolisar proteínas, disponibilizar minerais e eliminar microrganismos patogênicos que são ingeridos por meio da ração. Segundo Bolduan et al. (1988b), a secreção de HCl é controlada, durante a amamentação, por intermédio da formação de ácido láctico no estômago. O leite da porca, apesar de possuir alta capacidade tamponante, é mais fácil de acidificar que outros alimentos de origem vegetal, por conter lactose (Bartels & Penz Jr, 1996; Delforge, 1987). Os animais adultos ajustam o pH gástrico por intermédio da secreção desse ácido pelas células parietais. Entretanto, em leitões recém-desmamados, a situação é diferente, pois estes animais apresentam o pH gástrico mais elevado e mais variável em relação a animais adultos. Este fato deve-se à baixa produção de enzimas, nesta fase, pelos leitões.

Um alto pH gástrico poderia causar a redução da ativação da pepsina que ocorre rapidamente em pH 2,0 e muito lentamente em pH 4,0, conforme Taylor (1962), citado por Gomes (2005). A atividade desta enzima reduz em pH acima de 3,6 e não apresenta nenhuma atividade em pH 6,0. Como resultado, a

elevação do pH poderia baixar a atividade proteolítica no estômago e a proteína ingerida poderia entrar no intestino intacta, resultando em uma redução na eficiência da hidrólise de proteínas (Gomes et al., 2005).

Portanto, presume-se que a insuficiência digestiva e as desordens intestinais de leitões recém-desmamados podem estar parcialmente relacionadas à condição de não manterem o pH gástrico baixo, pelos seus efeitos sobre a ativação da pepsina, pela proliferação de coliformes e pela taxa de esvaziamento estomacal (Rostagno & Pupa, 1998).

2.2 Utilização de ácidos orgânicos em rações para leitões

Em leitões que consomem rações contendo ácidos orgânicos, a capacidade de redução do pH do trato gastrintestinal é, em muitos trabalhos, medida pela redução da população microbiana no trato digestório.

Ácidos orgânicos são substâncias que contêm uma ou mais carboxilas em sua molécula, classificação na qual podem ser incluídos os aminoácidos e os ácidos graxos. Em geral, quando os ácidos orgânicos são utilizados em rações para leitões, tratam-se de ácidos fracos, de cadeia curta, que produzem menor quantidade de prótons por molécula ao se dissociarem (Dibner & Buttin, 2002). São produzidos naturalmente no trato digestório do animal, no intestino grosso e no rúmen, como resultado da fermentação bacteriana anaeróbica da fibra dietética, amido não-digerível e proteínas.

Os ácidos orgânicos e inorgânicos podem ser utilizados para aumentar a conservação dos ingredientes e rações. Entretanto, o efeito do acidificante na ração sobre o desempenho dos suínos depende da idade dos animais, da composição da ração e da presença ou ausência de antimicrobianos. As quantidades de acidificantes utilizadas dependem da capacidade em reduzir o

pH. Possuem efeito acidificante da ração, inibindo ou retardando, dessa forma, o desenvolvimento de microrganismos por abaixarem o pH da ração. Em geral, a eficiência do ácido na inibição de microrganismos é dependente do seu valor de pKa, que é o valor de pH no qual 50% do ácido está dissociado. Quando o ácido está na forma não-dissociada, este pode difundir-se livremente através da membrana semi-permeável do microrganismo para seu citoplasma celular. Uma vez dentro da célula, em um ambiente mais alcalino, libera o próton, resultando em diminuição do pH intracelular. Isso influencia no metabolismo microbiano, inibindo a ação de importantes enzimas e forçando a célula bacteriana a usar energia para liberar prótons, conduzindo a uma acumulação intracelular de ânions e reduzindo, conseqüentemente, sua taxa de crescimento (Russell, 1992). A taxa de absorção do ácido depende, sobretudo, do pKa e do pH luminal, pois, quando este é menor que o pKa do ácido correspondente, há uma maior quantidade do ácido na forma não dissociada e este é absorvido mais rapidamente.

É comum encontrar efeitos de redução do pH no estômago quando se utilizam ácidos orgânicos (Burnell et al. 1998; Radcliffe et al. 1998; Rice et al., 1999). Com a diminuição do pH e do esvaziamento estomacal, as moléculas de proteínas podem ser mais hidrolisadas, havendo um efeito benéfico na digestão. De acordo com Schöner (2001), a adição de ácidos orgânicos induz a uma rápida redução do pH no estômago, resultando em um menor tempo para se atingir um pH ótimo entre 3 e 4.

Quando um complexo de ácidos orgânicos é usado nas rações como acidificante, este pode ser mais eficiente que quando usado isoladamente, por causa da grande variedade de ácidos existentes, de suas características químicas e da capacidade de acidificação de cada um no trato digestório.

A utilização do ácido benzóico na alimentação pode ser associada ao poder acidificante sobre o trato digestório do animal, promovendo o

abaixamento do pH e seus benefícios quanto à diminuição da colonização patogênica de microrganismos e melhor aproveitamento dos nutrientes da ração. De acordo com Maribo et al. (2000), o ácido benzóico se revelou melhor que outros ácidos testados em inibir o crescimento de coliformes. Também concluíram que este ácido foi tão eficiente quanto o ácido lático na acidificação do estômago e do intestino delgado. Os mesmos autores realizaram um estudo no qual forneceram uma ração suplementada com ácido benzóico e concluíram que a ração revelou uma marcante redução na densidade e na atividade da microbiota gastrintestinal somadas a uma melhora no crescimento do animal.

A utilização do ácido fumárico tem sido bem estudada. Blank et al. (1999) utilizaram uma ração sem ácido fumárico e outras três adicionando 1%, 2% e 3% do ácido para leitões canulados e desmamados aos 14 dias de idade, concluindo que a utilização do ácido melhorou a digestibilidade ileal da proteína bruta e da maioria dos aminoácidos. Segundo Kirchgessner & Roth (1982), a ação promotora de crescimento do ácido fumárico pode ser atribuída não apenas ao efeito gastrintestinal, mas também a uma melhora na utilização da energia e da proteína no metabolismo intermediário. A adição do ácido fumárico proporcionou melhoria no desempenho de leitões e suínos em crescimento, estimulando o consumo alimentar, melhorando o ganho de peso e a eficiência alimentar. Os níveis mais efetivos foram os de 1,5% a 2,0% para leitões recém-desmamados.

Tsiloyiannis et al. (2001) trabalharam com o ácido cítrico na concentração de 1,5%, em comparação ao antibiótico enrofloxacin a 50 ppm, no controle de *E. coli* enterotoxigênica e constataram que a ração contendo o ácido cítrico foi tão eficiente quanto o antibiótico no controle deste microrganismo.

2.3 O fósforo e o fitato

Segundo Scott et al. (1982), o fósforo (P) exerce uma importante função no metabolismo de carboidratos, aminoácidos e gorduras, envolvendo os tecidos musculares, nervosos, esqueléticos e adiposo, dentre outros. Além disso, o fosfato é parte importante dos ácidos nucleicos, DNA e RNA, além de ser componente de muitas coenzimas e de estar envolvido no armazenamento e na transferência de energia como parte de compostos fosforilados e compostos de alta energia, como ATP e ADP.

A exigência de fósforo pelos suínos está diretamente ligada à idade do animal. Segundo Maddaiah et al. (1964) e Vieira (1999), citados por Silva (2003), o fitato pode ser degradado pela ação de fitases. Esta enzima pode estar presente nos ingredientes, ser sintetizada nas microvilosidades intestinais ou ainda ser originada de uma bactéria resistente. Porém, existem controvérsias quanto à possibilidade da presença de atividade de fitase na secreção intestinal e ou de bactérias intestinais. Estudos demonstram que a capacidade de absorção e de utilização deste fósforo varia muito e está em torno de 3% a 42%, de acordo com a concentração de cálcio e da fonte de fibra da dieta. A grande divergência entre os valores obtidos para a capacidade de utilização do fósforo fítico pode ser causada pela natureza complexa do processo de hidrólise do fitato, segundo Sebastian et al. (1998).

A defosforilação do ácido fítico se dá pela ação da enzima fitase (mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase) que causa a remoção do ortofosfato inorgânico (Silva, 2003).

2.4 Enzima fitase

De acordo com Guenter (2002), as enzimas exógenas podem ser adicionadas às rações de leitões com os objetivos de remover ou destruir os fatores antinutricionais dos grãos, aumentar a digestibilidade total da ração, potencializar a ação das enzimas endógenas e diminuir a poluição ambiental causada por nutrientes excretados nas fezes.

Cerca de 90% das dietas para suínos no Brasil são compostas por ingredientes de origem vegetal (milho e farelo de soja). De acordo com NRC (1998), a disponibilidade biológica do fósforo de origem vegetal para suínos varia entre 15% e 50%, em grãos. Segundo Cromwell (1992), no milho, estes valores, geralmente, são baixos, em torno de 9% a 18%.

Na fase de maturação dos grãos de uma planta, esta transloca os minerais extraídos do solo para as sementes e o fósforo é transportado na forma de fitato. Essa é a forma de armazenamento do fósforo nos vegetais, que faz parte da molécula de ácido fítico (hexa-fosfato de inositol) (Jongbloed, 1987). Por causa do seu grupo ortofosfato altamente ionizado, este pode se complexar com alguns cátions (Ca, Mn, Fe, Cu e Zn, entre outros), grupo amina de alguns aminoácidos (lisina, arginina e histidina) e, ainda, moléculas conjugadas de glicose, especialmente do amido. Este complexo caracteriza o fitato como fator antinutricional, pois diminui a disponibilidade de minerais, proteínas e energia (MORRIS, 1986). Como consequência, as fezes dos animais apresentam altas quantidades de fitato e nitrogênio, o que representa uma perda destes elementos, uma vez que não estão sendo absorvidos pelo organismo dos animais. Estes minerais presentes em excesso no solo acarretam problemas sérios para o meio ambiente (Cromwell, 1992).

O ácido fítico é um composto orgânico considerado a principal forma de armazenamento do fósforo nas plantas, contendo, aproximadamente, 28% de fósforo em cada molécula, que possui baixo peso molecular, com seis carbonos e

seis grupos fosfato na sua estrutura. A estrutura do ácido fítico, encontra-se na Figura 1.

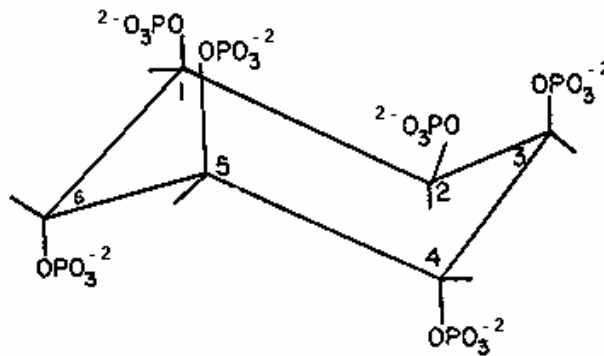


FIGURA 1: Estrutura e configuração do ácido fítico (mioinositol), adaptada de Spinelli (1978).

A fitase (mioinositol hexafosfato fosfohidrolase) é uma enzima que hidrolisa o fitato a inositol e fosfato inorgânico (BELLAVÉR, 1983). Segundo Sebastian et al. (1998), alguns alimentos apresentam alta atividade endógena da fitase, tais como o centeio, o triticale, o trigo e a cevada, porém, alimentos como o milho, a aveia, o sorgo e as oleaginosas apresentam baixa ou nenhuma atividade desta enzima.

Lüdke et al. (2000) trabalharam com níveis de fitase de 0, 300, 600 e 900UF/kg da ração e observaram que o ganho de peso aumentou e a conversão alimentar melhorou linearmente com a adição de fitase para suínos em crescimento. Observaram também que os níveis de fitase entre 220 a 508 UF/kg da ração aumentaram a biodisponibilidade dos nutrientes. De acordo com Selle et al. (1996), as melhores respostas da fitase sobre o ganho de peso e a conversão alimentar são indicativos de que houve a liberação de fósforo fítico e, possivelmente, a liberação de aminoácidos presentes. Mroz et al. (1994)

trabalharam com fitase 800 UF/kg da ração e verificaram que a inclusão da enzima melhorou a digestibilidade total no trato digestório, da matéria seca, do cálcio, do fósforo e da maioria dos aminoácidos. Liu et al. (1998) encontraram maior digestibilidade da proteína ao adicionarem 500 UF/kg em rações, com relações Ca:P de 1,5:1 a 1,0:1. Kies et al. (2005) observaram que a absorção aparente de Ca, P, Na e K foi significativamente maior em rações contendo 1500 UF para leitões com 21 dias, durante três semanas. Silva (2003) trabalhou com dietas para suínos em crescimento e concluiu que a suplementação com fitase melhorou o coeficiente de digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos essenciais e também a taxa de absorção de Ca e P. Entretanto, Pallauf et al. (1994), utilizaram rações suplementadas com 0, 350 e 750 UF/kg da ração, com níveis iguais de cálcio e verificaram que a absorção aparente do fósforo pelos leitões na fase inicial aumentou de 54% para 66% e de 54% para 71% nos respectivos níveis de fitase adicionados. Além disso, os autores constataram um aumento na quantidade de cálcio retido com a adição da enzima.

2.5 Fitase associada a ácidos orgânicos

Segundo Jongbloed et al. (1992) e Yi & Kornegay (1996), o local principal de ação da fitase é o estômago. Alguns estudos mostram que a atividade ótima da fitase ocorre em dois picos de pH: o pico maior é em torno de 5,0 a 5,5 e o segundo pico em torno de 2,5 (Simons et al., 1990), como mostrado na Figura 2. Entretanto, uma grande porção da digesta gástrica deixa o estômago dos suínos rapidamente após o consumo e tem um pH muito alto para uma ótima atividade da fitase (Jongbloed et al., 1992). Além disso, a acidificação da dieta pode reduzir a taxa de esvaziamento gástrico (Mayer, 1994).

