

Fluxo Biológico do Fósforo no Metabolismo de Suínos Alimentados com Dietas Contendo Fitase¹

José Aparecido Moreira², Dorinha Miriam Silber Schmidt Vitti³, João Batista Lopes⁴,
Messias Alves da Trindade Neto⁵

RESUMO - A pesquisa foi conduzida para avaliar o fluxo biológico do P em suínos, na fase de crescimento, alimentados com dietas à base de milho, farelo de soja, farelo de arroz desengordurado e óleo de soja, isentas de P inorgânico e suplementadas com níveis crescentes de fitase (253, 759, 1.265 e 1.748 UF/kg de dieta), e destacar o melhor nível de utilização da enzima, usando modelos matemáticos. O modelo utilizado foi determinístico e compartimental, em que o trato gastrointestinal (C_1), o plasma C_2 , os ossos (C_3) e os tecidos moles (ossos, coração, fígado, rins e músculos), estudados em conjunto (C_4), representaram os compartimentos. Foram utilizados dados de metabolismo e cinética do P nos tecidos, obtidos pela técnica de diluição isotópica. Os parâmetros estimados foram: absorção, retenção, P endógeno que retorna ao trato gastrointestinal, P dietético absorvido, incorporação, reabsorção, balanço de P, P proveniente do osso, dos tecidos moles e do total absorvido que retorna ao trato gastrointestinal. O modelo biomatemático utilizado mostrou-se eficiente em explicar o fluxo do fósforo no organismo de suínos em crescimento. A fitase interferiu no fluxo biológico do P do compartimento C_1 para o C_3 e no refluxo dos compartimentos C_3 e C_4 para o C_1 . O nível 759 UF/kg de ração disponibilizou mais eficientemente o fósforo orgânico para o metabolismo dos suínos.

Palavras-chave: absorção, cinética, modelos matemáticos, perdas endógenas, radiofósforo

Biological P Flow on Metabolism of Pigs Fed Diets Containing Phytase

ABSTRACT - The study was conducted to evaluate the biological flow of P in pigs fed diets based on corn, soybean meal, defatted rice bran (DRB) and soybean oil, with increasing phytase levels (253, 759, 1265 and 1748 PU/kg of diet), using mathematics models. The model was deterministic and compartmental, in which the gastrointestinal tract (GIT) (C_1), the plasma C_2 , the bones (C_3) and the soft tissues (liver, heart, kidney and muscle) (C_4) represented the compartments. Metabolism data and kinetics of P in tissues were used in the model, obtained by the isotopic dilution technique. The parameters used were: absorption, retention, endogenous P that return to the gastrointestinal tract (GIT), dietary absorbed P, accretion, reabsorption, balance of P in bone and soft tissues and P from total absorbed that returned the GIT. The biomathematical model used is adequate to explain the P flow in growing pig. The phytase enzyme interfere in biological flow of P from compartment C_1 to C_3 and with the output flow of P from compartment C_3 and C_4 to C_1 . The level of 759 PU of phytase in diet of growing pig availability more efficiently the organic phosphorus for the pigs metabolism.

Key Words: absorption, endogenous losses, kinetics, mathematic model, radiophosphorus

Introdução

Os animais monogástricos não aproveitam eficientemente o fósforo dos vegetais por não sintetizarem a enzima fitase, substância capaz de catabolizar o fitato disponibilizando o fósforo e outros minerais para o metabolismo (Cromwell et al., 1995a; Moreira et al., 2001). Logo, ao formular rações para

suínos, torna-se necessária a adição de uma fonte inorgânica desse mineral.

Os resultados de pesquisas com o uso de fitase em rações de suínos têm sido promissores, levando os nutricionistas a acreditarem na eliminação ou redução do fósforo inorgânico das rações de suínos, uma vez que a fitase age nas ligações do grupo fosfato, liberando o fósforo que faz parte desta molécula

¹ Parte da tese de Doutorado do primeiro autor apresentada ao CENA/USP – Piracicaba, SP, como um dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em ciência.

² Biólogo, Bolsista da FAPESP. E.mail: japmoreira@bol.com.br

³ Professora Associada do Centro de Energia Nuclear da USP. E.mail: dovitti@cena.usp.br

⁴ Professor Adjunto do Departamento de Zootecnia da CCA-UFPI, Campus Universitário Socopo – Teresina – Pi, CEP: 64049-550. E.mail: lopesjb@uol.com.br

⁵ Professor Doutor do Departamento de Nutrição e Produção Animal - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP. E.mail: messiasn@usp.br

(Cromwell, 1991). Além de aumentar a disponibilidade do fósforo, a utilização desta enzima também melhora a disponibilidade de outros minerais, como magnésio, cobre, ferro e zinco (Adeola et al., 1995).

Embora no início do processo de obtenção da enzima fitase os custos tenham sido elevados, com o avanço da tecnologia de fermentação, a fitase vem sendo produzida industrialmente, havendo reflexos positivos nos preços deste produto. Este fato tem despertado o interesse de pesquisadores em avaliar a utilização dessa enzima na alimentação animal, principalmente em razão da preocupação dominante com os altos custos do fósforo inorgânico suplementar e com a poluição ambiental causada pelo excedente de P excretado nas fezes (Lei et al., 1993; Cromwell, 1991; Cromwell et al., 1993, 1995a, 1995b).

O P é um elemento de extrema importância para o metabolismo dos animais. Apesar das óbvias diferenças entre as espécies, vários são os parâmetros utilizados para avaliar sua utilização no organismo dos animais. Entre as diversas técnicas empregadas, destacam-se: ganho de peso, resistência à quebra dos ossos, fósforo no soro, atividade da fosfatase alcalina, fósforo e cinza nos ossos, anormalidades no esqueleto, densidade dos ossos, distribuição do fósforo em tecidos, digestibilidade aparente e verdadeira (Vitti, 1989; Barbosa et al., 1992; Gomes et al., 1992).

Diante do grande volume de informações com relação ao metabolismo e à cinética do P, alguns pesquisadores têm simulado modelos matemáticos capazes de ajustar os dados obtidos nestes experimentos aos fenômenos biológicos (Kebreab & France, 1999; Vitti et al., 2000; Lopes et al., 2001).

