

Modelos matemáticos para o estudo do fluxo biológico do fósforo em suínos alimentados com dietas suplementadas com níveis crescentes de fitase

[Mathematical models for the study of the biological flow of phosphorus in pigs fed with diets containing increasing levels of phytase]

J.A. Moreira¹, J.B. Lopes², D.M.S.S. Vitti¹, A.O. Teixeira¹

¹Centro de Energia Nuclear na Agricultura - USP
Caixa Postal 96
13400-970 – Piracicaba, SP

²Universidade Federal do Piauí - Campus Socopo – Teresina, PI

RESUMO

A pesquisa foi realizada para avaliar o fluxo biológico do fósforo entre os compartimentos, fisiológicos ou anatômicos, de suínos mantidos em dietas que continham níveis crescentes de fitase, usando o P-32 como traçador. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, sendo os tratamentos constituídos por níveis de enzima fitase, 253, 759, 1265 e 1748 UF/kg, nas dietas. As variáveis avaliadas foram: ingestão, excreção, atividades específicas e fluxo de P nos compartimentos (trato digestivo, corrente sanguínea, tecidos moles e ossos). A enzima fitase não interferiu nas excreções fecais e urinárias, nas atividades específicas, na incorporação e na reabsorção de P nos ossos e nos tecidos moles e no fluxo bidirecional do trato digestivo e na corrente sanguínea, mas afetou linearmente a absorção e a retenção nos ossos. As respostas mais evidentes dos efeitos da adição da fitase são observadas nos níveis mais baixos.

Palavras-chave: enzima fitase, diluição isotópica, fósforo, nutrição, poluição ambiental

ABSTRACT

The biological flow of P was evaluated among the physiologic or the anatomical compartments of pigs fed diets with increasing phytase levels, using P-32 as tracer. The experimental design was completely randomized. Treatments consisted of phytase levels in diets (253, 759, 1265, and 1748UF/kg). The evaluated variables were: feed intake, excretion, specific activities and flow of P in the compartments (gut, blood, bone, and soft tissue). Phytase level did not interfere with fecal and urinary excretion, specific activities, incorporation and resorption of bone, and soft tissue P and in the bidirectional flow of gut and blood, but linearly affected P absorption and bone P retention. The best response was observed with the lowest phytase levels.

Keywords: environmental pollution, phytase enzyme, isotopic dilution, nutrition, phosphorus

INTRODUÇÃO

Os modelos matemáticos têm sido usados como parte de pesquisas em diversas áreas da ciência e são caracterizados por uma equação ou um conjunto de equações representativas do comportamento de um sistema biológico (Vitti et al., 2000; Lopes et al., 2001). O uso desses

modelos, desenvolvidos com radiotraçadores, permite estudar fenômenos complexos com muita precisão e possibilita acompanhar passo a passo a trajetória do radionuclídeo no metabolismo dos animais e extrapolar com segurança para a população os resultados obtidos nas pesquisas científicas (Lopes et al., 2001).

Recebido em 24 de agosto de 2008

Aceito em 23 de março de 2009

E-mail: jmoreira@bol.com.br

Apoio: FAPESP (Processo 06/57574-5 E 04/14532-5)

O P é um elemento importante para o metabolismo dos animais. Além das óbvias diferenças entre as espécies, diversas são as variáveis empregadas para avaliar a utilização deste elemento. Dentre elas destacam-se: ganho de peso, resistência à quebra dos ossos, teor de fósforo no soro, atividade da fosfatase alcalina, teores fósforo e de cinzas nos ossos, anormalidades no esqueleto, densidade dos ossos, distribuição do fósforo em tecidos, digestibilidade aparente e digestibilidade verdadeira (Vitti, 1989; Barbosa et al., 1992; Gomes et al., 1992; Teixeira et al., 2004), o que tem gerado grande volume de informações. Diante da variedade de informações existentes, alguns pesquisadores têm se voltado a simular modelos matemáticos que possam se ajustar aos fenômenos biológicos (Kebreab e France, 1999; Vitti et al., 2000; Lopes et al., 2001; Bravo et al., 2003; Dias, 2006).

A análise compartimental em estudo de modelos biomatemáticos vem sendo amplamente utilizada para sintetizar modelos mais simples, que simulam o comportamento de um sistema biológico, relacionado-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 (Grace, 1981), pois 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 o fluxo de saída do elemento nos compartimentos sejam constantes.