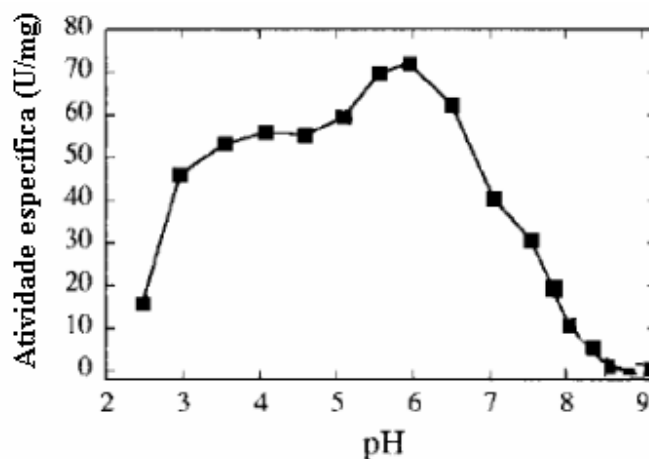


FIGURA 2: Atividade específica da fitase de *Aspergillus niger*, adaptada de Thosky (2002).

Como os ácidos orgânicos são conhecidos por acidificarem a dieta, se o pH da digesta for reduzido, a eficiência de utilização da fitase pode ser melhorada com a adição destes ácidos. Scipioni et al. (1978) relataram que a inclusão de ácido cítrico na dieta de leitões com 42 dias de idade reduziu o pH do estômago de 4,5 para 3,5. Maenz et al. (1999) relataram que a inclusão de quelatos às dietas de suínos e aves pode remover os cátions que estão ligados à molécula de fitato e pode aumentar o nível de susceptibilidade da enzima pelo substrato. Nesse estudo, o citrato foi eficiente em melhorar a atividade da fitase para liberar fósforo inorgânico, além de melhorar a retenção de fósforo e minerais no teste *in vitro*. Os trabalhos de Zhu et al. (1990) e Zyla et al. (1995) mostraram que o citrato foi eficiente em aumentar a hidrólise do substrato pela enzima.

Jongbloed et al. (1996) realizaram um estudo para avaliar os efeitos de uma dieta contendo ácido orgânico sobre a eficiência da fitase e verificaram que a adição de ácido láctico aumentou a utilização de fósforo digestível em 0,24 g/kg. Omogbenigun et al. (2003) analisaram a inclusão de fitase em um

complexo de ácidos orgânicos (cítrico, málico, fosfórico, sórbico, tartárico e láctico) e verificaram que a hidrólise da molécula de fitato no estômago teve uma melhoria de 56% nas rações contendo fitase e ácidos orgânicos e de 43% nas rações contendo somente a enzima. No ensaio *in vitro*, a hidrólise também foi maior nas dietas contendo os dois aditivos. Além disso, os autores verificaram que houve um aumento na digestibilidade do fósforo de 85% na ração com fitase associada a ácidos orgânicos, quando comparada com uma ração basal, sem adição de fitase. Quando os animais consumiram a ração com os dois aditivos, a excreção de fósforo foi 19% menor que na ração basal.

Boling et al. (2000) verificaram o efeito da inclusão de ácido cítrico nos níveis de 0%, 3% e 6%, em dietas com fitase (1.450 UF/kg), para leitões e observaram que houve uma melhora na conversão alimentar dos animais, mas que as respostas com aves foram melhores do que com suínos. Em outro experimento, estes autores analisaram os níveis de inclusão de 0%, 1%, 2% e 3% de ácido cítrico com o mesmo nível da enzima e verificaram que a inclusão de 2% de ácido cítrico aumentou o ganho de peso dos animais e, no, níveis de 2% e 3%, a conversão alimentar foi melhorada. Entretanto, não houve aumento na porcentagem de cinzas nos ossos.

Radcliffe et al. (1998) estudaram o efeito da inclusão de três níveis de ácido cítrico (0%, 1,5% e 3%) e quatro níveis de fitase (0, 250, 500 e 750 UF/kg) e suas combinações. Os autores encontraram efeitos positivos com a inclusão destes aditivos, sobre crescimento e eficiência alimentar, além de melhoria da digestibilidade da matéria seca, do cálcio e do fósforo, porém, não encontraram efeitos associativos. Além disso, observaram que o abaixamento do pH gástrico não aumentou a eficiência de utilização da fitase. Han et al. (1998) verificaram que a suplementação de 0,2% de fósforo inorgânico pode ser substituída pela adição de 300 UF/kg da ração e 1,5% de ácido cítrico em rações para suínos em crescimento contendo milho + farelo de soja + trigo industrial.

Por outro lado, Radcliffe & Kornegay (1998) relataram que, quando altos níveis de fitase são suplementados em rações contendo ácido cítrico, existe uma diminuição da atividade da fitase no estômago, apesar de esta redução, aparentemente, não ter afetado a eficiência da enzima.

2.6 Fosfatase alcalina

A fosfatase alcalina é uma enzima presente em praticamente todos os tecidos do organismo, especialmente nas membranas das células dos túbulos renais, ossos (osteoblastos), placenta, trato intestinal e fígado. Portanto, a fosfatase alcalina encontrada no soro é resultado da presença de diferentes isoenzimas originadas em diferentes órgãos, com predomínio das frações ósseas e hepáticas.

O valor da fosfatase alcalina pode aumentar na hepatopatia aguda, mas, freqüentemente, está dentro dos limites normais. Embora a necrose seja uma característica mais típica de hepatite aguda, também podem ocorrer colestase e aumento da atividade da fosfatase alcalina. Este aumento pode estar relacionado a distúrbios extra-hepáticos, tais como enfermidades ósseas (Fenner, 1985).

De acordo com Medway (1981), esta enzima hidrolisa os fosfatos orgânicos em fosfato inorgânico e uma fração orgânica. Seu pH ótimo está em torno de 9,5. As neoplasias ósseas malignas causam, às vezes, níveis elevados dessa enzima.

Na prática clínica, a grande utilidade está na investigação de doenças hepatobiliares e nas doenças ósseas, que promovem um aumento da atividade osteoblástica. Nas neoplasias, os níveis da fosfatase alcalina são úteis para avaliar a presença de metástases envolvendo fígado e osso. Valores muito elevados são observados em pacientes com lesões osteoblásticas. Os ossos

encontram-se em constante processo metabólico de remodelação. Isso inclui a degradação e a reabsorção óssea, que são mediadas pelos osteoclastos e os processos de estruturação e formação óssea mediados pela ação dos osteoblastos. A remodelação óssea é necessária para a manutenção da saúde global e da firmeza dos ossos. Para isso, é importante um equilíbrio entre os processos de reabsorção e formação dos ossos. Em estados alterados do metabolismo ósseo, esses processos se dissociam, ou seja, perdem o equilíbrio. A fosfatase alcalina óssea é uma glicoproteína específica encontrada na superfície dos osteoblastos. Sua função ainda não está de todo elucidada, porém, seu papel na mineralização do esqueleto está confirmado. A avaliação da atividade sérica da fosfatase alcalina óssea é um marcador de “turnover” ósseo que fornece informações úteis do remodelamento ósseo. Qualquer condição em que haja algum problema ósseo, como doença de Paget, sarcoma, doença metastática, hiperparatireoidismo e raquitismo, pode elevar a concentração da fosfatase alcalina. (<http://www.diagnosticosdaamerica.com.br>).

O nível de fosfatase alcalina no sangue é um bom indicador da velocidade de formação óssea (Christenson, 1997; Parthemore et al., 1993). Quando se reduzem os níveis de fósforo de uma ração, o nível de fosfatase alcalina no sangue aumenta (Koch et al., 1984).

2.7 Resistência dos ossos à quebra

A força aplicada aos ossos durante o teste de resistência é um parâmetro que pode ser usado para a determinação da densidade de mineralização óssea. A força de cisalhamento é definida como força realizada no osso por área e não é a única medida de força empregada nos testes de resistência, mas, é muito usada por considerar a área geométrica do osso. Além disso, o teste de cisalhamento é

independente da orientação do osso, no momento do teste, e do comprimento do osso, o qual é corrigido quando se colocam os valores na fórmula.

As características físicas dos ossos têm sido utilizadas para a verificação da mineralização. Hayes et al. (1979) concluíram que a força de quebra do osso constitui a melhor maneira de estimar a biodisponibilidade do fósforo da dieta.

A maior disponibilização de minerais para o metabolismo animal interfere na quantidade destes incorporadas aos ossos. Yi et al. (1996) observaram que, à medida em que foi se adicionando fitase (0, 300, 700, 1.050 e 1.400 UF/kg) às rações de leitões, a força de resistência dos ossos metacarpianos à quebra foi aumentada. Denbow et al. (1998) verificaram que a inclusão de fósforo à ração de frangos de corte aumentou a resistência dos ossos da tíbia à quebra. Brenes et al. (2003), em experimentos com frangos de corte, constataram que o uso do ácido cítrico melhorou a utilização do fósforo e a força de quebra da tíbia dos frangos foi aumentada. No entanto, Qian et al. (1996) observaram que a força de cisalhamento dos ossos metacarpianos não foi afetada pela relação cálcio:fósforo total versus fósforo disponível e relação cálcio:fósforo total versus fitase para leitões recém-desmamados que receberam rações que continham 700 ou 1.050 UF/kg, supondo que estes fatores são independentes.

Dessa forma, a adição de ácidos orgânicos às rações de leitões poderá promover uma redução do pH no trato digestório, ocorrendo um ambiente mais favorável à atuação da fitase e, como consequência, uma maior disponibilização de minerais para os animais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização

O experimento foi conduzido no Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), localizada no município de Lavras, região Sul do estado de Minas Gerais, latitude 21°14'30''(S), longitude 45° (O) e altitude de 910 metros, durante o período de 04/02/2006 a 06/03/2006. O clima da região, segundo a classificação Köppen, é do tipo Cwb, tropical úmido, com duas estações definidas: chuvosa (novembro/abril) e seca (maio/outubro) (Ometo, 1981).

3.2 Instalações experimentais

O experimento foi conduzido em creche experimental, que possui vinte baias (2,0 x 1,20m), de concreto armado, totalmente ripada, com comedouros semi-automáticos e bebedouros tipo chupeta. Antes do alojamento dos animais, procedeu-se à limpeza e à desinfecção das instalações, que permaneceram vazias por um período de sete dias. A temperatura foi anotada diariamente, às 8:00 e 17:00 horas, e semicontrolada com lâmpadas e ventiladores. A tabela contendo as temperaturas mínimas e máximas encontra-se na tabela 20A do anexo.

3.3 Animais e manejo

Foram utilizados 40 leitões mestiços (Landrace x Large White), desmamados aos 30 ± 5 dias de idade, com peso inicial de $7,8 \pm 0,8$ kg. Os animais foram transferidos para a unidade experimental, de maneira que ficassem dois animais por baia, onde receberam os tratamentos e água à vontade.

O experimento teve a duração de 28 dias e, ao final, um animal de cada baia foi abatido.

3.4 Rações experimentais

As rações foram formuladas para atender às exigências nutricionais dos leitões para o período de 21 aos 49 dias de idade, de acordo com o NRC (1998), sendo isoenergéticas e isonutritivas. O teor de fósforo disponível foi reduzido para 0,26%, em função da adição de fitase. A enzima e o complexo de ácidos orgânicos (AO) utilizados no presente trabalho foram de origem comercial, sendo a fitase originada de *Aspergillus niger*, contendo 10.000 UF/g e o complexo de ácidos orgânicos composto por: ácido benzóico – 300g/kg; ácido cítrico – 100g/kg; ácido fumárico – 100g/kg; ácido fosfórico – 85g/kg; veículo – 415g/kg. Para o tratamento controle, o nível de fitase estabelecido foi o recomendado pelo fabricante (500 UF/kg). A inclusão do complexo de ácidos orgânicos também promoveu em função da recomendação do fabricante para leitões, na fase de creche.

As dietas experimentais fornecidas aos leitões foram: T1: dieta basal contendo 500 UF/kg; T2: dieta basal contendo 500 UF/kg + 0,2% do complexo de ácidos orgânicos; T3: dieta basal contendo 450 UF/kg + 0,2% do complexo de ácidos orgânicos; T4: dieta basal contendo 400 UF/kg + 0,2% do complexo de ácidos orgânicos e T5: dieta basal contendo 350 UF/kg + 0,2% do complexo de ácidos orgânicos.

A composição dos ingredientes das rações experimentais e a composição percentual das rações estão apresentadas nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1: Composição e valores energéticos dos ingredientes utilizados na formulação das rações experimentais.

Ingrediente¹	MS (%)	PB (%)	EM (kcal/kg)³	Ca (%)³	Pd (%)³
Milho	89,37 ²	7,83 ²	3340	0,03	0,08
Farelo de soja	88,62 ²	43,15 ²	3154	0,24	0,18
Farelo de glúten	90,95 ³	60,35 ³	3929	0,03	0,15
Óleo de soja	-	-	8300	-	-
Soro de leite em pó	95,49 ³	10,00 ⁴	3322	0,75	0,68
Fosfato bicálcico	-	-	-	24,80	18,50
Calcário calcítico	-	-	-	38,40	-

¹ Valores expressos em matéria natural.

² Valores segundo análises realizadas no Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia da UFLA.

³ Valores segundo Rostagno et al. (2005).

⁴ Valor fornecido pelo fabricante.

TABELA 2: Composição percentual das rações experimentais.