Os modelos biomatemáticos desenvolvidos a partir de estudos com radioisótopos são fundamentais para o conhecimento do fluxo de minerais no organismo animal. Nesse contexto, destaca-se a técnica de diluição isotópica, que se fundamenta no princípio do equilíbrio isotópico, que ocorre algumas horas após a introdução do material radioativo na corrente sanguínea pela associação entre os átomos dos isótopos radioativos e estáveis. Os isótopos radioativos são traçadores biológicos, que permitem o estudo de fenômenos complexos e possibilitam o acompanhamento, passo a passo, da trajetória dos minerais nos processos metabólicos dos animais.

A modelagem é uma técnica eficaz na pesquisa científica, sendo caracterizada por uma equação ou um conjunto de equações que simulam com precisão o comportamento de um sistema (Vitti et al., 2000;

Lopes et al., 2001), permitindo que o pesquisador extrapole com segurança os resultados obtidos nas pesquisas científicas para o universo da população (Lopes et al., 2001).

A análise compartimental vem sendo amplamente utilizada para sintetizar modelos mais simples, que simulam o comportamento de um sistema biológico, relacionando-o ao metabolismo e à cinética de nutrientes no organismo animal (Sauvant et al., 1996). Entretanto, os compartimentos não podem ser definidos em termos anatômicos, mas estão relacionados com os processos metabólicos. De acordo com Grace (1981), para avaliar o P, é necessário estabelecer a hipótese de que o fluxo de entrada e saída do elemento nos compartimentos seja constante.

A pesquisa foi conduzida para avaliar o fluxo biológico do P em suínos na fase de crescimento, alimentados com dietas à base de milho, farelo de soja, farelo de arroz desengordurado e óleo de soja, isentas de P inorgânico e suplementadas com níveis crescentes de fitase (253, 759, 1265 e 1748 UF/kg de dieta), e verificar o melhor nível de utilização da enzima.

Material e Métodos

Foram utilizados 16 suínos mestiços, machos castrados, com peso médio de $31,68 \pm 1,62$ kg. O experimento teve duração de 17 dias, sendo dez correspondentes à fase pré-experimental e sete à fase de coletas.

Os quatro tratamentos (Tabela 1) foram constituídos por uma ração composta por milho, farelo de soja, farelo de arroz desengordurado (FAD) e óleo de soja, suplementada com níveis crescentes de fitase (253, 759, 1265 e 1748 UF/kg de ração). As rações foram formuladas para suprir as exigências dos suínos, exceto em P, seguindo as recomendações do NRC (1998) e Rostagno et al. (2000).

No primeiro dia da fase experimental, cada animal recebeu, por via endovenosa, 0,5 mL de uma solução radioativa com 7,4 MBq de ^{32}P . A solução radioativa, preparada de acordo com Vitti (1989), constituía-se de fosfato de sódio ($\text{Na}_2\text{H}^{32}\text{PO}_4$), livre de carregador, adquirida no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN).

Nos três últimos dias da primeira fase, foram coletadas amostras de fezes para determinação do P inorgânico.

Após a aplicação do material radioativo, foram coletadas diariamente amostras de sangue, de fezes

e de urina. No final do período experimental, os suínos foram sacrificados e as amostras de tecidos (osso, músculo, coração, fígado e rim), coletadas.

As amostras de sangue foram centrifugadas imediatamente após a coleta, em 3.000 rpm, durante 10 minutos, e o plasma separado. Para detecção da radioatividade, 0,5 mL de plasma foi adicionado em água deionizada, em frasco de contagem; a

determinação foi obtida por efeito Cerenkov (Nascimento Filho & Lobão, 1977; IAEA, 1979). Ao volume de 1 mL de plasma adicionaram-se 9 mL de ácido tricloroacético (10%), determinando-se o teor de fósforo inorgânico por colorimetria.

As fezes foram coletadas durante sete dias, pesadas, maceradas e homogeneizadas. Um grama desta porção foi colocado em cadinhos de porcelana

Tabela 1 - Composição percentual das rações para suínos em fase de crescimento

Table 1 - Percentual composition of diets for growing swines

Ingrediente (kg) <i>Ingredient</i>	Nível crescente de fitase em UF/kg de dieta <i>Phytase increasing levels PU/kg diet</i>			
	253	759	1265	1748
Milho <i>Corn</i>	61,64	61,62	61,60	61,57
Farelo de arroz desengordurado <i>Defatted rice bran</i>	17,50	17,50	17,50	17,50
Óleo de soja <i>Soybean oil</i>	1,60	1,60	1,60	1,60
Farelo de soja <i>Soybean meal</i>	17,00	17,00	17,00	17,00
Calcário <i>Limestone</i>	1,40	1,40	1,40	1,40
Sal <i>Salt</i>	0,35	0,35	0,35	0,35
Suplemento vitamínico ^a <i>Vitamin supplement</i>	0,40	0,40	0,40	0,40
Suplemento mineral ^b <i>Mineral supplement</i>	0,10	0,10	0,10	0,10
Enzima fitase <i>Phytase enzyme</i>	0,011	0,033	0,055	0,076
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
Nutrientes <i>Nutrients</i>				
PB (%) ^c <i>CP</i>	17,30	17,30	17,30	17,30
ED (kcal/kg) <i>DE (kcal/kg)</i>	3279	3279	3279	3279
Lisina, % <i>Lysine</i>	0,74	0,74	0,74	0,74
Cálcio, % <i>Calcium</i>	0,61	0,61	0,61	0,61
P total (%) ^c <i>Total P</i>	0,74	0,74	0,74	0,74
P disponível <i>Available P</i>	0,17	0,17	0,17	0,17

^aQuantidades por kg de suplemento (*Amount/kg of supplement*): vit. A - 1500000 UI; vit. D₃ - 255000 UI; vit. E - 3000 mg; vit. K₃ - 500 mg; tiamina (*thiamin*) - 2500 mg; riboflavina (*riboflavin*) - 750 mg; piridoxina (*pyridoxin*) - 250 mg; vit B₁₂ - 3000 mcg; pantotenato de cálcio (*calcium pantothenate*) - 3750 mg; Niacina (*niacin*) - 5500 mg; antioxidante (*antioxidant*) - 6,25 g; promotor de crescimento (*growth promoter*) - 6,25 g; Se - 22,5 mg.

^bQuantidades por kg de suplemento (*Amount/kg of supplement*): Mn - 45 mg; Cu - 15 mg - Zn, 80 mg; Fe - 88 mg; I - 1 mg.

^cAnálises realizadas no LANA/CENA-USP.