Os animais monogátricos não aproveitam eficientemente o fósforo fítico por não sintetizarem a fitase, a enzima capaz de catabolizar o fitato e de disponibilizar o fósforo e outros minerais para o metabolismo (Cromwell, 1995ab, Moreira et al., 2001). Assim, ao se formularem rações para suínos, é necessária a adição de uma fonte inorgânica de fósforo. O uso de fitase pode contribuir para a eliminação ou a redução de adição de fósforo inorgânico em dietas para suínos, de modo a diminuir o impacto ambiental causado pela excreção deste mineral. Entretanto, os estudos iniciais desenvolvidos com a fitase, apesar de promissores, tiveram como entrave o alto custo no processo de obtenção da enzima. Porém, com o avanço da tecnologia de fermentação, a fitase vem sendo produzida industrialmente, o que tem despertado

mais interesse de diversos nutricionistas, principalmente em países europeus e norte-americanos, preocupados com o alto custo do fósforo inorgânico e com a poluição ambiental (Lei et al., 1993; Cromwell, 1991; Cromwell et al., 1993, 1995ab).

O experimento foi desenvolvido para avaliar o fluxo biológico do fósforo entre os compartimentos fisiológicos ou anatômicos de suínos, em dietas que continham níveis crescentes de fitase.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento usando a técnica de diluição isotópica foi desenvolvido no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, SP. Foram utilizados 12 suínos mestiços, machos, castrados, com média de peso de $31,68 \pm 1,62$ kg.

Os tratamentos foram constituídos por quatro níveis de fitase, 253, 759, 1265 e 1748UF/kg de ração, em dietas formuladas à base de milho, de farelo de soja e de farelo de arroz desengordurado. A composição química dos ingredientes das rações e a composição percentual das rações experimentais são apresentadas nas Tab. 1 e 2.

O experimento teve duração de 17 dias, sendo 10 correspondentes à fase pré-experimental e sete à fase de coletas. Nos três últimos dias da primeira fase, foram coletadas amostras de fezes, de sangue e de urina para a determinação do P inorgânico.

No primeiro dia da fase experimental, cada animal recebeu, por via endovenosa, 0,5mL de uma solução radioativa com 7,4MBq de ^{32}P . A solução radioativa, preparada de acordo com Vitti et al. (2006), era constituída de fosfato de sódio ($\text{Na}_2\text{H}^{32}\text{PO}_4$), livre de carregador e adquirida no Instituto de Pesquisas Energéticas. Após a aplicação do material radioativo, foram coletados diariamente, em intervalos de 24 horas, durante sete dias, 10mL de sangue, com o uso de tubos a vácuo. As amostras de sangue foram centrifugadas imediatamente após a coleta em 3000rpm, durante 10 minutos, para separação do plasma.

Tabela 1. Composição química dos ingredientes das rações (matéria original) fornecidas a suínos

Nutriente (%)	Ingrediente				
	Milho	Farelo de soja	Farelo de arroz desengordurado	Fosfato bicálcico	Calcário
Matéria seca ¹	96,68	96,67	90,33	-	-
Proteína bruta ¹	9,53	46,60	20,02	-	-
Extrato etéreo ¹	6,97	3,32	3,87	-	-
Fibra bruta ¹	4,78	8,18	10,73	-	-
P total ¹	0,33	0,76	2,33	18,32 ²	-
Ca ²	0,02	0,36	0,11	24,35 ²	37,3 ²
ED ^{2,3} (kcal/kg)	3493	3378	2424	-	-
Lisina ²	0,23	2,87	0,62	-	-
Metionina ²	0,17	0,65	0,29	-	-
Treonina ²	0,34	1,78	0,56	-	-
Triptofano ²	0,08	0,67	0,16	-	-

¹Análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal - CENA-USP.

²Baseados nas tabelas de Rostagno et al. (2005).

³ED: energia digestível.