Ingredientes (%)	Tratamentos				
	T1	T2	T3	T4	T5
Milho	46,00	46,00	46,00	46,00	46,00
Farelo soja	31,50	31,50	31,50	31,50	31,50
Far. glútem	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de soja	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Soro de leite em pó	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Fosf. bicálcico	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Calcário calcítico	1,48	1,48	1,48	1,48	1,48
Sal iodado	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Px. vitamínico ¹	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Px. mineral ²	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Avilamicina ³	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Colistina ⁴	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Fitase ⁵	0,005	0,005	0,0045	0,004	0,0035
Ácidos orgânicos	0	0,20	0,20	0,20	0,20
Óx. crômico	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Caolim	0,80	0,60	0,60	0,60	0,60
Valores calculados					
Proteína bruta (%)	22,30	22,30	22,30	22,30	22,30
Energia met. (kcal/kg)	3291	3291	3291	3291	3291
Lisina total (%)	1,04	1,04	1,04	1,04	1,04
Cálcio (%)	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85
Fósforo disp. (%)	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26

¹ Composição por kg do suplemento: vitamina A (12.000.00 UI), vitamina D₃ (1.800.000 UI), vitamina E (35.000 mg), vitamina K₃ (4.000 mg), tiamina (B₁) (2.500 mg), riboflavina (B₂) (5.000 mg), piridoxina (B₆) (3.000 mg), vitamina B₁₂ (30.000 mcg), niacina (30.000 mg), ácido pantotênico (15.000 mg), biotina (100 mg), ácido fólico (800 mg), vitamina C (100.000 mg) e antioxidante (125 mg).

² Composição por kg do suplemento: cobalto (500 mg), cobre (20.000 mg), ferro (70.000 mg), iodo (800 mg), manganês (40.000 mg), selênio (500 mg) e zinco (80.000 mg).

³ Surmax 100.

⁴ Colistin 80%.

⁵ Fitase: 10.000 UF/g.

3.5 Procedimento experimental

3.5.1 Desempenho e incidência de diarreia

Durante todo o período experimental (28 dias), ração e água foram fornecidos à vontade. Os suínos foram pesados ao final do experimento para avaliar o desempenho durante a fase de creche. A quantidade de ração fornecida a cada parcela foi pesada diariamente e as sobras foram subtraídas. Foram avaliados o ganho de peso médio diário (GPMD), o consumo de ração médio diário (CRMD) e a conversão alimentar (CA).

Os escores fecais foram mensurados diariamente, pela manhã, sendo estabelecidos de acordo com Zangeronimo et al. (2006): escore 0: fezes normais; escore 1: fezes moles; escore 2: fezes pastosas e escore 3: fezes aquosas.

3.5.2 Abate dos animais

O abate dos animais foi realizado ao final do período experimental (28 dias) e foi constituído por duas etapas, tendo, cada uma, cinco animais sido retirados por vez de suas respectivas baias. Os animais foram insensibilizados por meio de um choque elétrico, sendo a sangria feita logo em seguida. Os animais foram eviscerados, o estômago retirado e, imediatamente, feita uma incisão para a introdução do eletrodo de um medidor de pH (F – 1002), que foi calibrado três vezes antes da avaliação de cada víscera, de acordo com metodologia de Alvarenga et al. (2006). O tempo médio, desde o abate até a evisceração dos animais, foi de 20 minutos. A seguir, foi feita uma homogeneização do conteúdo gástrico e um eletrodo foi introduzido diretamente na incisão e mensurado o valor de pH.

3.5.3 Fosfatase alcalina, uréia e minerais no plasma

Para a determinação da atividade da fosfatase alcalina, níveis de uréia, teores de cálcio, fósforo, manganês, magnésio e zinco no plasma, amostras de sangue foram coletadas no *sinus orbital* dos leitões, na metade do experimento, aos 14 dias. No final do experimento, aos 28 dias, as amostras foram coletadas durante a sangria. As análises foram realizadas em um Laboratório de Análises Clínicas da cidade de Lavras.

A metodologia usada para a determinação das variáveis analisadas foi por kits comerciais, sendo os teores de zinco, manganês e fósforo por espectrofotometria de absorção atômica, cálcio por colorimetria, magnésio por reagente de cor azul de xilidina, uréia pelo método enzimático e fosfatase alcalina pelo método cinético otimizado.

3.5.4 Teste de resistência dos ossos à quebra

Após a obtenção da carcaça quente, foram retirados o terceiro e o quarto ossos metatarsianos dos animais, de acordo com a metodologia descrita por Combs et al. (1991). Os ossos foram identificados com placas de alumínio, numerados e fixados com arame e, em seguida, descarnados e acondicionados em freezer. Para a análise de resistência, somente o quarto metatarso foi submetido ao teste de compressão. O teste foi realizado no Laboratório de Tecnologia da Madeira, no Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras. Os ossos tiveram as medidas da base, altura e comprimento tomadas para a realização do teste. O equipamento utilizado foi a Máquina de Ensaio Universal (EMIC DL-30000). A força foi aplicada aos ossos na velocidade de 10 mm/min, de acordo com Combs et al. (1991) e a distância entre os dois apoios foi de 3 cm. A força aplicada pela máquina foi na parte mediana do osso, como mostrado na Figura 3. A força máxima requerida para causar uma fissura nos ossos foi mensurada e gravada eletronicamente.

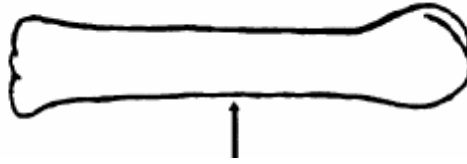


FIGURA 3: Ponto médio é o local onde a força de compressão foi aplicada e as dimensões do raio e densidade da parede foram mensuradas.

Após o teste de compressão, os ossos foram cortados na metade, para o que utilizou-se uma serra. As dimensões da parede no ponto central dos ossos foram tomadas de acordo com a Figura 4, utilizando-se um paquímetro digital.

Para comparar a força requerida para produzir uma falha, ou trincamento nos ossos, a unidade usada foi a tensão (força por unidade de área), a qual foi calculada de acordo com Combs et al. (1991). A tensão foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Tensão} = (0,106 \times F_{\text{max}} \times C) / [(0,44 \times r^2 \times t) - (1,32 \times r \times t^2)], \text{ sendo:}$$

F_{max} = força máxima, dada pelo equipamento durante o ensaio;

C = distância entre os dois apoios, em centímetros (cm);

r = raio do osso;

t = densidade da parede.

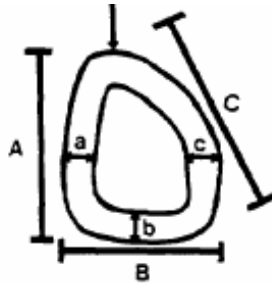


FIGURA 4: Medidas de referência para os cálculos de resistência à quebra, sendo: raio = $(A + B)/2$; densidade da parede = $(a + b + c)/3$; C = comprimento longitudinal do osso.

3.5.5 Teor de cinzas e minerais nos ossos metatarsianos, rações e fezes

Para a determinação de minerais e cinzas dos ossos, foi usado o mesmo material submetido ao teste de resistência. Após o teste, os ossos foram levados a uma estufa ventilada, a 65°C, por 72 horas. Em seguida, a gordura foi retirada com éter etílico, em extrator Soxlet, por dois dias. Depois, o terceiro e o quarto metatarsos foram moídos juntos e submetidos à incineração em mufla, a 550°C, por seis horas, para a avaliação das cinzas, de acordo com a metodologia para a determinação de minerais.

Foram feitas duas fases de coletas de fezes durante todo o experimento: uma fase ao 13º, 14º e 15º dias de experimento, a outra ao 26º, 27º e 28º dias, totalizando três dias de coleta. As fezes foram coletadas na baía, de onde foram retiradas somente fezes consistentes (de escore 0 e 1). As amostras foram pesadas e levadas à estufa a 65°C, por cinco dias. Após a determinação da matéria pré-seca, as fezes e as rações experimentais foram levadas à estufa a 105°C e submetidas à incineração em mufla, a 550° C, por seis horas. A determinação de cálcio foi obtida por permanganatometria e os outros minerais por espectrofotometria de absorção atômica, de acordo com a metodologia da AOAC (1990). Foi adicionado óxido crômico (0,25%) às rações, como um

indicador de digestibilidade para a determinação do teor de minerais excretados durante esses três dias.

O cálculo da digestibilidade aparente dos minerais foi feito de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Digestibilidade (\%)} = [1 - (M_f \times C_d) / (M_d \times C_f)] \times 100, \text{ sendo:}$$

M_f = concentração do mineral nas fezes; M_d = concentração do mineral na dieta; C_f = concentração de Cr_2O_3 nas fezes e C_d = concentração de Cr_2O_3 na dieta. Todas as concentrações estão em porcentagem da matéria seca, de acordo com Omogbenigun et al. (2003).

3.6 Delineamento experimental e análise estatística

Foram avaliados o GPMD, CRMD, CA, incidência de diarreia, pH estomacal, teores de fosfatase alcalina e uréia no plasma, teores de minerais no plasma, ossos e fezes, disponibilidade do cálcio e do fósforo e resistência dos ossos à quebra. O modelo estatístico foi em blocos casualizados, com cinco tratamentos e quatro repetições. Para as variáveis de desempenho e incidência de diarreia, a unidade experimental foi constituída por dois animais. Para as outras variáveis, foi usado um animal por unidade experimental. O critério utilizado para a formação dos blocos foi o peso inicial.

Foi realizada uma análise global com todos os tratamentos, com o objetivo de obter o quadrado médio do resíduo para testar os níveis de fitase e realizar o teste de Dunnett a 5%, comparando-se o tratamento controle com cada um dos demais tratamentos.

O modelo estatístico utilizado para todas variáveis, exceto incidência de diarreia, foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + e_{ij}$$

Em que:

Y_{ij} → valor observado na parcela que recebeu o tratamento i e que se encontra no bloco j ;

μ → constante associada a todas as observações;

T_i → efeito do tratamento i , sendo $i = 1, 2, 3, 4$ e 5 ;

B_j → efeito do bloco j , sendo $j = 1, 2, 3$ e 4 ;

e_{ij} → erro aleatório atribuído à observação Y_{ij} que, por hipótese, tem distribuição normal de média zero e variância σ^2 .

Para a incidência de diarreia, as análises foram realizadas pelo programa estatístico SAEG 9.0, para uma análise não paramétrica, pelo teste de Kruskal-Wallis, produzido por Ribeiro Júnior (2001).

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o pacote estatístico Sisvar, produzido por Ferreira (2000), sendo os resultados dos tratamentos, sem o adicional, submetidos à análise de regressão e comparados com o adicional, pelo teste de Dunnett, ($P < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desempenho, escore fecal e pH do estômago

4.1.1 Desempenho

Os resultados do ganho de peso médio diário (GPMD), consumo de ração médio diário (CRMD) e conversão alimentar (CA) dos animais estão apresentados na Tabela 3.

TABELA 3: Ganho de peso médio diário (GPMD), consumo de ração médio diário (CRMD) e conversão alimentar (CA) de leitões alimentados com diferentes níveis de fitase, contendo ou não ácidos orgânicos (AO).

Tratamentos	Variáveis		
	GPMD(g/dia)	CRMD (g/dia) ¹	CA
Basal + 500UF + AO	471*	755	1,60
Basal + 450UF + AO	417	673	1,61
Basal + 400UF + AO	383	620	1,62
Basal + 350UF + AO	417	698	1,67
MÉDIA	422	754	1,63
P	NS	0,05	NS
Basal + 500UF	375	642	1,72
CV(%)	10,81	10,43	5,18

* Média diferente do tratamento controle, pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

¹ Regressão quadrática significativa ($P < 0,05$).

Os resultados indicam que a dieta contendo 500 UF/kg + AO proporcionou um GPMD significativamente maior ($P < 0,05$) em relação à ração controle. Isso significa que, ao se adicionar AO as rações contendo 500 UF, ocorre um aumento no ganho de peso dos animais. Para as outras variáveis, não foram encontradas diferenças significativas ($P > 0,05$), quando comparadas ao tratamento controle. Resultados similares foram encontrados por Valencia et al.

(2002) que observaram um GPMD melhor quando os leitões consumiram rações contendo 1000 UF + ácido acético (1%). Estes autores relatam que a melhoria no desempenho foi devido a uma maior digestibilidade e absorção da maioria dos nutrientes em relação à ração sem a enzima. Resultados semelhantes foram encontrados por Boling et al. (2000) ao observarem que a adição de fitase (1450 UF/kg) à dieta promoveu uma melhora no ganho de peso e na porcentagem de cinzas nos ossos de leitões desmamados aos 21 dias, quando trabalharam com uma dieta que tinha relação Ca: P disponível 6:1 + 3% de ácido cítrico + 3% de citrato de sódio.

Resultados diferentes foram obtidos por Radcliffe & Kornegay (1998), que não observaram interação entre o ácido cítrico e a fitase no desempenho de leitões recém-desmamados. Omogbenigun et al. (2003) também não encontraram efeitos significativos no GPMD em leitões recém-desmamados, quando consumiram uma ração contendo 500 UF + ácidos orgânicos (0,35%). No entanto, Jongbloed et al. (2000) trabalhando com rações que continham ou não várias dosagens de ácido láctico e fórmico e um nível de fitase (500 UF/kg), observaram que, apesar da melhoria no desempenho, para ambos os aditivos, quando usados isoladamente, nenhuma interação foi encontrada.

O melhor resultado para GPMD, possivelmente, foi devido à adição do complexo de ácidos orgânicos, que pode ter promovido uma melhor digestibilidade de proteínas, carboidratos e solubilização dos minerais, possibilitando que os animais tivessem um melhor aproveitamento dos nutrientes.

Constatou-se um efeito quadrático significativo ($P < 0,05$) para o CRMD em função dos níveis de fitase adicionados às dietas experimentais (Figura 4), tendo o nível de 411 UF/kg sido o que proporcionou o menor CRMD.