^cAnalyses were performed at CENA/USP lab.

para as determinação de matéria seca (100°C) e de cinzas (500°C). As cinzas foram digeridas em 10 mL de ácido sulfúrico (18 N); o material digerido foi colocado em frascos de cintilação, completando-se o volume para 20 mL com água destilada, para determinação da radioatividade por efeito Cerenkov. Cerca de 1 g de fezes foi digerido com 5 mL de ácido clorídrico concentrado, seguindo-se filtragem e ao volume de 2,5 mL do filtrado foram adicionados 2,5 mL de água deionizada e 2 mL de reagente misto (quantidades iguais de molibdato de amônia a 5% e vanadato de amônia a 0,25%). As leituras do P inorgânico foram feitas por colorímetro. Das amostras de urina coletada, 0,5 mL foi diluído em 19,5 mL de água deionizada, e a atividade foi determinada por efeito Cerenkov. O fósforo inorgânico foi determinado da diluição de 1 mL de urina em 9 mL de ácido tricloroacético (10%).

As análises bromatológicas das dietas foram realizadas de acordo com as recomendações da AOAC (1980). Para determinação do P inorgânico do plasma e dos tecidos, seguiu-se o método descrito por Fiske & Subbarow (1925). A atividade do radionuclídeo foi determinada por efeito Cerenkov, em espectrômetro de cintilação líquida (Nascimento Filho & Lobão, 1977). O teor de P nas dietas foi calculado de acordo com Sarruge & Haag (1974); as atividades específicas, conforme Lofgreen (1960); e o P endógeno, segundo Vitti (1989).

O modelo matemático proposto para o estudo do fluxo de P em suínos (Figura 1) baseou-se nos estudos de Fernandez (1995) e Lopes et al. (2001), combinando dados dos estudos de metabolismo e cinética do P nos tecidos.

Foi adotado o modelo determinístico e compartimental, em que o compartimento C-1 é o trato gastrointestinal; C-2, o plasma; C-3, os ossos; e C-4, os tecidos moles, sendo o fígado, coração, rim e músculo estudados em conjunto, de acordo com a proporção de seus pesos.

Os parâmetros foram estimados por meio de equações envolvendo as seguintes variáveis: P consumido (V_P), P total excretado nas fezes (V_F), com as frações de origem alimentar (V_{FD}) e endógena (V_f), P excretado na urina (V_U), absorção de P de origem alimentar (V_{aa}) e reabsorção do fósforo de origem endógena (V_{af}), valor da fração de P endógeno, proveniente de secreções e de células de descamação, que chega ao trato gastrointestinal (V_{IT}), absorção total de P, incluindo as frações de origem endógena

e alimentar (V_{aT}) e balanço de P (B_a), definidas segundo Fernandez (1995) (equações 1 a 6). O valor P proveniente do total absorvido (V_{aT}) que retorna ao trato gastrointestinal (V_{eD1}) foi calculado pela diferença entre o P do V_{aT} e o P incorporado em C_3 e C_4 , após subtrair-se o P reciclado que retorna a estes compartimentos. O restante do total absorvido (V_{eD2}) foi distribuído proporcionalmente entre C_3 e C_4 (V_{O+T} e V_{O+D}), de acordo com as equações 7 – 10.

$$V_{FD} = V_I - V_{aa} \quad \text{(equação 1)}$$

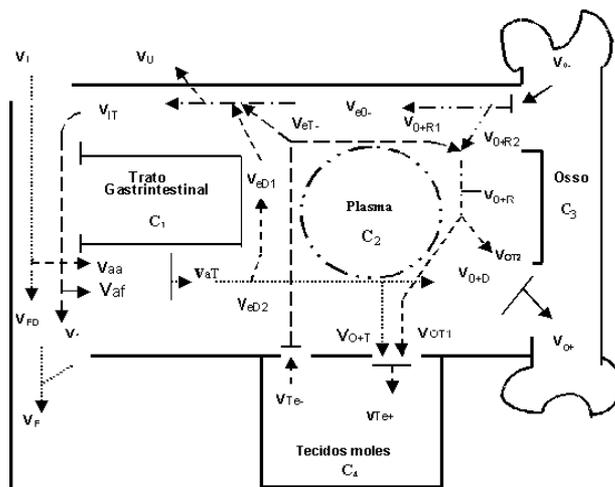
$$V_{aa} = V_I - V_{FD} \quad \text{(equação 2)}$$

$$V_{IT} = V_f / [1 - (V_{aa}/V_f)] \quad \text{(equação 3)}$$

$$V_{af} = V_{IT} - V_f \quad \text{(equação 4)}$$

$$V_{aT} = V_{aa} + V_{af} \quad \text{(equação 5)}$$

$$B_a = V_I - V_F - V_U \quad \text{(equação 6)}$$



LEGENDA: V_I - Quantidade de P ingerido (P intake); V_F - perda total de P nas fezes (total fecal P loss); V_f - P endógeno fecal (endogenous fecal P); V_{FD} - P nas fezes de origem dietética (fecal P from dietary origin); V_U - perda de P na urina (urinary P loss); V_{aa} - P absorvido de origem alimentar (absorbed P from dietary origin); V_{IT} - P de origem endógena, que chega ao trato gastrointestinal - TGI (Endogenous origin P into GIT); V_f - P endógeno reabsorvido no TGI (endogenous reabsorbed P in the GIT); V_{aT} - total de P absorvido (total absorbed of P); V_{aa} - P incorporado no osso (P accretion in the bone); V_{af} - P reabsorvido do osso (Reabsorbed in the bone); V_{OR1} - P do osso reciclado para osso e tecidos moles (P from bone recycled to bone and soft tissues); V_{OR2} - P do osso reciclado para osso e tecidos moles (P from bone recycled to bone and soft tissues); V_{OR} - total de P reciclado para o osso e tecidos moles (total P recycled into bone and soft tissues); V_{OT1} - P reabsorvido dos tecidos moles, que retorna ao TGI (Reabsorbed P from the soft tissues into the GIT); V_{OT2} - P do V_{aT} incorporado nos tecidos moles (P from V_{aT} to accretion in the soft tissues); V_{O+T} - P do V_{aT} que retorna ao TGI (P from V_{aT} into GIT); V_{O+D} - P do V_{aT} distribuído para o osso e tecidos moles (P from V_{aT} into bone and soft tissues); V_{OT1} - P do V_{OR} reincorporado nos tecidos moles (P from V_{OR} accretion into the soft tissues); V_{OT2} - P do V_{OR} reincorporado no osso (P from V_{OR} accretion into bone).