Tabela 2. Composição percentual das rações para suínos em fase de crescimento, fornecidas a suínos

Ingrediente (%)	Nível de inclusão da fitase (UF/kg) na dieta			
	253	759	1265	1748
Milho	61,64	61,62	61,60	61,57
Farelo de arroz desengordurado	17,50	17,50	17,50	17,50
Óleo vegetal	1,60	1,60	1,60	1,60
Farelo de soja	17,00	17,00	17,00	17,00
Fosfato bicálcico	0,00	0,00	0,00	0,00
Calcário	1,40	1,40	1,40	1,40
Sal	0,35	0,35	0,35	0,35
Pre-mistura vitamínica ¹	0,40	0,40	0,40	0,40
Pre-mistura mineral ²	0,10	0,10	0,10	0,10
Enzima fitase	0,011	0,033	0,055	0,076
Valor calculado				
Energia digestível (kcal/kg)	3279	3279	3279	3279
Proteína bruta	17,30	17,30	17,30	17,30
Lisina	0,74	0,74	0,74	0,74
Triptofano	0,19	0,19	0,19	0,19
Treonina	0,61	0,61	0,61	0,61
Metionina	0,27	0,27	0,27	0,27
Cálcio	0,61	0,61	0,61	0,61
Fósforo total	0,74	0,74	0,74	0,74
Fósforo disponível	0,22	0,22	0,22	0,22
Fibra	6,21	6,21	6,21	6,21
Sódio	0,14	0,14	0,14	0,14
Valor analisado				
Fósforo total	0,77	0,75	0,69	0,74

¹Quantidade p/kg de ração: vit.A: 1500000UI; vit. D₃: 255000UI; vit.E: 3000mg; vit.K₃: 500mg; tiamina: 2500mg; riboflavina: 750mg; piridoxina: 250mg; vit.B₁₂: 3000mcg; pantotenato de cálcio: 3750mg; niacina: 5500mg; antioxidante: 6,25g; promotor de crescimento: 6,25g; cloreto de colina: 75g; selênio: 22,5mg.

²Quantidade p/kg de ração: Mn: 45mg; Cu: 15mg; Zn: 80mg; Fe: 88mg; I: 1mg.

Análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal - CENA-USP.

Modelos matemáticos...

Para a detecção da radioatividade, 0,5mL de plasma foi adicionado em água deionizada em frasco de contagem, e a determinação foi obtida por efeito Cerenkov (Laboratory..., 1979; Nascimento Filho e Lobão, 1977). Ao volume de 1mL de plasma adicionaram-se 9mL de ácido tricloroacético a 10%, e o teor de fósforo inorgânico foi determinado por colorimetria.

As fezes foram coletadas durante sete dias, pesadas, maceradas e homogeneizadas e, para determinação da radioatividade, foi colocado um grama de fezes em cadinhos de porcelana para as determinações da matéria seca (100°C) e das cinzas (500°C). As cinzas foram digeridas com 10mL de ácido sulfúrico (18N) e o material digerido foi colocado em frascos de cintilação, completando-se o volume para 20mL com água destilada, determinando-se a radioatividade por efeito Cerenkov. Para determinação do fósforo inorgânico, cerca de 1g de fezes foi digerido com 5mL de ácido clorídrico concentrado, seguindo-se filtração; ao volume de 2,5mL do filtrado foram adicionados 2,5mL de água deionizada e 2mL de reagente misto (quantidades iguais de molibdato de amônia a 5% e de vanadato de amônia a 0,25% (Sarruge e Haag, 1974). A determinação do P inorgânico foi feita em colorímetro.

Das amostras de urina coletadas, 0,5mL foi diluído em 20mL de água deionizada, e a atividade do fósforo radioativo foi determinada por efeito Cerenkov. O fósforo inorgânico foi determinado após a diluição de 1mL de urina em 9mL de ácido tricloroacético (10%) (Fiske e Subbarow, 1925).

No sétimo dia, os suínos foram sacrificados de acordo com a aprovação da Comissão de Ética em Experimentação com Animais do CENA para coleta de amostras de osso (10ª a 14ª costela) e de tecidos moles (fígado, coração, rins e músculo (lombo).

As análises bromatológicas das dietas foram realizadas de acordo com as recomendações da AOAC (Official..., 1980). Para a determinação do P inorgânico no plasma e nos tecidos, seguiu-se o método descrito por Fiske e Subbarow (1925). A atividade do radionuclídeo foi

determinada por efeito Cerenkov, em espectrômetro de cintilação líquida (Nascimento Filho e Lobão, 1977). O teor de P nas dietas foi calculado pelo método do vanado molibdato (Sarruge e Haag, 1974), e os cálculos de atividades específicas ($^{32}\text{P}/\text{P}$ total) foram realizados conforme Lofgreen (1960).