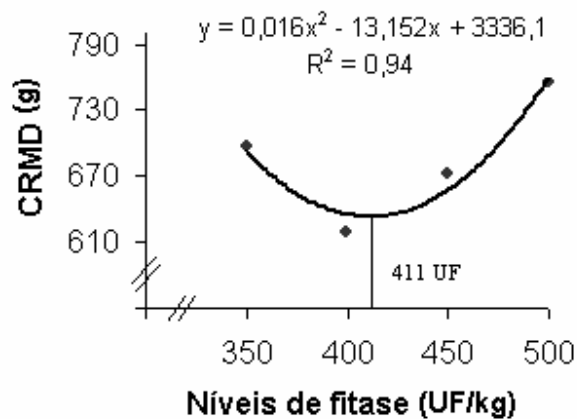


FIGURA 4: Efeito dos diferentes níveis de fitase em rações contendo ácidos orgânicos sobre o consumo de ração médio diário (CRMD) dos leitões dos 7 aos 20 kg, durante os 28 dias experimentais.

Nenhuma diferença dos tratamentos com reduzidos níveis de fitase em relação ao tratamento controle foi observada. Para a CA, também não foram encontradas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os demais tratamentos e o controle. Resultados diferentes foram encontrados por Han et al. (1998), que constataram uma melhoria na conversão alimentar nos animais que consumiram rações contendo 300 UF + ácido cítrico (1,5%) em relação àquela contendo a enzima somente.

De acordo com os resultados obtidos, a redução dos níveis de fitase para 350 UF/kg, ao se adicionar 0,2% do complexo de ácidos orgânicos, não teve diferenças em relação ao tratamento controle para o GPMD, CRMD, CA dos leitões dos 7 aos 20 kg.

No presente experimento, pôde-se constatar que a redução dos níveis de fitase de 500 UF para 350 UF não prejudicou o desempenho dos animais quando se adicionou 0,2% do complexo de AO, possivelmente porque a acidificação da digesta compensou a redução dos níveis de fitase e não foi suficiente para causar prejuízos aos animais.

4.1.2 Escore fecal

Os valores, em porcentagem de ocorrência, referentes ao escore fecal dos animais no primeiro período (até os 14 dias de experimento), no segundo período (do 15° até o 28° dia de experimento) e no período total estão apresentados nas Tabelas 4, 5 e 6, respectivamente.

TABELA 4: Escore fecal, em porcentagem, de leitões desmamados aos 30 dias de idade, de 1 aos 14 dias de creche, alimentados com rações com diferentes níveis de fitase, contendo ou não ácidos orgânicos (AO).

Tratamentos*	Escore fecal (%)			
	Escore 0	Escore 1	Escore 2	Escore 3
Basal + 500UF	36,50	29,24	19,83	14,18
Basal + 500UF + AO	32,27	25,14	21,93	20,67
Basal + 450UF + AO	33,12	22,74	23,81	20,33
Basal + 400UF + AO	31,18	20,04	24,33	24,45
Basal + 350UF + AO	34,14	23,97	26,16	14,40
P	NS	NS	NS	NS

* Não houve diferenças significativas ($P>0,05$).

TABELA 5: Escore fecal, em porcentagem, de leitões desmamados aos 30 dias de idade, dos 15 aos 28 dias de creche, alimentados com rações com diferentes níveis de fitase, contendo ou não ácidos orgânicos (AO).

Tratamentos	Escore fecal (%)			
	Escore 0	Escore 1	Escore 2	Escore 3
Basal + 500UF	28,90a	44,08a	19,18	7,85a
Basal + 500UF + AO	66,93b	25,29a	5,00	2,79ab
Basal + 450UF + AO	44,62ab	33,53a	19,47	2,39ab
Basal + 400UF + AO	59,75ab	26,79a	13,47	0,0b
Basal + 350UF + AO	67,28b	23,84b	9,14	0,0b
P	0,05	0,05	NS	0,05

Médias com letras diferentes na coluna diferem entre si ($P < 0,05$), pelo teste de Kruskal-Wallis.

TABELA 6: Escore fecal, em porcentagem, de leitões desmamados aos 30 dias de idade, no período total do experimento, alimentados com rações com diferentes níveis de fitase, contendo ou não ácidos orgânicos (AO).

Tratamentos*	Escore fecal (%)			
	Escore 0	Escore 1	Escore 2	Escore 3
Basal + 500UF	31,85	37,32	19,64	11,20
Basal + 500UF + AO	46,73	25,91	14,85	12,50
Basal + 450UF + AO	38,36	27,64	21,81	12,20
Basal + 400UF + AO	43,22	23,14	19,80	13,85
Basal + 350UF + AO	51,29	22,98	18,29	7,43
P	NS	NS	NS	NS

* Não houve diferenças significativas ($P > 0,05$).

Do 1° ao 14° dia de experimento, não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos testados. Este resultado pode ter sido

devido ao período de avaliação dos dados, uma vez que foi na época logo após o desmame que, segundo Cera et al. (1988), é quando ocorre uma maior incidência de diarreia.

No período de 14 a 28 dias de experimento, constatou-se que o tratamento controle teve uma menor porcentagem de fezes normais ($P < 0,05$), diferenciando-se dos tratamentos 500 UF e 350 UF. A porcentagem de ocorrência de fezes normais e moles foi maior no tratamento controle, em relação ao tratamento 350 UF + AO, e a ocorrência de fezes aquosas no tratamento controle também foi maior no nível 400 UF + AO. Esses resultados indicam que houve uma melhor consistência de fezes quando adicionou-se os AO à ração. De acordo com Lilienthal et al. (2002), uma melhor consistência fecal é indicativo de boa digestibilidade e melhor aproveitamento de alimento. Portanto, a melhor resposta observada nos tratamentos 350 UF + AO e 400 UF + AO pode ter sido em decorrência de um melhor aproveitamento dos nutrientes pelos leitões, nas últimas duas semanas de experimento. A adição de AO pode ter proporcionado uma melhor atuação enzimática, pelo favorecimento de pH ou por uma maior hidrólise de proteínas e digestibilidade dos minerais.

No período total do experimento, não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos. De maneira geral, a diminuição dos níveis de fitase com a adição de ácidos orgânicos não influenciou o escore fecal, durante todo o período experimental.

4.1.3 PH do estômago

Os valores de pH do estômago estão apresentados na Tabela 7.

TABELA 7: Valores de pH do estômago de leitões em fase de creche, aos 60 dias de idade, alimentados com rações com diferentes níveis de fitase, contendo ou não ácidos orgânicos (AO), ao final de 28 dias de experimento.

Tratamento*	pH do estômago
Basal + 500UF + AO	4,39
Basal + 450UF + AO	3,74
Basal + 400UF + AO	3,82
Basal + 350UF + AO	3,80
MÉDIA	3,94
P	NS
Basal + 500UF *	3,58
CV (%)	21,73

* Não houve diferenças significativas entre os tratamentos, em relação ao controle, pelo teste de Dunnett ($P > 0,05$).

Não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos com reduzidos níveis de fitase em relação ao controle. Apesar da adição do complexo de ácidos orgânicos, o pH não se alterou. Uma possível explicação para esses resultados pode ser devido aos diferentes níveis de inclusão de fitase, que pode ter atuado como um tampão na digesta. Essa hipótese também foi proposta por Rice et al. (2002), que observaram que a inclusão de fitase em rações para suínos em crescimento aumentou o pH do estômago, indicando que houve um aumento no pH estomacal quando a quantidade de enzima adicionada passou de 0 para 454 UF. Porém, a inclusão de ácido cítrico reduziu este pH. Entretanto, Radcliffe et al. (1998) observaram que o pH estomacal não tem relação com a adição de fitase.

Outra possível explicação para os resultados do presente experimento pode estar associada à fase de coleta de dados. Aos 28 dias de experimento, os animais possuem uma maior capacidade de produzir HCl e, por isso, a não

detecção de diferenças entre os tratamentos com ácidos orgânicos em relação àquele sem este aditivo.

4.2 Parâmetros sanguíneos

4.2.1 Atividade da fosfatase alcalina e níveis de uréia no plasma

Os resultados referentes à atividade da fosfatase alcalina (FA) e níveis de uréia no plasma estão apresentados na Tabela 8.

TABELA 8: Atividade da fosfatase alcalina (FA) e níveis de uréia no plasma de leitões alimentados com rações com diferentes níveis de fitase contendo ou não ácidos orgânicos (AO), aos 14 e 28 dias de experimento.

Tratamento	Períodos			
	14 Dias		28 Dias	
	FA (U/L)	Uréia (mg) ¹	FA (U/L)	Uréia (mg)
Basal + 500UF + AO	125,75	31,50	129,00	31,50
Basal + 450UF + AO	118,50	32,25	131,50	32,25
Basal + 400UF + AO	139,25	35,50	127,50	30,25
Basal + 350UF + AO	143,25	34,75	127,75	30,50
MÉDIA	131,69	33,50	128,94	31,13
P	NS	0,05	NS	NS
Basal + 500UF *	125,0	35,25	132,0	31,00
CV(%)	12,27	6,87	5,53	13,70

¹ Regressão linear significativa (P<0,05).

* Não houve diferenças significativas do tratamento controle, pelo teste de Dunnett (P>0,05).

Não foi observado nenhum efeito (P>0,05) na atividade da FA, aos 14 dias e aos 28 dias de experimento, indicando que houve semelhante atividade desta enzima entre os tratamentos com reduzidos níveis de fitase em relação ao controle. Portanto, se houve uma deficiência na deposição óssea de minerais,

esta não foi suficiente para aumentar a FA pelos osteoblastos. Estes resultados indicam que a redução dos níveis de fitase, quando se adicionou ácidos orgânicos, promoveu uma mesma condição de formação óssea em relação aos outros tratamentos. Estes resultados foram diferentes daqueles encontrados por Brenes et al. (2003), que verificaram que, ao suplementarem dietas para frangos de corte com 20 g/kg de ácido cítrico e 400 UF/kg, havia uma redução dos níveis de fosfatase alcalina em 13% em relação àquelas sem o ácido. Relataram, ainda, que um aumento na atividade da fosfatase alcalina é indicativo de alguma alteração na formação dos osteoblastos, responsáveis pelos processos de formação e estruturação óssea.

Constatou-se um efeito linear ($P < 0,05$) para os níveis de uréia no plasma, aos 14 dias de experimento, como mostrado na Figura 5. A relação linear observada sugere que, ao diminuírem-se os níveis de fitase em rações suplementadas com o complexo de ácidos orgânicos, há uma piora na utilização de aminoácidos da ração. A elevação na atividade da uréia sanguínea ocorre quando existe um desbalanço aminoacídico na ração. Ao se adicionar 0,2% do complexo de ácidos orgânicos, a maior disponibilidade de nutrientes pode ter melhorado o aproveitamento destes pelos leitões. Não houve efeito ($P > 0,05$) nos níveis de uréia aos 28 dias de experimento. A capacidade de produção de enzimas proteolíticas em leitões é limitada ao desmame, porém aumentada com a idade.

A diferença de resultados aos 14 e 28 dias de experimento, possivelmente, foi devido à maior capacidade dos leitões em digerir as moléculas de proteínas, quando estes estavam mais desenvolvidos e, por isso, os animais tiveram semelhante utilização de aminoácidos da dieta. Uma explicação para os resultados do presente trabalho, pode ser o aumento da produção de enzimas proteolíticas pelos leitões, com o aumento da idade.

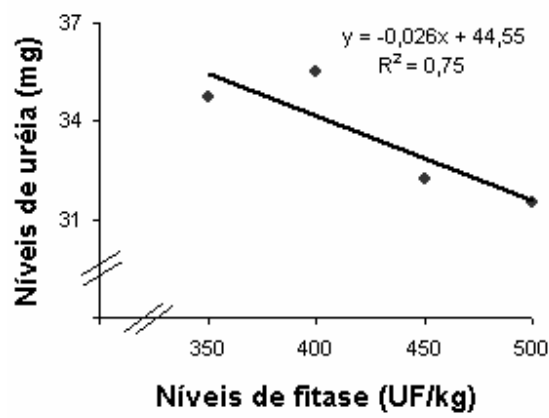


FIGURA 5: Níveis de uréia plasmática em leitões alimentados com rações com diferentes níveis de fitase, contendo ácidos orgânicos, aos 14 dias de experimento.

4.2.2 Teores de minerais no plasma

Os teores de minerais no plasma dos leitões, aos 14 e 28 dias de experimento, estão apresentados nas Tabelas 9, 10 e 11.

TABELA 9: Teores de cálcio (Ca) e fósforo (P) no plasma de leitões em fase de creche, alimentados com rações com diferentes níveis de fitase contendo, ou não ácidos orgânicos (AO), aos 14 e 28 dias de experimento.

Tratamentos	Períodos			
	14 Dias		28 Dias	
	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)
Basal + 500UF + AO	11,08	5,75	11,55	5,68
Basal + 450UF + AO	11,30	6,18	11,47	5,80
Basal + 400UF + AO	10,83	6,55	11,82	5,80
Basal + 350UF + AO	11,10	5,70	11,05	5,50
MÉDIA	11,08	6,04	11,48	5,69
P	NS	NS	NS	NS
Basal + 500UF *	11,33	6,25	11,40	5,75
CV(%)	7,95	11,76	8,76	8,87

* Não houve diferenças significativas do tratamento controle, pelo teste de Dunnett (P>0,05).

TABELA 10: Teores de magnésio (Mg), manganês (Mn) e zinco (Zn) no plasma de leitões em fase de creche, alimentados com rações com diferentes níveis de fitase, contendo ou não ácidos orgânicos (AO), aos 14 dias de experimento.

Tratamentos	Variáveis		
	Mg (mg/dL)	Mn (ng/mL)	Zn (mcg/dL)
Basal + 500UF + AO	1,15	0,71	100,5
Basal + 450UF + AO	0,99	0,70	95,20
Basal + 400UF + AO	1,05	0,73	106,2
Basal + 350UF + AO	1,05	0,70	95,20
MÉDIA	1,06	0,71	99,26
P	NS	NS	NS
Basal + 500UF *	0,95	0,72	98,53
CV(%)	14,66	6,86	6,36

* Não houve diferenças significativas do tratamento controle, pelo teste de Dunnett (P>0,05).