Figura 1 - Modelo do fluxo biológico do P no metabolismo de suínos.

Figure 1 - Model of the biological P flow on pig metabolism.

$$V_{eD1} = V_{aT} - (V_{o+} - V_{oR2}) - (V_{Te+} - V_{o+R1}) \quad (\text{equação 7})$$

$$V_{eD2} = V_{aT} - V_{eD1} \quad (\text{equação 8})$$

$$V_{o+D} = \frac{[V_{o+} \times (V_{aT} \times \% \text{ P incorporado no osso})]}{[V_{o-} \times (V_{aT} \times \% \text{ P incorporado no osso})]} \quad (\text{equação 9})$$

$$V_{o+T} = \frac{[V_{Te+} \times (V_{aT} \times \% \text{ P incorporado nos tecidos})]}{[V_{Te-} \times (V_{aT} \times \% \text{ P incorporado nos tecidos})]} \quad (\text{equação 10})$$

Na determinação do P incorporado no osso (V_{o+}) e nos tecidos moles, fígado, coração, rim e músculo (V_{Te+}), considerou-se a concentração de P (mg/gMS). O percentual de ^{32}P [(cpm amostra/g de MS)/(dose total injetada)]/[(mgP/g MS)] e a atividade específica dos tecidos [(% da atividade injetada de ^{32}P)/(mgP/gMS do tecido)] foram calculados de acordo com Lopes (1998). Para o ^{32}P retido nos tecidos moles, foi considerada a média dos valores encontrados em cada tecido estudado.

A quantidade de matéria seca (MS) de cada tecido foi determinada pelo produto entre o percentual de MS obtida e o peso dos tecidos, definidos segundo dados de pesquisa de Davidson (1966) e Lopes (1988).

Neste processo, foi utilizado, ainda, os decaimentos físico T1/2 e biológico (Tb) do ^{32}P , fundamentado na IAEA (1979), uma vez que os animais foram sacrificados uma semana após a aplicação do ^{32}P e a contagem do material radioativo, efetuada oito dias após o abate.

O valor do ^{32}P retido (mg/gMS) foi determinado pelo produto do percentual de ^{32}P retido e a

concentração total de P nos compartimentos C-1 e C-3 (mg/gMS).

Após a correção do decaimento do ^{32}P para a data da sua introdução na corrente sanguínea, calculou-se o P incorporado (mg/g MS) nos compartimentos 3 e 4 pela relação entre o valor de ^{32}P corrigido e o da atividade específica em cada compartimento envolvido. O P total incorporado (mg) nos compartimentos C₃ e C₄ foi obtido pelo produto entre a MS (g) do compartimento e o P incorporado (mg) pelo produto entre a MS (g) do compartimento e o P incorporado (mg/gMS). Os valores de V_{o+} e V_{Te+} (mgP/kgPV.dia) foram obtidos pela relação entre o P total incorporado no compartimento e o peso do animal (g). As equações 11 a 24 caracterizam essas determinações.

O P reabsorvido nos compartimentos C-3 (V_{o-}) e C-4 (V_{Te-}) foi calculado deduzindo-se, respectivamente, de V_{o+} e de V_{Te+} o valor do balanço de P multiplicado pela proporção de P incorporado no compartimento em estudo (equações 25 e 26).

Para determinação do P reciclado que retorna aos compartimentos C-3 e C-4 (V_{o+R1} e V_{o+R2}) e ao trato gastrointestinal ($V_{e0} - V_{eT}$), o cálculo foi realizado com base nas equações 27 a 30, segundo Fernandez (1995) e Lopes et al. (2001), adaptando-se ao modelo a proporção incorporada em cada um dos dois compartimentos, visto que neste trabalho o osso foi considerado como o único compartimento que mobilizou P. O valor do P proveniente dos ossos e tecidos moles, reciclado para os tecidos moles (V_{o+R}), o do P do V_{o+R} , reincorporado nos tecidos moles

$$^{32}\text{P retido no osso (mg } ^{32}\text{P/g MS)} = \text{P inorgânico (mg P/gMS)} \times \% ^{32}\text{P retido} \quad (\text{equação 11})$$

$$\text{P total incorporado osso (mg P)} = \text{P total osso (mg P/g MS)} \times \text{MS osso (g MS)} \quad (\text{equação 12})$$

$$V_{o+} (\text{mg P/kg PV}) = \frac{\text{P total incorporado osso (mg P)}}{\text{Peso total do suíno (kg)}} \times 1000 \quad (\text{equação 13})$$

$$\text{Peso total tecidos (g)} = \text{Peso suíno (g)} \times \% \text{ Peso tecidos} \quad (\text{equação 14})$$

$$\text{MS tecidos (g)} = \text{Peso total tecidos (g)} \times \% \text{ MS tecidos} \quad (\text{equação 15})$$

$$^{32}\text{P retido fígado (mg } ^{32}\text{P/g MS)} = \text{P inorgânico (mg P/g MS)} \times \% ^{32}\text{P retido} \quad (\text{equação 16})$$

$$^{32}\text{P retido coração (mg } ^{32}\text{P/g MS)} = \text{P inorgânico (mg P/g MS)} \times \% ^{32}\text{P retido} \quad (\text{equação 17})$$

$$^{32}\text{P retido rim (mg } ^{32}\text{P/g MS)} = \text{P inorgânico (mg P/g MS)} \times \% ^{32}\text{P retido} \quad (\text{equação 18})$$

$$^{32}\text{P retido músculo (mg } ^{32}\text{P/g MS)} = \text{P inorgânico (mg P/g MS)} \times \% ^{32}\text{P retido} \quad (\text{equação 19})$$

$$\text{P total incorporado tecido (mg P)} = \frac{\text{P total tecido (mg P/g MS)} \times \text{MS tecido (g)}}{\text{P total incorporado tecido (mg P)}} \quad (\text{equação 20})$$

$$V_{Te+} (\text{mg P/kg peso animal}) = \frac{\text{P total incorporado tecido (mg P)}}{\text{Peso do suíno (kg)}} \times 1000 \quad (\text{equação 21})$$

$$T1/2 = 0,693 / \text{constante de decaimento (K)} \quad (\text{equação 22})$$

$$\text{Atividade do material radioativo no tempo "t" (A)} = \text{Atividade inicial (A}_0) \times e^{-kt} \quad (\text{equação 23})$$