O modelo proposto de metabolismo do fósforo (Fig. 1) baseou-se nos estudos de Vitti et al. (2000). Utilizaram-se os seguintes compartimentos anatômicos: trato digestivo, tecidos moles (coração, fígado e rins) e ossos. Estes estão em fluxo bidirecional com o sangue, que funciona como compartimento central das trocas do mineral. Para elaboração do modelo do fluxo do fósforo, foram medidas as variáveis de entrada no sistema [P consumido (F_{10})] e de saída [excreção fecal (F_{01}) e urinária (F_{02}) de P], as atividades específicas do ^{32}P nas fezes, no sangue, nos ossos e nos tecidos moles (S_1, S_2, S_3 e S_4) e outras entradas, tais como a quantidade de P no sangue, no osso e nos tecidos (Q_2, Q_3, Q_4), e outras saídas, representadas pelo fluxo bidirecional de P entre o sangue e o trato digestivo, os ossos e os tecidos moles ($F_{12}, F_{21}, F_{32}, F_{42}, F_{2324}, F_{24}, F_{23}$).

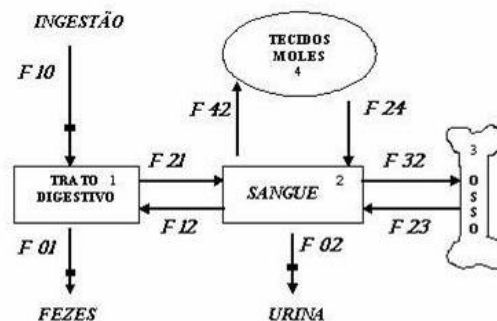


Figura 1. Modelo de Vitti para a distribuição de P no metabolismo de suínos (Vitti et al., 2000).

O princípio da conservação das massas pode ser aplicado para cada compartimento na Fig. 1 para gerar as equações diferenciais, apresentadas a seguir, as quais descrevem o comportamento dinâmico do sistema. Assim, as equações diferenciais de 1 a 4 representam esse princípio para o fósforo não marcado, e as equações de 5 a 8 para o fósforo marcado, conforme definido na Tab. 3.

Tabela 3. Símbolos utilizados no desenvolvimento do modelo de Vitti para a distribuição de P no metabolismo de suínos

F_{ij}	Fluxo total de P para o <i>pool</i> i a partir do J. F_{i0} denota fluxo externo dentro do <i>pool</i> i e F_{0j} o fluxo de saída do sistema a partir do compartimento j. Parâmetros em negrito indicam o fluxo que pode ser medido experimentalmente: g/d.
D	Dose de ^{32}P administrada no sangue no tempo zero: cpm.
Q_i	Quantidade total de P no <i>pool</i> i : g.
q_i	Quantidade de ^{32}P no <i>pool</i> i : cpm
S_i	Atividade específica do <i>pool</i> i ($= q_i/Q_i$) : cpm/g.
T	Tempo : d.

$dQ_1/dt = F_{10} + F_{12} - F_{01} - F_{21}$ (01) ambos dQ_1/dt são zero) e que o compartimento 2 (sangue) acha-se em estado não isotópico estável (i. e., dQ_2/dt é zero). Assim, as equações (01), (02), (05), (11) e (12), agora se transformam:

$dQ_2/dt = F_{21} + F_{23} + F_{24} - F_{02} - F_{12} - F_{32} - F_{42}$ (02) $F_{10} + F_{12} - F_{01} - F_{21} = 0$ (14)

$dQ_3/dt = F_{32} - F_{23}$ (03) $F_{21} + F_{23} + F_{24} - F_{02} - F_{12} - F_{32} - F_{42} = 0$ (15)

$dQ_4/dt = F_{42} - F_{24}$ (04) $S_2F_{12} - S_1(F_{01} + F_{02}) = 0$ (16)

$dq_1/dt = S_2F_{12} - S_1(F_{01} - F_{21})$ (05) $(S_2 - S_3)F_{32}/Q_3 = S_3/8$ (17)

$dq_2/dt = S_1F_{21} + S_3F_{23} + S_4F_{24} - S_2(F_{02} + F_{12} + F_{32} + F_{42})$ (06) $(S_2 - S_4)F_{42}/Q_4 = S_4/8$ (18)