TABELA 11: Teores de magnésio (Mg), manganês (Mn) e zinco (Zn) no plasma de leitões em fase de creche, alimentados com rações com diferentes níveis de fitase, contendo ou não ácidos orgânicos (AO), aos 28 dias de experimento.

Tratamentos	Variáveis		
	Mg (mg/dL)	Mn (ng/mL)	Zn (mcg/dL)
Basal + 500UF + AO	1,69	0,68	107,7
Basal + 450UF + AO	1,83	0,69	108,3
Basal + 400UF + AO	1,85	0,66	110,6
Basal + 350UF + AO	1,91	0,68	118,9
MÉDIA	1,82	0,68	111,4
P	NS	NS	NS
Basal + 500UF*	1,67	0,67	118,4
CV(%)	14,91	3,26	9,37

* Não houve diferenças significativas do tratamento controle, pelo teste de Dunnett ($P>0,05$).

Não houve efeito ($P>0,05$) de regressão e nem foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos para o teor de minerais no plasma dos leitões, aos 14 e 28 dias de experimento. Ou seja, ao se adicionar 0,2% de um complexo de ácidos orgânicos, o teor de minerais se manteve, mesmo reduzindo-se a quantidade de fitase para 350 UF/kg. Moreira et al. (2003) citaram que os níveis plasmáticos de fósforo e cálcio são regulados pelo hormônio da paratireóide (PTH) e pela calcitonina. O PTH, além de aumentar o cálcio e reduzir o fósforo plasmático, aumenta a excreção do fosfato urinário, enquanto que a calcitonina exerce efeito antagônico, estimulando a absorção óssea do cálcio e fósforo.

Assim, em função desses mecanismos fisiológicos, a variável cálcio e fósforo no plasma torna-se uma medida inadequada para se analisar o teor de cálcio e fósforo das dietas, embora Young et al. (1993) tenham constatado um aumento de fósforo inorgânico no plasma de suínos em crescimento com o

aumento dos níveis de fitase nas dietas. Adeola et al. (1995) também observaram um aumento nos níveis de P, Mg e Zn quando o nível da enzima na dieta passou de 0 para 1.500 UF. Isso pode ser indicativo de uma maior disponibilização desses minerais, possivelmente pela maior liberação destes do complexo formado pela molécula de fitato, potencializando da atividade da enzima. Porém, Hans et al. (1998) não encontraram diferenças na concentração de fósforo no sangue de suínos em crescimento que receberam rações contendo apenas fitase e fitase suplementada com ácido cítrico.

A fitase utilizada no presente trabalho é originada do *Aspergillus niger*, que possui um pH ótimo em 2,5 e 5,5 (Simons et al., 1990) e é mais ativa no estômago (Jongbloed et al., 1992), mas, uma grande porção da digesta deixa o estômago do animal em um pH menos favorecido para uma maior eficiência de atuação da fitase. Segundo Jongbloed (1987), a acidificação da dieta pode melhorar solubilidade dos minerais, diretamente pela redução do pH e, segundo Mayer (1994), indiretamente, pela redução da taxa de esvaziamento gástrico.

4.3 Teores de minerais nas fezes e ossos

4.3.1 Porcentagem de minerais nas fezes, aos 14 e 28 dias de experimento

A porcentagens de minerais nas fezes dos leitões, aos 14 e 28 dias de experimento, estão apresentadas nas Tabelas 12 e 13, respectivamente.

TABELA 12: Teores de cinzas, cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), manganês (Mn) e zinco (Zn) nas fezes de leitões na fase de creche, alimentados com ração contendo diferentes níveis de fitase, contendo ou não ácidos orgânicos (AO), aos 14 dias de experimento.

Tratamentos	Variáveis					
	Cinzas %	Ca % ¹	P %	Mg %	Mn (ppm)	Zn (ppm)
Basal + 500UF + AO	19,83	3,53	1,63	0,60	415	484
Basal + 450UF + AO	20,22	3,48	1,69	0,64	438	521
Basal + 400UF + AO	18,46	3,20	1,61	0,60	400	516
Basal + 350UF + AO	18,49	3,21	1,64	0,58	424	500
MÉDIA	19,25	3,36	1,64	0,61	419	505
P	NS	0,05	NS	NS	NS	NS
Basal + 500UF	19,74	3,17	1,49	0,58	418	512
CV(%)	7,06	7,64	8,8	8,04	10,25	7,24

¹ Regressão linear significativa (P<0,05).

TABELA 13: Teores de cinzas, cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), manganês (Mn) e zinco (Zn) nas fezes de leitões na fase de creche, alimentados com ração contendo diferentes níveis de fitase, contendo ou não ácidos orgânicos (AO), aos 28 dias de experimento.

Tratamentos	Variáveis					
	Cinzas % ¹	Ca %	P %	Mg %	Mn (ppm) ²	Zn (ppm) ¹
Basal + 500UF + AO	19,47	3,51	1,64	0,56	477	551
Basal + 450UF + AO	18,83	3,56	1,78	0,61	433	501
Basal + 400UF + AO	18,75	3,31	1,82	0,60	431	518
Basal + 350UF + AO	16,61	3,06	1,63	0,56	366	472
MÉDIA	18,42	3,36	1,72	0,58	400	511
P	0,05	NS	NS	NS	0,01	0,05
Basal + 500UF	19,25	3,2	1,79	0,63	432	542
CV(%)	9,37	12,17	9,45	9,01	10,75	9,07

¹ Regressão linear significativa (P<0,05).

² Regressão linear significativa (P<0,01).

Foi observado um efeito linear (P<0,05) para os teores de cálcio nas fezes dos leitões aos 14 dias de experimento (Figura 6), indicando que a porcentagem de cálcio nas fezes foi diminuindo quando se reduziu o nível de fitase na ração.

Aos 28 dias de experimento, foi encontrado um efeito linear (P<0,05) para os teores de cinzas, manganês e zinco (Figuras 7, 8 e 9, respectivamente), sendo que, quanto menor o conteúdo de fitase na ração com ácidos orgânicos, menor foi a excreção destes minerais.

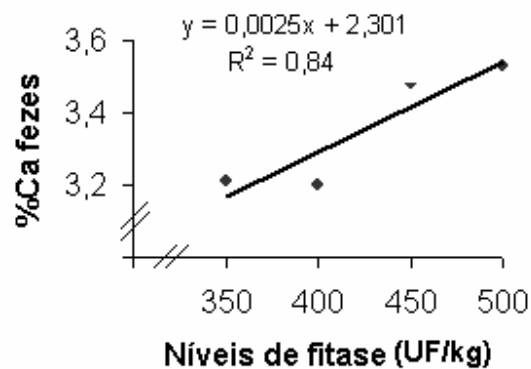


FIGURA 6: Efeito dos níveis de fitase em rações contendo ácidos orgânicos sobre a % de Ca nas fezes de leitões alimentados com diferentes níveis de fitase contendo ácidos orgânicos, aos 14 dias de experimento.

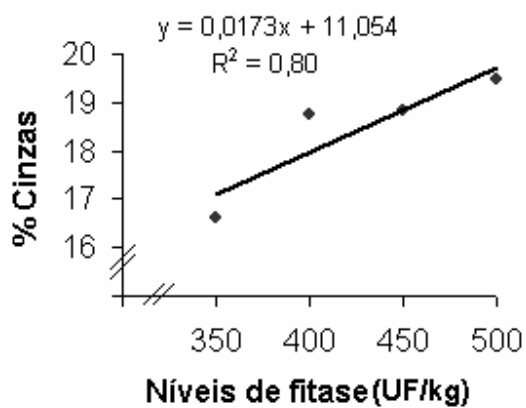


FIGURA 7: Efeito dos níveis de fitase em rações contendo ácidos orgânicos sobre a % de cinzas nas fezes de leitões alimentados com diferentes níveis de fitase contendo ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.

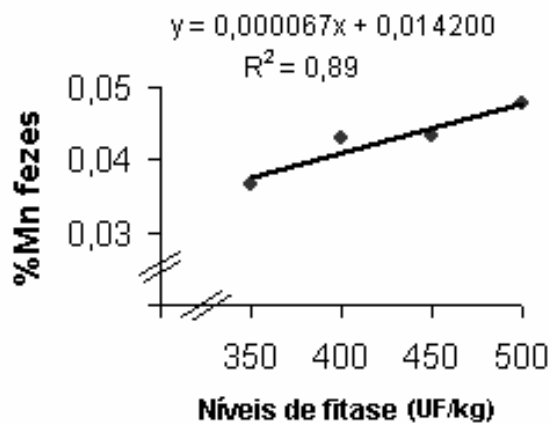


FIGURA 8: Efeito dos níveis de fitase em rações contendo ácidos orgânicos sobre a % de Mn nas fezes de leitões alimentados com diferentes níveis de fitase contendo ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.

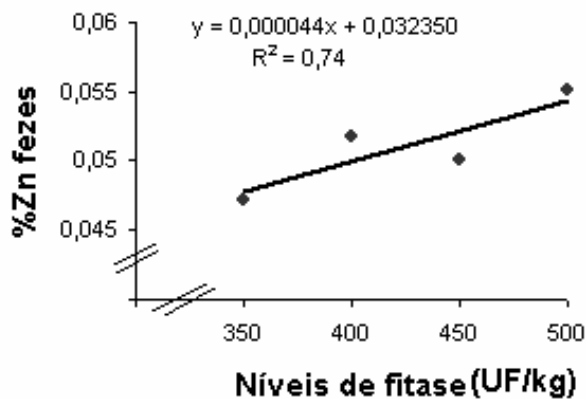


FIGURA 9: Efeito dos níveis de fitase em rações contendo ácidos orgânicos sobre a % de Zn nas fezes de leitões alimentados com reduzidos níveis de fitase contendo ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.

Possivelmente, quando a fitase se encontrava em níveis mais elevados nas rações, houve um maior aproveitamento de outros nutrientes, além dos minerais, como, por exemplo, proteínas e carboidratos. Estes processos fizeram com que diminuísse a quantidade de matéria orgânica nas fezes e como consequência, a porcentagem de minerais nas fezes foi aumentada.

Apesar dos efeitos de regressão, não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) entre o tratamento controle e os demais, tanto aos 14 quanto aos 28 dias de experimento. Isso pode ser devido à atuação dos ácidos orgânicos que reduziram a taxa de esvaziamento gástrico e atuaram melhorando a disponibilidade dos nutrientes para o metabolismo dos animais. Mesmo reduzindo os níveis de fitase para 350 UF/kg, a atividade da enzima não foi prejudicada, possivelmente porque o complexo de ácidos orgânicos potencializou o efeito da fitase. A não detecção de diferenças na porcentagem de excreção entre o tratamento controle e o contendo 500 UF + AO pode ter sido consequência da utilização desta concentração do complexo de ácidos orgânicos (0,2%). Possivelmente, esta concentração não foi suficiente para causar efeito na excreção dos nutrientes.

Resultados diferentes foram encontrados por Valencia et al. (2002) observando que a adição de fitase (1000 UF/kg) ou fitase + 1% de ácido acético promoveu uma diminuição na excreção de cálcio e fósforo. Da mesma forma, Boling et al. (2000) sugeriram que existe um efeito aditivo entre fitase e ácidos orgânicos.

4.3.2 Porcentagem de minerais nos ossos

A porcentagem de minerais nos ossos dos leitões abatidos aos 28 dias de experimento está apresentada na Tabela 14.

TABELA 14: Teores de cinzas, cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg) e zinco (Zn) dos ossos metatarsianos dos leitões alimentados com rações com diferentes níveis de fitase, contendo ou não ácidos orgânicos (AO), aos 28 dias de experimento.

Tratamentos	Variáveis				
	%Cinzas	%Ca	%P	%Mg	Zn (ppm)
Basal + 500UF + AO	52,25	20,18	11,3	0,16	313
Basal + 450UF + AO	53,14	20,92	11,44	0,16	297
Basal + 400UF + AO	51,20	20,87	10,95	0,13*	262
Basal + 350UF + AO	51,99	20,14	11,29	0,15	312
MÉDIA	52,15	20,53	11,25	0,16	300
P	NS	NS	NS	NS	NS
Basal + 500UF	50,92	21,74	10,73	0,17	320
CV(%)	3,48	5,15	3,75	14,43	22,06

* Média diferente do tratamento controle, pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre o tratamento controle e o tratamento com 400 UF + AO, tendo este tratamento proporcionado uma menor porcentagem de Mg nos ossos dos animais. Brenes et al. (2003), trabalhando com frangos de corte, também observaram um efeito negativo quando adicionou-se fitase e ácido cítrico na retenção de Mg, quando as dietas continham baixos níveis de P disponível. Porém, estes resultados são diferentes daqueles encontrados por Junqueira et al. (2001), que observaram que, a porcentagem de Mg ósseo aumenta quando se eleva o fósforo total de dietas de frangos de corte de 1 aos 21 dias de idade. Pintar et al. (2005) também observaram que o aumento na suplementação de fitase aumentou os teores de Mg na tíbia de frangos de corte.

A relação entre a disponibilidade de Ca e P na absorção e retenção de Mg ainda é muito controversa na literatura. De acordo com o NRC (2003), os autores relataram um estudo com primatas, em que o aumento da ingestão de Ca

não afeta significativamente a absorção de Mg e que alta ingestão de P diminui a absorção deste mineral, porém, enfatizam que as pesquisas ainda são muito divergentes.

Para as demais variáveis, houve uma resposta semelhante quando se adicionou AO às rações que continham níveis normais e com reduzidos níveis de fitase, sugerindo que a redução dos níveis de fitase, quando adicionados ácidos orgânicos, proporcionou semelhante composição óssea de minerais em relação àquela contendo somente a enzima. Resultados diferentes foram encontrados por Omogbenigun et al. (2003) que observaram um aumento no conteúdo de cinzas nos ossos de suínos que consumiram rações contendo fitase e fitase + ácidos orgânicos e que o uso de somente fitase ou em associação com ácidos orgânicos pode substituir o uso de fósforo inorgânico em dietas para leitões.