$$Tb = 0,693 t / \ln (A_0/A) \quad (\text{equação 24})$$

$$V_{o-} = V_{o+} - (Ba \times \% P \text{ incorporado no osso}) \quad (\text{equação 25})$$

$$V_{Te-} = V_{Te+} - (Ba \times \% P \text{ incorporado tecido}) \quad (\text{equação 26})$$

$$V_{0+R1} = \frac{V_{Te+} \times V_{Te-}}{[V_{Te+} (V_{aT} \times \% P \text{ incorporado tecido})]} \quad (\text{equação 27})$$

$$V_{0+R2} = \frac{V_{o+} \times V_{o-}}{V_{o-} + (V_{aT} \times \% P \text{ incorporado osso})} \quad (\text{equação 28})$$

$$V_{eo-} = V_{o-} - V_{0+R2} \quad (\text{equação 29})$$

$$V_{eT-} = V_{Te-} - V_{0R1} \quad (\text{equação 30})$$

$$V_{o+R} = V_{0+R1} + V_{0+R2} \quad (\text{equação 31})$$

$$V_{To1} = V_{o+R} - (V_{o+} - V_{o+D}) \quad (\text{equação 32})$$

$$V_{To2} = V_{o+R} - V_{To1} \quad (\text{equação 33})$$

(V_{To1}) e o P do V_{o+R} reincorporado nos ossos (V_{To2}) foram determinados de acordo com as equações 31 a 33.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com quatro tratamentos e quatro repetições para as variáveis relacionadas com o metabolismo e três para as variáveis dos tecidos.

As variáveis do modelo foram submetidas a análises de variância e de regressão polinomial, utilizando-se o procedimento PROC GLM. A derivação da equação quadrática, para obtenção dos pontos máximo e mínimo, foi obtida pelo LAB, ambos pertencentes ao programa SAS (1991).

Resultados e Discussão

Os resultados das variáveis relacionados ao fluxo do P no metabolismo de suínos em crescimento são apresentados nas Tabelas 2 e 3. Os níveis crescentes de enzima fitase não influenciaram o P consumido, resultado esperado, pois, neste estudo o consumo de ração foi padronizado.

As variáveis: V_{FD} , V_{IT} e V_{af} não foram afetadas pela fitase ($P > 0,05$). O V_{IT} é proveniente do *turnover* celular e de secreções no trato gastrointestinal, utilizado como rota metabólica para a excreção do excesso de P no plasma e o V_{af} representa o retorno de parte do V_{IT} para o sangue.

Os valores obtidos para o V_{IT} (18,88; 11,87; 13,43 e 18,29 mgP/kgPV) não são proporcionais aos obtidos para o V_{af} (6,14; 5,14; 4,75 e 5,18 mgP/kgPV.dia), uma vez que os níveis de 253 e 1748 UF, embora tenham apresentado valores mais altos para o V_{IT} , apresentaram níveis de V_{af} semelhantes aos demais, em decorrência da taxa de passagem no trato digestivo, que se altera de acordo com as características do alimento ingerido.

A ingestão de alimentos deficientes em P pode provocar elevação temporária da concentração do P no plasma e, conseqüente, aumentar as perdas endógenas e urinárias. Tal afirmação pode ser corroborada pelos resultados obtidos por Fernandez (1995), que observou comportamento similar com altos e médios níveis de P (334,29 e 220 mg/kg PV.d), e Lopes et al. (2001), que obtiveram para o V_{IT} valor numericamente maior para o tratamento sem fonte inorgânica de P (0,30 % de P total), quando comparado com o fosfato de Tapira, fosfato Patos de Minas e fosfato supertríplo (0,56 % de P total). Dessa maneira, valores mais altos para o V_{IT} podem não significar melhor aproveitamento do P, sendo necessária uma análise em conjunto com outras variáveis do modelo.

Observou-se efeito quadrático entre o V_f e os níveis crescentes de fitase ($P < 0,05$), conforme a equação $\hat{Y} = 1,269 - 0,0009X + 0,000000453X^2$, $R^2 = 0,72$, com ponto mínimo em 993 UF – limite de resposta da enzima. As excreções endógenas fecais de acordo com Breves & Schroder (1991) representam uma rota de excreção metabólica importante para o controle homeostático do fósforo no plasma, em animais monogástricos. As variáveis V_f e V_u não foram afetadas pela fitase, mas para V_f o nível 759 UF apresentou o menor valor, sendo a melhor resposta ao uso da enzima. A fitase hidroliza os grupos ortofosfatos das moléculas de ácido fólico, disponibilizando o P e outros minerais para o metabolismo e reduzindo a excreção fecal (Harper et al., 1997; Conte, 2000; Matsui et al., 2000). Todo o P não-absorvido pelos animais é excretado nas fezes, juntamente com a fração endógena, o que pode acarretar prejuízos ao meio ambiente (Lei et al., 1993).

O balanço geral de P foi obtido pela diferença entre a entrada e saída do modelo. Observou-se

efeito quadrático ($P < 0,05$) dos níveis de fitase sobre o balanço geral de P, $\hat{Y} = 53,132 + 0,132X - 0,00007X^2$, $R^2 = 0,89$, com ponto máximo em 943 UF. Da mesma forma, foi observado para as variáveis V_{aa} , que representa a absorção líquida, $\hat{Y} = 70,79 + 0,111X - 0,00006X^2$, $R^2 = 0,88$, ponto máximo de 925 UF, e P total (V_{aT}), $\hat{Y} = 77,741 + 0,1074X - 0,00006X^2$, $R^2 = 0,89$, ponto máximo de 895 UF, demonstrando que a enzima fitase foi eficiente em catabolizar o fitato disponibilizando o P para o metabolismo dos animais.

Figueirêdo et al. (2000), trabalhando com dietas formuladas com milho, farelo de soja e farelo de arroz integral para suínos, constataram que a fitase influenciou positivamente a absorção real. Segundo

os autores, a ação da fitase aumentou em 40,78% a utilização do P fítico. Ketaren et al. (1993), avaliando os efeitos da fitase em suínos em crescimento e terminação, observaram que a suplementação de 1.000 UF/kg de dieta elevou em 53% a digestibilidade aparente do fósforo do farelo de soja. Conte (2000), avaliando os efeitos de níveis crescentes de fitase (0, 400, 800, 1200 UF/kg de dieta) em dietas balanceadas com farelo de arroz integral para aves, observou efeito quadrático para P absorvido aparente, com resposta máxima no nível 750 UF. Estes trabalhos estão em consonância com o presente estudo quanto à ação da enzima em disponibilizar o P da molécula de fitato para o metabolismo.