$dq_3/dt = S_2F_{32} - S_3F_{23}$ (07) Por meio da manipulação algébrica das equações (13) e (17) tem-se o resultado:

$dq_4/dt = S_2F_{42} - S_4F_{24}$ (08). $F_{12} = S_1 F_{10}/(S_2 - S_1)$ (19)

Quando se considera o coeficiente diferencial de S_3 com respeito ao tempo, tem-se: $F_{21} = F_{10} + F_{12} - F_{01}$ (20)

$dS_3/dt = d(q_3/Q_3)/dt = [dq_3/dt - (q_3/Q_3)dQ_3/dt]/Q_3$. (09). $F_{32} = S_3Q_3/[8(S_2 - S_3)]$ (21)

Ao reorganizar o sistema de equações, obtém-se: $F_{42} = S_4Q_4/[8(S_2 - S_4)]$ (22)

$dq_3/dt = Q_3dS_3/dt + S_3dQ_3/dt$ (10). $|F_{23} + F_{24}| = F_{02} + F_{12} + F_{32} + F_{42} - F_{21}$ (23)

Quando se utilizam as equações (03) e (04) para substituir por dQ_3/dt e dq_3/dt , respectivamente, aproximando-se dS_3/dt por $[S_3(t) - S_3(t=0)] / [t - 0]$, a equação (11) torna-se:

$S_3/t = (S_2 - S_3)F_{32}/Q_3$ (12). Em que o $|F_{23} + F_{24}|$ indica o fluxo experimentalmente medido. O fluxo combinado $|F_{23} + F_{24}|$ denota a soma do fluxo de saída do *pool* 3 e do *pool* 4 (equação 23), podendo ser separado pela combinação desses dois *pools*. O S^* denota a atividade específica desse *pool* combinado, sendo calculado de acordo com a equação 24:

Como $S_3(t=0)$ é zero, e considerando-se similar, logo, ao aplicar para ds_4/dt , então tem-se: $|F_{23} + F_{24}| = F_{23} + F_{24}$ (24)

$S_4/t = (S_2 - S_4) F_{42}/Q_4$ (13) $S^* = (S_3Q_3 + S_4Q_4) / (Q_3 + Q_4)$ (25).

Oito dias depois da injeção do material radioativo, pressupõe-se que o *pool* 1 (lúmem do intestino) encontra-se em estado estável (i.e., Por meio de manipulação algébrica das equações (23) e (25), obtém-se:

$$F_{24} = (S^* - S_3) \times |F_{23} + F_{24}| / (S_4 - S^*) \quad (26)$$

$$F_{23} = |F_{23} + F_{24}| - F_{24} \quad (27).$$

O modelo é aplicado usando as equações (18) a (22), (24) e (26) a (27) para computar os fluxos desconhecidos.

Os dados do modelo (entradas, saídas e outras entradas) foram analisados como um delineamento inteiramente ao acaso, e os resultados submetidos à análise da variância e análise de regressão por polinômios ortogonais, de acordo com os procedimentos do SAS/2000.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os valores das variáveis estudadas em função dos níveis de enzima fitase são apresentados na Tab. 4 e o esquema da distribuição do fósforo no organismo animal, na Fig. 1. Os níveis crescentes de enzima não afetaram a ingestão de P (F_{10}) ($P > 0,05$), o que está de acordo com Figueirêdo et al. (2000) e Moreira et al. (2001, 2004), que também não observaram efeitos da enzima fitase sobre o consumo de P. O mesmo comportamento foi obtido por Matsui et al. (2000), que, analisando a eficácia da enzima fitase no melhoramento da biodisponibilidade do P no metabolismo de suínos, não observaram diferenças nesta variável.

Tabela 4. Valores das variáveis estudadas em função do nível da enzima fitase nos fluxos biológicos de P em suínos