4.4 Disponibilidade do cálcio e fósforo

Os valores de disponibilidade do cálcio e do fósforo, em porcentagem, aos 14 e 28 dias de experimento, estão apresentados na Tabela 15.

TABELA 15: Valores de disponibilidade do cálcio (Ca) e fósforo (P), expressos em porcentagem, de leitões alimentados com diferentes níveis de fitase, contendo ou não ácidos orgânicos (AO), aos 14 e 28 dias de experimento.

Tratamentos	Períodos			
	14 Dias		28 Dias	
	Ca (%)	P (%) ¹	Ca (%) ²	P (%)
Basal + 500UF + AO	33,05	30,53	35,48	41,43
Basal + 450UF + AO	38,26	38,39	38,25	37,92
Basal + 400UF + AO	36,45	32,44	42,38	36,08
Basal + 350UF + AO	34,84	23,75*	49,80	40,75
MÉDIA	33,32	33,79	41,48	39,05
P	0,05	0,05	0,05	NS
Basal + 500UF	41,44	37,04	40,66	29,43
CV(%)	17,51	19,15	23,21	21,77

¹ Regressão quadrática significativa (P<0,05).

² Regressão linear significativa (P<0,05).

* Média diferente do tratamento controle, pelo teste de Dunnett (P<0,05).

Houve um efeito quadrático (P<0,05) na disponibilidade do P aos 14 dias de experimento (Figura 10), tendo 429 UF sido o nível que proporcionou a melhor disponibilidade do P.

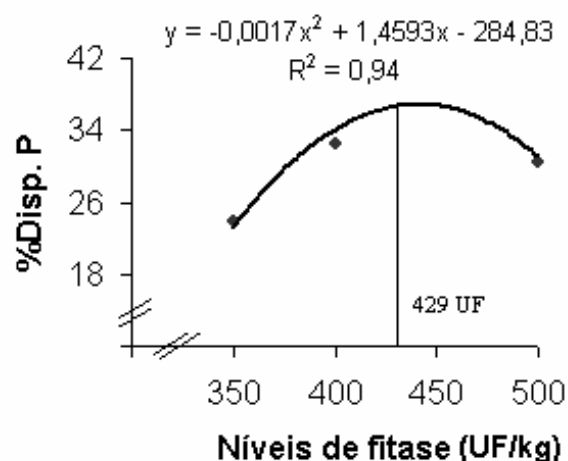


FIGURA 10: Disponibilidade do fósforo para leitões alimentados com rações com diferentes níveis de fitase, contendo orgânicos, aos 14 dias de experimento.

Também aos 14 dias de experimento, foi observado que o tratamento com 350 UF + AO proporcionou o menor valor de disponibilidade do P, significativamente ($P < 0,05$) diferente do tratamento controle, mostrando que nesta fase de crescimento, a redução dos níveis de fitase prejudicou o aproveitamento do P. Os animais foram mais sensíveis às rações com reduzidos níveis de fitase nesta fase, possivelmente porque ainda estavam sobre recuperação da fase pós-desmame, quando as vilosidades ainda não tinham sido completamente reconstituídas e pode ter havido um menor aproveitamento dos minerais. Esta hipótese está de acordo com Cera et al. (1988) que trabalharam com leitões desmamados aos 21 dias de idade e verificaram uma acentuada redução na altura das vilosidades do 3º até o 14º dia pós-desmame. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos com 500 UF e 500 UF + AO. Estes resultados estão de acordo com Omogbenigum et al. (2003) que encontraram disponibilidades do P similares para os animais que consumiram

rações contendo somente fitase e esta enzima + ácidos orgânicos. Os autores relatam que a redução da excreção do P em relação à ração controle foi de 13% e 19% quando os animais consumiram somente fitase e a mistura desses dois aditivos, respectivamente.

Resultados diferentes foram encontrados por Kemme et al. (1999) que observaram que a adição de 900 UF/kg às rações aumentou a disponibilidade total aparente do P em 16%. Ao se adicionar ácido láctico (30 g/kg) juntamente com a enzima, o aumento foi de 24%. No entanto, estes autores não observaram efeito desses aditivos na degradação ileal do ácido fítico. Da mesma forma, Valencia et al. (2002) observaram que, ao suplementarem ácido acético em uma ração com baixo P e fitase, a digestibilidade aparente do Ca, do P, do Fe e do Cu foram significativamente ($P < 0,05$) aumentadas.

Foi observado um efeito linear ($P < 0,05$) na disponibilidade do Ca, aos 28 dias de experimento (Figura 11), indicando que quanto menor o nível de fitase adicionado à ração contendo ácidos orgânicos, maior foi a eficiência de utilização deste mineral. Nesta fase do desenvolvimento, os animais conseguiram compensar com maior eficiência a redução dos níveis de fitase. A solubilização da molécula de fitato pode ter sido melhorada diretamente pela redução do pH ou, indiretamente, pela redução da taxa de esvaziamento gástrico (Mayer, 1994). Outra possível explicação pode ser devido à não adequação dos níveis de Ca na ração, uma vez que somente os níveis de fósforo foram corrigidos para rações contendo fitase. Em consequência, pode ter havido um excesso de Ca para o organismo do animal e, por isso, os níveis menores de fitase foram os que apresentaram melhores resultados.

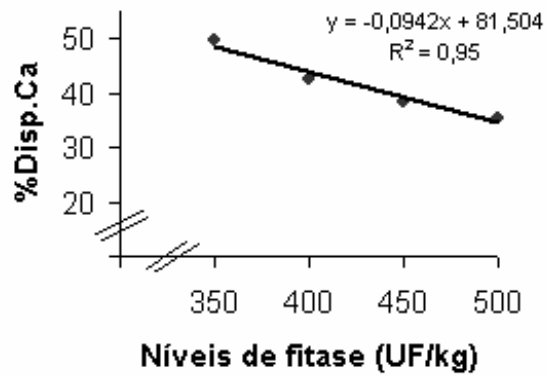


FIGURA 11: Disponibilidade do cálcio para leitões alimentados com rações com diferentes níveis de fitase, contendo ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.

A semelhança entre os tratamentos com reduzidos níveis de fitase com o controle pode ter sido devido à concentração do complexo de ácidos orgânicos utilizado no presente trabalho (0,2%).

4.5 Resistência dos ossos à quebra

Os valores de resistência do osso metatarsiano de leitões à quebra ao final do experimento estão apresentados na Tabela 16.

TABELA 16 Valores de resistência à quebra do metatarso de leitões alimentados com diferentes níveis de fitase, contendo ou não ácidos orgânicos (AO), abatidos após 28 dias de experimento.

Tratamentos	Variável
	Resistência à quebra (kg/cm ²)
Basal + 500UF + AO	25,53
Basal + 450UF + AO	22,86
Basal + 400UF + AO	24,29
Basal + 350UF + AO	23,73
MÉDIA	24,10
P	NS
CONTROLE*	17,80
CV(%)	24,87

* Não houve diferenças do tratamento controle, pelo teste de Dunnett ($P > 0,05$).

Não foram encontradas diferenças significativas ($P < 0,05$) na resistência dos ossos à quebra entre o tratamento controle e os demais. Os resultados indicam que houve semelhança, entre os tratamentos, em relação à força realizada nos ossos para causar uma deformação, por isso, não foram detectadas diferenças. Estes resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Radcliffe et al. (1998) que trabalharam com a inclusão de fitase e ácido cítrico, concluindo que, quando a fitase foi suplementada na dieta contendo ácido cítrico, houve apenas um aumento numérico da força de quebra dos ossos da costela de leitões recém-desmamados.

5 CONCLUSÃO

A utilização do complexo de ácidos orgânicos associados à adição de 500 UF/kg resultou em um melhor ganho de peso médio diário, melhor escore fecal, porém, não afetou a atividade da fosfatase alcalina, teores de minerais no plasma e fezes, mineralização óssea e disponibilidade do cálcio e fósforo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEOLA, O.; LAWRENCE, B. V.; SUTTON, A. L.; CLINE, T. R. Phytase-induced changes in mineral utilization in zinc-supplemented diets for pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 11, p. 3384-3391, Nov. 1995.

ALVARENGA, R. R.; ZANGERONIMO, M. G.; SILVEIRA, H.; RODRIGUES V. V.; OLIVEIRA JÚNIOR, G. M.; FIALHO, E. T. Padronização de uma metodologia eficaz de determinação do pH do conteúdo estomacal de leitões na fase inicial. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa – PB. **Anais...** João Pessoa – PB, 2006. 1CD-ROOM.

ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Method of the Official Methods of Analysis**. 15. ed. Washington, DC, 1990. 2v.

BARTELS, H.; PENZ JR, A. M. Nutrição de leitões nas fases pré e pós desmame. In: SEMANA DE ZOOTECNIA, 12., 1996, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: UFRRJ, 1996. p. 12. (Resumo).

BELLAVER, C.; GOMES, P. C.; SANTOS, D. L. Absorção e disponibilidade de fósforo para suínos, baseada na diluição de radiofósforo (32 P). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 9, p. 1053-1057, set. 1983.

BLANK, R.; MOSENTHIN, R.; SAUER, W. C.; HUANG, S. Effect of Fumaric Acid and Dietary Buffering Capacity on Ileal and Fecal Amino Acid Digestibilities in Early-Weaned Pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n. 11, p. 2974-2984, Nov. 1999.

BOLDUAN, G.; JUNG, H.; SCHNEIDER, R.; BLOCK, J.; KLENKE, B. Influence of propionic and formica acids on piglets. **Journal Animal Physyology Animal Nutrition**, Berlin, v. 59, N. 2, p. 72-78, Mar. 1988b.

BOLING, S. D.; WEBEL, D. M.; MAVROMICHALIS, I.; PARSONS, C. M.; BAKER, D. H. The effects of citric acid on phytate-phosphorus utilization in young chicks and pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 3, p. 682-689, Mar. 2000.

BRENES, A.; VIVEROS, A.; ARIJA, I.; CENTENO, C.; PIZARRO, M.; BRAVO, C. The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 110, n. 1/4, p. 201-219, Nov. 2003.

BURNELL, T. W.; CROMWELL, G. L.; STAHLY, T. S. Effects of dried whey and copper sulfate on the growth responses to organic acid in diets for weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, n. 5, p. 1100-1108, May 1988.

CERA, K. R.; MAHAN, D. C.; CROSS, R. F.; REINHART, G. A.; WHITMOYER, R. E. Effect of age weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, n. 2, p. 574-84, Feb. 1988.

CHRISTENSON, R. H. Biochemical markers of bone metabolism: an overview. **Clinical Biochemistry**, Oxford, v. 30, v. 8, p. 573-593, Dec. 1997.

COMBS, N. R.; KORNEGAT, E. T.; LINDERMANN, M. D.; NOTTER, D. R.; WILSON, J. H.; MASON, J. P. Calcium and phosphorus requirement of swine from weaning to market weight: II. Development of response curves for bone criteria and comparison of bending and shear bone testing. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 2, p. 682-693, Feb. 1991.

CROMWELL, G. L. Bioavailability of phosphorus in feed ingredients for swine. **Pig News Information**, Wallingford, v. 13, n. 2, p. 75, 1992.

DELFORTE, J. L. New concepts in the use of acidulants in animals feed. In: VIRGINIA MYCIN SYMPOSIUM, 1987, Sicilia, Italy. **Proceedings...** Sicilia, Italy, 1987. p. 56.

DENBOW, D. M.; GRABAU, E. A. LACY, G. H.; KORNEGAY, E. T.; RUSSELL, D. R.; UMBECK, P. F. Soybeans Transformed with a Fungal Phytase Gene Improve Phosphorus Availability for Broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, n. 6, p. 878-881, June 1998.

DIBNER, J. J.; BUTTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, Savoy, v. 11, n. 4, p. 453-463, 2002.

FENNER, W. R. **Manual de prática clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1985. 413 p.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE

INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GOMES, F. E. **Ácidos orgânicos em dietas para leitões após o desmame.** 2005. 59 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte.

GUENTER, W. Practical experience with the use of enzymes. Capturado em 20 de maio de 2002. Disponível em:

<<http://www.idrc.ca/books/focus/821/chp6.html>>. Acesso em: 2006.

HAN, Y. M.; RONEKER, K. R.; POND, W. G.; LEI, X. G. Adding Wheat Middlings, Microbial Phytase, and Citric Acid to Corn-Soybean Meal Diets for Growing Pigs May Replace Inorganic Phosphorus Supplementation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, n. 10, p. 2649-2656, Oct. 1998.

HANSEN J. A.; NELSEN, J. L.; GOODBAND, R. D.; WEEDEN, T. L. Evaluation of animal protein supplements in diets of early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, n. 7, p. 1853-1862, July 1993.

HAYES, S. H.; CROMWELL, T. S.; STAHLY e JOHNSON, T. H. Availability of phosphorus in corn, wheat and barley for the chick. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 49, n. 4, p. 992, Apr. 1979.

JONGBLOED, A. W.; KEMME, P. A.; MROZ, Z.; JONGBLOED, R. The effects of organic acids in diets for growing pigs on the efficacy of microbial phytase. In: COELHO, M. B.; KORNEGAY, E. T. (Ed.). **Phytase in animal**

nutrition and waste management. Mount Olive, NJ: BASF Corp, 1996. p. 515-524.

JONGBLOED, A. W.; MROZ, Z.; VAN DER WEIJ-JONGBLOED, R.; KEMME, P. A. The effects of microbial phytase, organic acids, and their interaction in diets for growing pigs. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 67, n. 1/2, p. 113-122, Dec. 2000.

JONGBLOED, A. W.; MROZ, Z.; KEMME, P. A. The effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diets for pigs on concentration and apparent digestibility of dry matter, total phosphorus, and phytic acid in different sections of the alimentary tract. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 4, p. 1159-1168, Apr. 1992.

JONGBLOED, A. W. 1987. **Lelystad Rapport I. V. V. D.** 16. ed. London: Rapport I. V. V. D, 1987. 343 p.