Tabela 2 - Efeito dos níveis crescentes de fitase sobre os parâmetros relacionados ao fluxo do P no metabolismo de suínos

Table 2 - Effect of increasing phytase levels on the parameters related to the flow of P in metabolism of pigs

Parâmetros (mg/kg PV.dia) Parameter (mg/kg LW.day)	Níveis de fitase UF/kg de dieta Phytase increasing PU/kg of diets				
	253	759	1265	1748	CV%
P consumido (V_I) Intake P	301,47	303,42	309,24	298,80	4,71
P fecal de origem alimentar (V_{FD}) Fecal P from dietary origin	209,09	175,34	202,92	215,98	12,34
P endógeno para TGI (V_{IT}) Endogenous P into GIT	18,88	11,87	13,48	18,29	41,41
P endógeno absorvido (V_{af}) Endogenous absorbed P	6,14	5,14	4,75	5,18	50,10
P endógeno fecal (V_f) Endogenous fecal P	12,74	6,73	8,73	13,11	15,70*
P total nas fezes (V_F) Fecal total P	221,83	182,07	211,65	229,09	11,74
Purina (V_U) Urinary P	0,50	0,51	0,32	0,59	62,25
Balanço geral de P General balance P	79,15	120,85	97,28	69,11	18,72*
P dietético absorvido (V_{aa}) Dietary absorbed P	92,38	128,08	106,32	82,82	18,00*
Total de P absorvido (V_{aT}) Absorbed total P	98,52	133,22	111,07	88,00	19,16*
P do V_{aT} que retorna ao TGI (V_{eD1}) P from V_{aT} into GIT	10,95	8,26	9,07	9,05	56,95
P do V_{aT} para os ossos e tecidos moles (V_{eD2}) P from V_{aT} into bones and soft tissues	87,57	124,96	102,00	78,95	17,63*
P do V_{aT} para os tecidos moles (V_{o+T}) P from V_{aT} into soft tissues	15,32	17,73	18,30	18,31	27,41
P do V_{aT} incorporado no osso (V_{o+D}) P from V_{aT} accretion in bone	72,25	107,23	83,70	60,64	21,48*
P incorporado no osso (V_{o+}) P from accretion in bone	137,41	157,02	146,66	132,50	17,95
P reabsorvido do osso (V_{O-}) Reabsorbed P in bone	72,16	53,31	66,88	79,38	35,94

* Efeito quadrático ($P < 0,05$).

* Quadratic effect ($P < 0,05$).

O refluxo do P total absorvido para o trato gastrintestinal (V_{eD1}) não foi afetado pela enzima fitase, apresentando valores superiores (10,95; 8,26; 9,07 e 9,05 mgP/kgPV.dia) ao encontrado por Lopes et al. (2001), para o tratamento sem fonte inorgânica de fósforo, que obtiveram o valor de 3,05 mgP/kgPV.dia, e semelhante aos observados para os fosfatos bicálcico e monoamônio (8,07 e 10,92 mgP/kgPV.dia).

A fração do P total absorvido destinado aos ossos e tecidos moles (V_{eD2}) foi influenciada pela fitase, apresentando efeito quadrático ($P < 0,05$), $\hat{Y} = 65,554 + 0,1138X - 0,00006X^2$, $R^2 = 0,86$, com ponto máximo em 948 UF. O mesmo efeito foi observado para a parte incorporada nos ossos (V_{o+D}) $\hat{Y} = 51,715 + 0,1071X - 0,00006X^2$, $R^2 = 0,86$, com ponto máximo em 892 UF, e para o balanço de P no osso, $\hat{Y} = 41,66 + 0,1211X - 0,00007X^2$, $R^2 = 0,88$, com ponto máximo em 865 UF.

As variáveis em conexão direta com ossos apresentaram maior sensibilidade para o estudo deste mineral, pois do V_{aT} cerca de 69% destinaram-se aos ossos, 15,18% aos tecidos, 15,38% ao trato

gastrintestinal e 0,46% à urina. Os ossos funcionaram como um centro de armazenamento e distribuição de P; dessa maneira, a quantidade de P necessária para maximizar o desenvolvimento dos ossos é diferente da exigida para o desempenho (Libal et al., 1969).

Moreira et al. (2001), utilizando dietas iguais às usadas neste experimento, porém, em ensaio de desempenho de suínos em crescimento, não observaram efeito sobre consumo de ração, conversão alimentar e ganho de peso diário, entretanto, para a porcentagem de P nas cinzas ósseas, verificaram efeito quadrático com resposta máxima no nível 880 UF. Este valor foi semelhante ao obtido neste estudo (865 UF), para a variável balanço de P no osso.

Para as variáveis V_{eD1} , V_{o+T} , V_{o+} , V_{o-} , V_{oR2} , V_{oR1} , V_{oR} , V_{oT2} e V_{Te+} , não foram detectados efeitos da fitase ($P > 0,05$), mas o P reabsorvido dos tecidos moles (V_{Te-}) apresentou efeito quadrático negativo ($P < 0,05$), $\hat{Y} = 23,633 - 0,347X + 0,00002X^2$, $R^2 = 0,99$, com ponto de mínimo em 867 UF. Este efeito foi antagônico ao observado para a variável V_{aT} .