Variável do modelo (g/dia)	Símbolo	Nível de fitase na dieta (UF/kg)			
		253	759	1265	1748
Ingestão de P	F_{10}	10,12±0,22	9,93±0,19	8,87±0,22	9,34±0,12
P excretado fezes	F_{01}	5,62±0,73	6,15±0,34	6,13±0,40	5,97±1,45
P excretado na urina	F_{02}	0,020±0,01	0,012±0,01	0,01±0,00	0,18±0,01
Ativ. específica (cpm/g)					
Fezes	S_1	14,25±4,44	8,88±1,16	11,01±5,02	15,83±5,10
Corrente sanguínea	S_2	24,19±2,17	23,91±2,60	26,65±1,96	27,62±0,89
Ossos	S_3	10,59±2,62	8,29±0,56	10,43±1,41	9,68±0,40
Tecidos moles	S_4	11,74±0,35	9,90±0,79	14,11±3,38	14,76±1,38
Ossos/Tecidos moles	S_{3+4}	10,79±2,20	8,42±0,54	10,81±0,82	10,64±0,15
Outras entradas (g/dia)					
P no sangue	Q_2	0,11±0,01	0,10±0,00	0,09±0,01	0,093±0,01
P nos ossos	Q_3	148,01±6,1	163,74±5,1	130,62±10,6	131,39±7,3
P nos tecidos moles (TM)	Q_4	23,03±3,68	16,75±2,85	19,78±10,14	31,26±5,58
Saídas do modelo (g/dia)					
P do sangue para o trato digestivo (TD)	F_{12}	18,31±8,94	6,04±1,34	7,31±4,92	24,28±22,85
P do TD para o sangue	F_{21}	22,81±9,38	9,82±1,65	10,05±4,69	27,64±24,19
P do sangue para ossos	F_{32}	17,11±9,22	10,14±1,88	10,94±2,95	8,90±0,68
P do sangue para os TM	F_{42}	2,88±0,73	1,41±0,15	2,94±1,43	4,45±0,77
Ossos/Tecidos moles	F_{2324}	15,51±9,79	7,79±1,87	11,15±3,12	10,01±0,88
P dos TM para o sangue	F_{24}	2,31±1,34	0,80±0,27	1,46±0,60	2,43±0,64
P dos ossos para o sangue	F_{23}	13,19±8,45	7,00±1,71	9,70±3,68	7,58±0,22
Balanço g/dia					
Absorção real ^a		4,47±0,93	3,77±0,31	2,73±0,56	3,35±1,33
P retido nos ossos ^a		3,91±1,17	3,15±0,16	1,25±0,99	1,33±0,85
P retido nos tecidos moles		0,56±1,26	0,62±0,17	1,49±1,22	2,02±0,84

^aEfeito linear ($P < 0,05$).

A excreção de fósforo fecal não sofreu interferência da fitase ($P > 0,05$), o que discorda dos resultados obtidos por Harper et al. (1997), que, trabalhando com dietas baseadas em milho e em farelo de soja, observaram que 500UF de fitase microbiana reduziam em aproximadamente 21,5% as excreções fecais de P. Figueirêdo et al.

(2000) estudaram a 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 em crescimento, e observaram redução do P nas fezes nos tratamentos em que continham fitase. Outros pesquisadores também observaram

redução das excreções de P nas fezes com o uso da fitase em rações balanceadas com milho e farelo de soja (Simons e Versteegh, 1990). A não observância de efeitos para esta variável ocorreu provavelmente pelo fato de o farelo de arroz desengordurado ser um subproduto rico em P total, o que elevou o teor de P total e o teor de P disponível das rações.

Os níveis crescentes de fitase não afetaram as excreções urinárias ($P>0,05$), o que indica que não houve absorção de excesso de fósforo. Nestas condições, as perdas são mínimas e iguais às perdas obrigatórias do metabolismo.

As atividades específicas nas fezes (S1), na corrente sanguínea (S2), nos ossos (S3) e nos tecidos moles (S4) e a concentração total de P no sangue (Q2), nos ossos (Q3) e nos tecidos moles (Q4) não sofreram interferência da enzima fitase ($P>0,05$).

O fluxo do P do trato digestivo para a corrente sanguínea (F_{21}) não foi influenciado pela fitase e pelo consumo de P (F_{10}) ($P>0,05$); o mesmo ocorreu com o fluxo de P excretado da corrente sanguínea para o trato digestivo (F_{12}). Observou-se uma relação linear positiva entre o fluxo de entrada do P no trato digestivo (F_{12}) e o fluxo de saída de P neste compartimento (F_{21}) de acordo com a equação: $F_{12} = - 6,667 + 0,915 * F_{21}$, $R^2 = 0,99$.