JUNQUEIRA, O. M.; LEMOS, M. G.; ARAÚJO, L. F.; MUCKE, D.; ARAÚJO, C. S. S.; ANDREOTTI, M. O.; CANCHERINI, L. C.; BARBOSA, M. J. B. Uso de Fosfato Bicálcico Granulado Sobre o Desempenho e Mineralização Óssea de Frangos de Corte. **Revista Brasileira Ciência Avícola**, Campinas, v. 3, n. 1, p. 57-64, jan./abr. 2001.

KEMME, P. A.; JONGBLOED, A. W.; MROZ, Z.; KOGUT, J.; BEYNEN, A. C. Digestibility of nutrients in growing–finishing pigs is affected by *Aspergillus niger* phytase, phytate and lactic acid levels. 2. Apparent total tract digestibility of phosphorus, calcium and magnesium and ileal degradation of phytic acid. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 58, n. 3, p. 119-127, Apr. 1999.

KIES, A. K.; GERRITS, W. J. J.; SCHRAMA, J. W.; HEETKAMP, M. J. W.; VAN DER LINDEN, K. L.; ZANDSTRA, T.; VERSTEGENT, M. W. A. **Mineral Absorption and Excretion as Affected by Microbial Phytase, and their Effect on Energy Metabolism in Young Piglets.** American Society for Nutritional Sciences, 2005.

KIRCHGESSNER, M.; ROTH, F. X. Fumaric acid as feed additive in pig nutrition. **Pig News Information**, Wallingford, v. 3, n. 3, p. 259-264, 1982.

KOCH, W.; ZIMMERMANN, W.; OLIFF, A.; FRIEDRICH, R. Molecular analysis of the envelope gene and long terminal repeat of Friend mink cell focus-inducing virus: implications for the functions of these sequences. **Journal of Virology**, Washington, v. 49, n. 3, p. 828-840, 1984.

LILIENTHAL, L. K. K.; MERCHEN, N. R.; GRIESHOP, C. M.; PEETERS, M. J. E. S.; FAHEY, G. C. Jr. Selected gelling agents in canned dog food affect nutrient digestibilities and fecal characteristic of ileal cannulated dogs. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 132, n. 6, p. 1714-1716, June 2002.

LIU, J.; BOLLINGER, D. W.; LEDOUX, D. R.; VEUM, T. L. Lowering the dietary calcium to total phosphorus ratio increases phosphorus utilization in low-phosphorus cornsoybean meal diets supplemental with microbial phytase for growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, n. 3, p. 808-813, Mar. 1998.

LÜDKE, M. C. M. M.; LOPÉZ, J.; BRUM, P. A. R.; LÜDKE, J. V. Influência da fitase na utilização de nutrientes em dietas compostas por milho e farelo de

soja para suínos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 5, p. 1402-1413, set./out. 2000.

MAENZ, D. D.; ENGELE-SCHAAN, C. M.; NEWKIRK, R. W.; CLASSEN, H. L. The effect of minerals and mineral chelators on the formation of phytase-resistant and phytase-susceptible forms of phytic acid in solution and in a slurry of canola meal. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 81, n. 3/4, p. 177-192, Oct. 1999.

MARIBO, H.; JENSEN, B. B.; HEDEMANN, M. S. Different doses of organic acids to piglets. **Danish Bacon and Meat Council**, no. 469, 2000

MAYER, E. A. The physiology of gastric storage and emptying. In: JOHNSON, L. R.; ALPERS, D. H.; CHRISTENSEN, J.; JACOBSON, E. D.; WALSH, J. H. (Ed.). **Physiology of the gastrointestinal tract**. New York, NY: Raven Press, 1994. v. 1, p. 929-976.

MEDWAY, W. **Patologia clínica veterinária**. México: HispanoAmericano, 1981.

MOREIRA, J. A.; VITTI, D. M. S. S.; LOPES, J. B.; TRINDADE NETO, M. A. Biodisponibilidade e perdas endógenas mínimas de P em dietas com níveis crescentes de fitase para suínos em crescimento pela técnica de diluição isotópica. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 3, p. 350-356, jul. 2003.

MORRIS, E. R. Phytate and mineral bioavailability. In: GRAF, E. **Phytate chemistry and application**, Minneapolis: Pilatus, 1986. p. 57-76.

MROZ, Z.; JONGBLOED, A. W.; KEMME, P. A. Apparent digestibility and retention of nutrients bound to phytate complexes as influenced by microbial phytase and feeding regimen in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 1, p. 126-132, Jan. 1994.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of swine**. 9. ed. rev. [S. I.]: National Academy Press, 1998. 93 p.

NUTRIENT REQUIREMENTS OF NONHUMAN PRIMATES – NRNP. 2. ed. rev. Wahington, DC: The National Academies Press, 2003.

OMETO, J. C. **Bioclimatologia vegetal**. São Paulo: CERES, 1981. 425 p.

OMOGBENIGUN, F. O.; NYACHOTI, C. M.; SLOMINSKI, B. A. The effect of supplementing microbial phytase and organic acids to a corn-soybean based diet fed to early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, n. 7, p. 1806-1813, July 2003.

PALLAUF, J.; RIMBACH, G.; PIPPIG, S. et al. Effect of phytase supplementation to a phytate-rich diet based on wheat, barley and soya on the bioavailability of dietary phosphorus, calcium, magnesium, zinc and protein in piglets. **Journal of Agricultural Research**, Cambridge, v. 47, n. 1, p. 39-48, Jan. 1994.

PARTHEMORE, J. G.; BURTON, D. W.; DEFTOS, L. J. Associations and dissociations between serum bone Gla protein and alkaline phosphatase in skeletal metabolism. **Journal of Orthopaedic Research**, Needham, v. 11, n. 5, p. 671-676, Sept. 1993.

PINTAR, J.; BUJAN, M.; HOMEN, B.; GAZC, K.; SIKIRIC, M.; CERNY, T. Effects of supplemental phytase on the mineral content in tibia of broilers fed different cereal based diets. **Czech Journal of Animal Science**, Prague, v. 50, n. 2, p. 68-73, Feb. 2005.

QIAN, H.; KORNEGAY, E. T.; CONNER JR., D. E. Adverse Effects of Wide Calcium:Phosphorus Ratios on Supplemental Phytase Efficacy for Weanling Pigs Fed Two Dietary Phosphorus Levels. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 6, p. 1288-1297, June 1996.

RADCLIFFE, J. S.; ZHANG, Z.; KORNEGAY, E. T. The Effects of Microbial Phytase, Citric Acid, and Their Interaction in a Corn-Soybean Meal-Based Diet for Weanling Pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, n. 7, p. 1880-1886, July 1998.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I. **Análises estatísticas no SAEG**. Viçosa - MG: Editora UFV, 2001. 301 p.

RICE, J. P.; PLEASANT, R. S.; RADCLIFFE, J. S. **The Effect of Citric Acid, Phytase, and Their Interaction on Gastric pH, and Ca, P, and Dry Matter Digestibilities**. Purdue University: Swine Research Report, 2002

RICE, K. E.; WATKINS, J.; HILL, Jr., C. G. Hydrolysis of menhaden oil by a *Candida cylindracea* lipase immobilized in a hollowfiber reactor. **Biotechnology Bioengineering**, New York, v. 63, n. 1, p. 33-45, Apr. 1999.

ROSTAGNO, H. S.; PUPA, J. M. Fisiologia da digestão e alimentação de leitões. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO E MANEJO DE LEITÕES, 1998, Campinas, SP. **Anais...** Campinas, 1998. p. 60-87.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T; DONZELE, J. L., et al. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Tabelas brasileiras para aves e suínos 2005.; 2 ed. Editora UFV, Viçosa, 2005. 186p.

RUSSELL, J. B. Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH: anion accumulation versus uncoupling. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 73, n. 5, p. 363-370, Nov. 1992.

SCHÖNER, F. J. Nutritional effects of organic acids. In: BRUFAU, J. (Ed.). **Feed manufacturing in the Mediterranean region**. Improving safety: From feed to food. Zaragoza: CIHEAM-IAMZ, 2001. p. 55-61. Conference of Feed Manufacturers of the Mediterranean, 2000/03/22-24, Reus (Spain).

SCIPIONI, R.; ZAGHINI, G.; BIAVATI, A. Researches on the use of acidified diets for early weaning of piglets. **Zootecnia e Nutrizione Animale**, Bologna, v. 4, n. 4, p. 201-218, Aug. 1978.

SCOTT, M. L.; NEISHEIN, M. C.; YOUNG, R. J. **Nutrition of the chickens**. 3. ed. Ithaca: M. L. Scott & Associates, 1982. p. 562.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P; CHAVEZ, E. R. Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: a review. **World's Poultry Science Journal**, Beekbergen, v. 54, n. 1, p. 27-45, Mar. 1998.

SELLE, P. H., RAVINDRAN, V., CADOGAN, D. J. et al. The role of microbial phytases in poultry and pig production. In: AUSTRALIAN POULTRY AND FEED CONVENTION, 10., 1996, Melbourne. **Proceedings...** Melbourne: APFC, 1996. p. 219-224.

SILVA, H. O. **Fitase em rações para suínos em crescimento: Digestibilidade total, ileal e desempenho.** 2003. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SILVA, M. C. **Ácidos orgânicos e suas combinações em dietas para leitões desmamados aos 21 dias de idade.** 2002. 64 f (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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. **British Journal of Nutrition**, New York, v. 64, n. 2, p. 525-540, Sept. 1990.

Site da internet:

<<http://www.diagnosticosdaamerica.com.br/exames/fofatasealcalina.shtml>>.

Acesso em: 01 ago. 2006.

SPINELLI, J. **Lectures presented at the FAO/UNDP Training Course in Fish Feed Technology, held at the College of Fisheries.** Seattle, Washington, U. S. A: University of Washington, 9 Oct. to 15 Dec. 1978. Disponível em: <www.fao.org/docrep/X5738E/x5738e0d.htm>. Acesso em: 26 jul. 2006.

TAYLOR, W. H. Proteinases of stomach in health and disease. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 42, n. 4, p. 519-553, 1962.

TOMSCHY, A.; BRUGGER, R.; LEHMANN, M.; SVENDSEN, A.; VOGEL, K.; KOSTREWA, D.; LASSEN, S. F.; BURGER, D.; KRONENBERGER, A.; VAN LOON, A. P. G. M.; PASAMONTES, L.; WYSS, M. **Engineering of phytase for improved activity at low pH**. American Society for Microbiology, 2002, p. 1907-1913.

TSILOYIANNIS, V. K.; KYRIAKIS, S. C.; VLEMMAS, J.; SARRIS, K. The effect of organic acids on the control of post-weaning oedema disease of piglets **Research in Veterinary Science**, London, v. 70, n. 3, p. 281-285, June 2001.

VALENCIA, Z.; CHAVEZ, E. R. Phytase and acetic acid supplementation in the diet of early weaned piglets: effect on performance and apparent nutrient digestibility. **Nutrition Research**, Oxford, v. 22, n. 5, p. 623-632, May 2002.

YI, Z.; KORNEGAY, E. T.; RAVINDRAN, J.; DENBOW, D. M. Improving phytase phosphorus availability in corn and soybean meal for broiler using microbial phytase and calculation of phosphorus equivalency values for phytase. **Poultry Science**, Cambridge, v. 75, n. 2, p. 240-249, Feb. 1996.

YOUNG, G. L.; LEUNISEN, M.; ATKINSON, J. L. Addition of microbial phytase to diets of young pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, n. 8, p. 2147-2150, Aug. 1993.

ZANGERONIMO, M. G.; FIALHO, E. T.; LIMA, J. A. F.; RODRIGUES, P. B.; MURGAS, L. D. S. Redução do nível de proteína bruta da ração com

suplementação de aminoácidos sintéticos para leitões na fase inicial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.849-856, 2006.

ZHU, X. S.; SEIB, P. A.; ALLEE, G. L.; LIANG, Y. T. Preparation of a low-phytate feed mixture and bioavailability of its phosphorus to chicks. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 27, n. 4, p. 341-351, 1990.

ZYLA, K.; LEDOUX, D. R.; VEUM, T. L. Complete enzymic dephosphorylation of corn-soybean meal feed under simulated intestinal conditions of the turkey. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 43, n. 2, p. 288-294, Feb. 1995.

ANEXOS

ANEXO

	Pág.
TABELA 1A. Análises de variância global e de regressão dos dados do ganho de peso médio diário, consumo de ração médio diário e conversão alimentar de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos.....	69
TABELA 2A. Teste de comparações múltiplas do escore fecal de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, durante o período total do experimento.....	69
TABELA 3A. Teste de comparações múltiplas do escore fecal de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, durante o primeiro período do experimento.....	70
TABELA 4A. Teste de comparações múltiplas do escore fecal de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, durante o segundo período do experimento.....	71
TABELA 5A. Análise de variância global e de regressão para o pH do estômago dos leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, ao abate, no final do experimento.....	72

TABELA 6A. Análise de variância global e de regressão dos dados da atividade da fosfatase alcalina e níveis de uréia no plasma de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 14 dias de experimento.....	72
TABELA 7A. Análise de variância global e de regressão dos teores de fosfatase alcalina e uréia no plasma de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.....	73
TABELA 8A. Análise de variância global e de regressão dos teores de Cálcio e Fósforo no plasma de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 14 dias de experimento.....	73
TABELA 9A. Análise de variância global e de regressão dos teores de Magnésio, Manganês e Zinco no plasma de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 14 dias de experimento.....	74
TABELA 10A. Análise de variância global e de regressão para os teores de Cálcio e Fósforo no plasma de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.....	74
TABELA 11A. Análise de variância global e de regressão para os teores de Magnésio, Manganês e Zinco no plasma de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.....	75

TABELA 12A. Análise de variância global e de regressão para os teores de Cinzas, Cálcio e Fósforo nas fezes de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 14 dias de experimento.....	75
TABELA 13A. Análise de variância global e de regressão para os teores de Magnésio, Manganês e Zinco nas fezes de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 14 dias de experimento.....	76
TABELA 14A. Análise de variância global e de regressão para os teores de Cinzas, Cálcio e Fósforo nas fezes de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.....	76
TABELA 15A. Análise de variância global e de regressão para os teores de Magnésio, Manganês e Zinco nas fezes de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.....	77
TABELA 16A. Análise de variância global e de regressão para os teores de Cinzas, Cálcio e Fósforo nos ossos de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, ao final do experimento.....	77

TABELA 17A. Análise de variância global e de regressão para os teores de Magnésio e Zinco nos ossos de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, ao final do experimento.....	78
TABELA 18A. Análise de variância global e de regressão para a disponibilidade de Cálcio e Fósforo de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 14 e aos 28 dias de experimento.....	78
TABELA 19A. Análise de variância global e de regressão para o teste de resistência dos ossos à quebra de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.....	79
TABELA 20A. Temperaturas máximas e mínimas no interior da sala de creche durante o experimento.....	80

TABELA 1A - Análises de variância global e de regressão dos dados do ganho de peso médio diário (GPMD), consumo de ração médio diário (CRMD) e conversão alimentar (CA) de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos.