Tabela 3 - Efeito dos níveis crescentes de fitase sobre os parâmetros relacionados ao fluxo do P no metabolismo de suínos

Table 3 - Effect of the increasing phytase levels on the parameters related to the P flow in the pig metabolism

Parâmetros (mg/kg PV.dia) Parameter (mg/kg LW.day)	Níveis de fitase UF/kg de dieta Phytase increasing PU/kg of diets				
	253	759	1265	1748	CV%
Balanço de P no osso <i>P balance in the bone</i>	65,25	103,71	79,78	53,12	22,39*
V_{O-} para TGI e urina (V_{eO-}) <i>V_{o-} into GIT</i>	7,00	3,52	3,92	7,52	15,36*
V_{O-} para o osso e tecidos moles (V_{O+R2}) <i>V_{o-} into bone and soft tissues</i>	65,16	49,79	62,96	71,86	38,00
V_{Te-} para o osso e tecidos moles (V_{O+R1}) <i>V_{Te-} into bone and soft tissues</i>	14,62	8,96	11,56	23,83	55,43
V_{O+R1} e V_{O+R2} para osso e tecidos (V_{O+R}) <i>V_{O+R1} and V_{O+R2} into bone and tissues</i>	79,78	58,75	74,52	95,69	37,02
V_{O+R} reincorporado no osso (V_{OT2}) <i>V_{O+R} accretion in bone</i>	65,16	49,79	62,96	71,86	38,00
V_{O+R} reincorporado nos tecidos (V_{OT1}) <i>V_{O+R} accretion in tissues</i>	14,62	8,96	11,56	23,83	55,43
P incorporado nos tecidos (V_{Te+}) <i>P from accretion in tissues</i>	29,94	26,69	29,86	42,14	32,30
P reabsorvido dos tecidos (V_{Te-}) <i>Reabsorbed P in tissues</i>	16,05	9,56	12,36	26,14	32,03*
V_{Te} para TGI e urina (V_{eT-}) <i>V_{Te} into GIT and urinary</i>	1,43	0,60	0,81	2,31	32,73*
Balanço de P nos tecidos <i>P balance in tissues</i>	13,89	17,13	17,50	16,00	28,38

* Efeito quadrático ($P < 0,05$).

* Quadratic effect ($P < 0,05$).

Foi observada redução de forma quadrática ($P < 0,05$) para o refluxo do P reciclado dos ossos (V_{eo-}), $\hat{Y} = 10,055 - 0,014X + 0,000007X^2$, $R^2 = 0,99$, com ponto mínimo em 1000 UF. O mesmo efeito foi detectado para o refluxo do P dos tecidos moles destinado ao trato gastrointestinal e urina (V_{eT-}), $\hat{Y} = 2,3567 - 0,0042X + 0,000002X^2$, $R^2 = 0,99$, com ponto mínimo em 1050 UF.

O metabolismo do fósforo está relacionado ao cálcio, sendo controlado por um sistema fisiológico eficiente envolvendo os hormônios da paratireóide (PTH), calcitonina e vitamina D (Gurtler et al., 1984). Assim, quando o nível de absorção do P não atende às exigências metabólicas, o P reciclado do osso aumenta e o excesso pode ser detectado no plasma, motivo pelo qual alguns pesquisadores consideram esta variável um indicador pouco preciso do aproveitamento do P (Vipperman Jr. et al., 1974).

O refluxo do P para o trato gastrointestinal e a urina ocorre para regular a concentração no sangue, podendo explicar a ausência de efeito no plasma, quando este é esperado. Observaram-se, neste experimento, valores de 8,43; 7,90; 7,59 e 7,44 mgP/100 mL de plasma, correspondendo, respectivamente, aos níveis 253, 759, 1265 e 1748 UF. O valor do V_{aT} foi de 98,52; 133,22; 111,07 e 88,00 mgP/kgPV.dia, de V_{eo-} , de 7,00; 3,52; 3,92 e 7,52 mgP/kgPV.dia; e de V_{eT-} , de 1,43; 0,60; 0,81 e 2,31 mgP/kgPV.dia, respectivamente. Portanto, o refluxo explica a ausência de efeito para a variável P no plasma, pois para os menores valores de V_{aT} os de refluxo foram maiores.

Observou-se efeito linear decrescente $\hat{Y} = 5,873 - 0,0964X$, $R^2 = 0,83$ ($P < 0,05$) do P total absorvido (V_{aT}) sobre o refluxo do P reciclado dos ossos. À medida que o V_{aT} aumentou, o refluxo de P dos ossos para o trato gastrointestinal e a urina reduziu, demonstrando que, em situações de redução do P no plasma, a reabsorção pode ser superior à exigência, sendo o excesso excretado no TGI e na urina.

Lopes et al. (2001), estudando o fluxo de P em suínos alimentados com dietas contendo fosfato bicálcico, Tapira, Patos de Minas, monoamônio, supertriplo e dieta sem P inorgânico, observaram os seguintes valores: $1 - V_{eo-}$: 6,08; 2,38; 2,55; 5,09; 4,07 e 8,42 mgP/kgPV.dia, $2 - V_{eT-}$: 1,81; 0,62; 0,75; 1,20; 0,97 e 2,55 mgP/kgPV.dia. O refluxo de P do tratamento sem P inorgânico foi superior ao tratamento com fosfato bicálcico e fosfatos naturais, reforçando a hipótese de que a reabsorção do P pode ser maior que a exigência metabólica. Fernandez (1995) estudou

níveis altos e médios de consumo de P e Ca e também observou maior refluxo nos níveis médios.

Conclusões

O modelo biomatemático utilizado mostrou-se eficiente em explicar o fluxo do fósforo no organismo de suínos em crescimento.

A enzima fitase interferiu no fluxo biológico do P do trato gastrointestinal para os ossos e no refluxo dos compartimentos ossos e tecidos moles para o trato gastrointestinal.

A fitase no nível de 759 UF/kg de ração disponibilizou mais eficientemente o fósforo orgânico para o metabolismo dos suínos.

Literatura Citada

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 13.ed. Washington, D.C.: AOAC, 1980. 1018p.
- ADEOLA, O.; LAWRENCE, B.V.; SUTTON, A.L. et al. Phytase-induced in mineral utilization in zinc-supplemented diets for pigs. **Journal of Animal Science**, v.73, p.3384-3391, 1995.
- BARBOSA, H.P.; MORAES, N.; FIALHO, E.T. Efeitos dos níveis de flúor provenientes dos fosfatos de tapira e monocálcico no desempenho e característica do osso de suínos em crescimento e terminação. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.21, p.839-847, 1992.
- BREVES, G.; SCHRODER, B. Comparative aspects of gastrointestinal phosphorus metabolism. **Nutrition Research Reviews**, v.4, p.125-140, 1991.
- CONTE, J.A. **Valor nutritivo do farelo de arroz integral em rações para frangos de corte, suplementadas com fitase e xilanase**. Lavras, MG: Universidade Federal de Lavras, 2000. 164p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, 2000.
- CROMWELL, G.L. Phytase appears to reduce phosphorus in feed, manure. **Feedstuffs**, v.63, p.41, 1991.
- CROMWELL, G.L.; STAHLY, T.S.; COFFEY, R.D. et al. Efficacy of phytase in improving the bioavailability of phosphorus in soybean meal and corn-soybean meal diets for pigs. **Journal of Animal Science**, v.71, p.1831-1840, 1993.
- CROMWELL, G.L.; COFFEY, R.D.; MONEGUE, H.J. et al. Efficacy of low-activity, microbial phytase in improving the bioavailability of phosphorus in corn-soybean meal diets for pigs. **Journal of Animal Science**, v.73, p.449-456, 1995a.
- CROMWELL, G.L.; COFFEY, R.D.; PARKER, G.R. et al. Efficacy of a recombinant-derived phytase in improving the bioavailability of phosphorus in corn-soybean meal diets for pigs. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2000-2008, 1995b.
- DAVIDSON, H.R. Pig meat: The carcass in relation to the live pig. In: DAVIDSON, H.R. (Ed.) **The production and marketing of pigs**. 3.ed. London: Longmans, 1966. p.89-102.
- FERNANDEZ, J.A. Calcium and phosphorus metabolism in growing pigs: III. A model resolution. **Livestock Production Science**, v.41, p.2255-2261, 1995.

- FIGUEIRÊDO, A.V.; FIALHO, E.T.; VITTI, D.M.S.S. et al. Ação da enzima fitase sobre a disponibilidade biológica do fósforo, por intermédio da técnica de diluição isotópica, em dietas com farelo de arroz integral para suínos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.177-182, 2000.
- FISKE, C.H.; SUBBARROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry**, v.66, p.375-400, 1925.
- GOMES, P.C.; LIMA, G.J.M.M.; GOMES, J.M.M. et al. Disponibilidade de fósforo nos fosfato de tapira, fosforíndus e na farinha de ossos para suínos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.21, p.83-89, 1992.
- GURTLER, H.; KETZ, H.A.; KOLB, E. et al. **Fisiologia veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. 612p.
- GRACE, N.D. Phosphorus kinetics in the sheeps. **British Journal Nutrition**, v.45, p.367-374, 1981.
- HARPER, A.F.; KORNEGAY, E.T.; SCHELL, T.C. Phytase supplementation of low-phosphorus growing-finishing pig diets improves performance, phosphorus digestibility, and bone mineralization and reduces phosphorus excretion. **Journal of Animal Science**, v.75, p.3174-3186, 1997.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Laboratory traing manual on the use of nuclear techniques in animal reserch**. Vienna: IAEA, 1979. 299p. (Technical Report Series, 193).
- KEBREAB, E.; FRANCE, J. **Biomathematical modelling guidelines for natural resources projects**. Reading: University of Reading, 1999. 9p.
- KETAREN, P.P.; BATTERHAM, E.S.; WHITE, E. Phosphorus study in pigs. I. Available phosphorus requirements of grower/finisher pigs. **British Journal Nutrition**, v.70, p.249-268, 1993.
- LEI, X.G.; KU, P.K.; MILLER, E.R. et al. Supplementing corn-soybean meal diets with microbial phytase linearly improves phytase phosphorus utilization by weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v.71, p.3359-3367, 1993.
- LIBAL, G.W.; PEO, E.R.; ANDREWS, R.P.; VIPPERMAN JR, P.E. Levels of calcium and phosphorus for growing-finishing swine. **Journal of Animal Science**, v.28, p.331-335, 1969.
- LOPES, J.B. Efeito dos níveis de proteínas e energia sobre características de carcaça de suínos em crescimento e terminação. In: SEMINÁRIOS DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO PIAUÍ, 5., 1988, Teresina. **Anais...Teresina: EMBRAPA**, 1988. p.209-216.
- LOPES, J.B. **Avaliação da absorção real e das perdas endógenas de fósforo em suínos pela técnica de diluição isotópica**. Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 1998. 87p. Tese (Doutorado em Ciência) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura/ Universidade de São Paulo, 1998.
- LOPES J.B.; VITTI, D.M.S.S.; ABDALLA, A.L. et al. Modelo do fluxo biológico do fósforo de fontes de fosfato em suínos, usando o ³²P como marcador. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.165-173, 2001.
- LOFGREEN, G.P. The availability of the phosphorus in dicalcium phosphate, bone, meal, soft phosphate and calcium phytates for mature wethers. **Journal of Nutrition**, v.70, p.58-62, 1960.
- MATSUI, T.; NAKAGAWA, Y.; TAMURA, A. et al. Efficacy of yeast phytase in improving phosphorus bioavailability in a corn-soybean meal-based diet for growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.78, p.94-99, 2000.
- MOREIRA, J.A.; VITTI, D.M.S.S.; TRINDADE NETO, M.A. et al. Enzima fitase e farelo de arroz desengordurado para suínos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais... Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 2001. p.703-704.
- NASCIMENTO FILHO, V.F.; LOBÃO, A.O. **Deteção de P-32 em amostras de origem animal e vegetal por efeito Cerenkov, cintilação líquida e detector GM**. Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 1977. 25p. (Boletim Científico, 48).
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of swine**. 10.ed. Washington, D.C.: National Academy of Science, 1998. 189p.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 141p.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1974. 56p.
- SAUVANT, D.; BAUMONT, R.; FAVERDIN, P. Development of a mechanistic model of intake and chewing activities of sheep. **Journal of Animal Science**, v.74, p.1785-2802, 1996.
- STATISTICAL ANALYSES SYSTEM - SAS. **SAS applications guide**. Cary: 1991. 380p.
- VITTI, D.M.S.S. **Avaliação da disponibilidade biológica de fósforo dos fosfatos bicálcicos, Patos de Minas, Tapira e finos de Tapira para ovinos pela técnica de diluição isotópica**. São Paulo: Instituto de Pesquisa Energética e Nucleares, 1989. 87p. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares/Universidade de São Paulo, 1989.
- VIPPERMAN JR., P.E.; PEO JR., E.R.; CUNNINGHAM, P.J. Effect of dietary calcium and phosphorus level upon calcium, phosphorus and nitrogen balance in swine. **Journal of Animal Science**, v.38, n.4, p.758-765, 1974.
- VITTI, D.M.S.S.; KEBREAB, E.; LOPES, J.B. et al. A kinetic model of phosphorus metabolism in growing goats. **Journal of Animal Science**, v.78, p.2706-2712, 2000.

Recebido em: 05/05/03

Aceito em: 09/12/03