Fonte de Variação	GL	QM		
		GPMD	CRMD	CA
Tratamento adicional	1	-	-	-
Níveis de Fitase	3	5312,4	12668,7	0,004217
Regr. Linear	1	7605,0	10012,8	0,010125
Regr. Quadrática	1	7832,2	25840,5*	0,002025
Desvio	1	500,0	2152,8	0,000500
Bloco	3	780,1	7034,1	0,024858
Erro	12	1988,0	4990,8	0,007279
CV(%)		10,81	10,43	5,18

TABELA 2A- Teste de comparações múltiplas do escore fecal de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, durante o período total do experimento.

Tratamentos ^{NS}	ESCORE FECAL			
	0	1	2	3
	Dif. Obs.	Dif. Obs.	Dif. Obs.	Dif. Obs.
1 x 2	4,25	1,00	4,00	5,38
1 x 3	0,25	0,75	2,75	1,88
1 x 4	2,25	2,25	2,50	6,13
1 x 5	1,25	3,25	1,25	0,38
2 x 3	4,50	1,75	6,75	3,50
2 x 4	2,00	3,25	6,50	0,75
2 x 5	5,50	2,25	5,25	5,00
3 x 4	2,50	1,50	0,25	4,25
3 x 5	1,00	4,00	1,50	1,50
4 x 5	3,50	5,50	1,25	5,75

TABELA 3A – Teste de comparações múltiplas do escore fecal de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, durante o primeiro período do experimento.

Tratamentos ^{NS}	ESCORE FECAL			
	0	1	2	3
	Dif. Obs.	Dif. Obs.	Dif. Obs.	Dif. Obs.
1 x 2	0,88	3,25	2,00	3,00
1 x 3	0,25	4,25	4,25	3,75
1 x 4	0,87	5,88	6,00	3,50
1 x 5	3,00	4,13	6,50	0,25
2 x 3	0,62	1,00	2,25	0,75
2 x 4	0	2,63	4,00	0,50
2 x 5	2,13	0,88	4,50	3,25
3 x 4	0,63	1,63	1,75	0,25
3 x 5	2,75	0,13	2,25	4,0
4 x 5	2,73	1,75	0,50	3,75

TABELA 4A – Teste de comparações múltiplas do escore fecal de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, durante o segundo período do experimento.

Tratamentos	ESCORE FECAL			
	0	1	2	3
	Dif. Obs.	Dif. Obs.	Dif. Obs.	Dif. Obs.
1 x 2	10,38*	7,88	7,38	5,38
1 x 3	4,25	4,25	0,38	5,38
1 x 4	8,75	7,63	1,88	10,25*
1 x 5	11,63*	9,63*	5,5	10,25*
2 x 3	6,13	3,63	7,75	0
2 x 4	1,63	0,25	5,50	4,88
2 x 5	1,25	1,75	1,88	4,88
3 x 4	4,5	3,78	2,25	4,88
3 x 5	7,38	5,38	5,88	4,88
4 x 5	2,88	2,00	3,63	0

TABELA 5A – Análise de variância global e de regressão para o pH do estômago dos leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, ao abate, no final do experimento.

Fontes de Variação	GL	QM
		pH do estômago
Tratamento adicional	1	-
Níveis de Fitase	3	0,376
Regr. Linear	1	0,583
Regr. Quadrática	1	0,4000
Desvio	1	0,1453
Bloco	3	0,2420
Erro	12	0,705
CV(%)		21,73

TABELA 6A – Análise de variância global e de regressão dos dados de teores de fosfatase alcalina e uréia no plasma de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 14 dias de experimento.

Fontes de Variação	GL	QM	
		Fosfatase alcalina	Uréia
Tratamento adicional	1	-	-
Níveis de Fitase	3	533,39	14,83
Regr. Linear	1	1073,11	33,80*
Regr. Quadrática	1	126,56	2,25
Desvio	1	400,51	8,45
Bloco	3	338,18	35,78
Erro	12	255,89	5,40
CV(%)		12,27	6,87

TABELA 7A – Análise de variância global e de regressão da atividade da fosfatase alcalina e níveis de uréia no plasma de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.

Fontes de Variação	GL	QM	
		Fosfatase alcalina	Uréia
Tratamento adicional	1	-	-
Níveis de Fitase	3	13,39	3,41
Regr. Linear	1	12,01	5,00
Regr. Quadrática	1	5,062	0,25
Desvio	1	23,11	5,00
Bloco	3	26,18	4,600
Erro	12	51,35	18,14
CV(%)		5,53	13,7

TABELA 8A – Análise de variância global e de regressão dos teores de Cálcio e Fósforo no plasma de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 14 dias de experimento.

Fontes de Variação	GL	QM	
		Cálcio	Fósforo
Tratamento adicional	1	-	-
Níveis de Fitase	3	0,151	0,637
Regr. Linear	1	0,032	0,010
Regr. Quadrática	1	0,002	1,625
Desvio	1	0,420	0,276
Bloco	3	1,996	1,872
Erro	12	0,782	0,511
CV(%)		7,95	11,76

TABELA 9A– Análise de variância global e de regressão dos teores de Magnésio, Manganês e Zinco no plasma de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 14 dias de experimento.

Fontes de Variação	GL	QM		
		Magnésio	Manganês	Zinco
Tratamento adiconal	1	-	-	-
Níveis de Fitase	3	0,016	0,000573	109,22
Regr. Linear	1	0,010	0,000011	4,750
Regr. Quadrática	1	0,024	0,000506	32,20
Desvio	1	0,013	0,001201	290,70
Bloco	3	0,022	0,001338	111,18
Erro	12	0,023	0,002368	39,72
CV(%)		14,66	6,86	6,36

TABELA 10A – Análise de variância global e de regressão para os teores de Cálcio e Fósforo no plasma de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.

Fontes de Variação	GL	QM	
		Cálcio	Fósforo
Tratamento adiconal	1	-	-
Níveis de Fitase	3	0,411	0,080
Regr. Linear	1	0,264	0,055
Regr. Quadrática	1	0,490	0,180
Desvio	1	0,480	0,006
Bloco	3	0,529	0,461
Erro	12	1,008	0,256
CV(%)		8,76	8,87

TABELA 11A – Análise de variância global e de regressão para os teores de Magnésio, Manganês e Zinco no plasma de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.

Fontes de Variação	GL	QM		
		Magnésio	Manganês	Zinco
Tratamento adicional	1	-	-	-
Níveis de Fitase	3	0,33	0,000440	107,17
Regr. Linear	1	0,089	0,000061	257,76
Regr. Quadrática	1	0,005	0,000056	60,06
Desvio	1	0,003	0,001201	3,691
Bloco	3	0,167	0,000167	33,87
Erro	12	0,071	0,000483	111,70
CV(%)		14,91	3,26	9,37

TABELA 12A– Análise de variância global e de regressão para os teores de Cinzas, Cálcio e Fósforo nas fezes de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 14 dias de experimento.

Fontes de Variação	GL	QM		
		Cinzas	Ca	P
Tratamento adicional	1	-	-	-
Níveis de Fitase	3	3,30	0,12	0,0051
Regr. Linear	1	6,70	0,32*	0,0003
Regr. Quadrática	1	0,13	0,003	0,00062
Desvio	1	3,07	0,05	0,01458
Bloco	3	3,58	0,18	0,01377
Erro	12	1,86	0,06	0,02014
CV(%)		7,06	7,64	8,8

TABELA 13A– Análise de variância global e de regressão para os teores de minerais nas fezes de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 14 dias de experimento.

Fontes de Variação	GL	QM		
		Mg	Mn	Zn
Tratamento adicional	1	-	-	-
Níveis de Fitase	3	0,0023	0,00001	0,00001
Regr. Linear	1	0,0017	0,00000	0,00000
Regr. Quadrática	1	0,00330	0,00000	0,00003
Desvio	1	0,00210	0,00003	0,000002
Bloco	3	0,00236	0,00000	0,00001
Erro	12	0,00234	0,00002	0,00001
CV(%)		8,04	10,63	7,25

TABELA 14A – Análise de variância global e de regressão para os teores de Cinzas, Cálcio e Fósforo nas fezes de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.

Fontes de Variação	GL	QM		
		Cinzas	Ca	P
Tratamento adicional	1	-	-	-
Níveis de Fitase	3	6,20	0,22	0,03
Regr. Linear	1	14,9*	0,55	0,00
Regr. Quadrática	1	2,24	0,10	0,10
Desvio	1	1,39	0,01	0,004
Bloco	3	5,65	0,31	0,001
Erro	12	3,03	0,16	0,024
CV(%)		9,37	12,17	9,45

TABELA 15A – Análise de variância global e de regressão para os teores de Magnésio, Manganês e Zinco nas fezes de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.

Fontes de Variação	GL	QM		
		Mg	Mn	Zn
Tratamento adicional	1	-	-	-
Níveis de Fitase	3	0,00321	0,0001*	0,00004
Regr. Linear	1	0,00001	0,0002*	0,00010*
Regr. Quadrática	1	0,009506	0,0000	0,000000
Desvio	1	0,000101	0,0000	0,00003
Bloco	3	0,00126	0,0000	0,00002
Erro	12	0,00283	0,0000	0,00002
CV(%)		9,01	10,75	9,07

TABELA 16A – Análise de variância global e de regressão para os teores de Cinzas, Cálcio e Fósforo nos ossos de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, ao final do experimento.

Fontes de Variação	GL	QM		
		Cinzas	Cálcio	Fósforo
Tratamento adicional	1	-	-	-
Níveis de Fitase	3	2,54	0,71	0,17
Regr. Linear	1	1,49	0,005	0,049
Regr. Quadrática	1	0,009	2,13	0,039
Desvio	1	6,13	0,002	0,43
Bloco	3	1,66	1,48	0,25
Erro	12	3,26	1,14	0,17
CV(%)		3,48	5,15	3,75

TABELA 17A – Análise de variância global e de regressão para os teores de Magnésio, Manganês e Zinco nos ossos de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, ao final do experimento.

Fontes de Variação	GL	QM	
		Magnésio	Zinco
Tratamento adicional	1	-	-
Níveis de Fitase	3	0,00077	0,000023
Regr. Linear	1	0,00028	0,000003
Regr. Quadrática	1	0,000506	0,000044
Desvio	1	0,001531	0,000022
Bloco	3	0,00164	0,000137
Erro	12	0,00049	0,000044
CV(%)		14,43	22,06

TABELA 18A– Análise de variância global e de regressão para a disponibilidade de Cálcio e Fósforo de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 14 e aos 28 dias de experimento.

Fontes de Variação	GL	QM			
		14 dias		28 dias	
		Cálcio	Fósforo	Cálcio	Fósforo
Tratamento adicional	1	-	-	-	-
Níveis de Fitase	3	19,80	145,5*	155,27	24,86
Regr. Linear	1	2,53	138,12	443,5*	3,01
Regr. Quadrática	1	46,47	274,0*	21,55	66,91
Desvio	1	10,40	24,37	0,73	4,68
Bloco	3	8,19	32,08	182,36	35,92
Erro	12	23,52	38,58	91,97	65,30
CV(%)		13,18	19,15	23,21	21,77

TABELA 19A – Análise de variância global e de regressão para o teste de resistência dos ossos à quebra de leitões alimentados com rações com reduzidos níveis de fitase, suplementadas com ácidos orgânicos, aos 28 dias de experimento.

Fontes de Variação	GL	QM
		Resistência à quebra
Tratamento adicional	1	-
Níveis de Fitase	3	4,98
Regr. Linear	1	3,14
Regr. Quadrática	1	4,42
Desvio	1	7,37
Bloco	3	57,91
Erro	12	32,27
CV(%)		24,87

TABELA 20A – Temperaturas máximas e mínimas no interior da sala de creche durante o experimento.

Data	Temperaturas (°C)	
	Máxima	Mínima
04/fev/2006	31	21
05/fev/2006	31	22
06/fev/2006	32	22
07/fev/2006	33	22
08/fev/2006	30	23
09/fev/2006	30	25
10/fev/2006	30	24
11/fev/2006	26	23
12/fev/2006	27	22
13/fev/2006	26	22
14/fev/2006	27	24
15/fev/2006	27	23
16/fev/2006	27	22
17/fev/2006	27	24
18/fev/2006	30	24
19/fev/2006	31	23
20/fev/2006	30	24
21/fev/2006	29	25
22/fev/2006	28	24
23/fev/2006	26	23
24/fev/2006	27	23
25/fev/2006	29	24
26/fev/2006	28	23
27/fev/2006	28	23
28/fev/2006	29	23
01/mar/2006	29	24
02/mar/2006	30	23
03/mar/2006	30	24
04/mar/2006	28	24
05/mar/2006	26	22
06/mar/2006	26	22