A mobilização do P da corrente sanguínea para os tecidos moles (F_{42}) e o P reciclado para o sangue (F_{24}) não foram afetados pela fitase ($P>0,05$), o que demonstra não haver efeito dessa enzima no metabolismo de P, após a sua absorção. O fluxo do P da corrente sanguínea para os tecidos moles (F_{42}) está linearmente relacionado com o P reciclado dos tecidos moles destinados ao sangue (F_{24}), como mostra a equação: $F_{24} = 0,329 + 0,283 * F_{42}$, $R^2 = 0,47$. Isso demonstra que parte do P que entra nos tecidos moles retorna à corrente sanguínea.

A fitase não interferiu no fluxo de P do sangue para o osso F_{32} e na reabsorção do P do osso F_{23} ($P>0,05$). Analisando a relação entre estas duas variáveis, observou-se um efeito linear positivo em que $F_{23} = 25,62 + 0,690 * F_{32}$, $R^2 = 0,78$, demonstrando que o fluxo de entrada e saída nos compartimentos é constante.

Observou-se que a fitase afetou linearmente ($P<0,05$) a absorção real conforme a equação ($Y = - 34,92X + 4,84$, $R^2 = 0,59$). Também, observou-se o efeito dessa enzima na retenção de fósforo nos ossos, de acordo com a equação ($Y = - 44,67X + 4,36$, $R^2 = 0,44$). A enzima fitase atua catabolizando as moléculas de fitato, disponibilizando o fósforo e outros minerais para o metabolismo, e este efeito sobre a absorção e sobre a retenção nos ossos demonstra que a fitase agiu mais eficientemente nos menores níveis de inclusão da enzima. A absorção em animais monogátricos ocorre de duas maneiras: por meio de um mecanismo ativo saturável e um passivo não saturável e, quanto maior a disponibilidade de P, maior é a absorção. Neste experimento, provavelmente ocorreu também a absorção passiva, provocada pela pressão do P nos sítios de absorção, nos tratamentos em que foi maior a disponibilidade desse mineral. O balanço positivo do P demonstra que todos os tratamentos supriram as exigências fisiológicas dos animais.

CONCLUSÕES

A fitase atua no trato digestivo dos animais, não havendo qualquer evidência de efeito no fluxo de P nos compartimentos, após a absorção deste mineral. O fluxo de entrada e o de saída do P nos compartimentos são linearmente correlacionados. O modelo proposto foi eficiente para a interpretação dos dados do presente estudo e ilustra os efeitos da fitase no metabolismo de P em suínos.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa (FAPESP-06/57574-5 e 04/14532-5) pelos subsídios oferecidos a este projeto e também à ALLTECH e à SUPREMAIS pelas doações de alguns ingredientes utilizados nas rações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, H.P.; MORES, 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. *Rev. Bras. Zootec.*, v.21, p.839-847, 1992.

- BRAVO, D.; SAUVANT, D.; BOGAERT, C. et al. III. Quantitative aspects of phosphorus excretion in ruminants. *Reprod. Nutr. Dev.*, Paris, v.43, p.285-300, 2003.
- 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. *J. Anim. Sci.*, 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. *J. Anim. Sci.*, 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. *J. Anim. Sci.*, v.73, p.2000-2008, 1995b.
- DIAS, R.S. *Estudo do metabolismo do fósforo utilizando modelos matemáticos*. 2006. 104f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, SP.
- FISKE, C.H.; SUBBARROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, v.66, p.375-400, 1925.
- 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. *Rev. Bras. Zootec.*, V. 29, p.177-182, 2000.
- GOMES, P.C.; LIMA, G.J.M.M.; GOMES, J.M.M. et al. Disponibilidade de fósforo nos fosfato de tapira, fosforindus e na farinha de ossos para suínos. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.21, p.83-89, 1992.
- GRACE, N.D. Phosphorus kinetics in the sheeps. *Brit. J. Nutr.*, 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. *J. Anim. Sci.*, v.75, p.3174-3186, 1997.
- KEBREAB, E.; FRANCE, J. *Biomathematical modelling guidelines for natural resources projects*. Reading: University of Reading, 1999. 9p.
- LABORATORY training manual on the use of nuclear techniques in animal research. Vienna: IAEA, 1979. 299p. (Technical Report Series, 193).
- LEI, X.G.; KU, P.K.; MILLER, E.R. et al. Supplementing corn-soybean meal diets with microbial phytase maximizes phytate phosphorus utilization weanling pigs. *J. Anim. Sci.*, v.71, p.3368-3375, 1993.
- 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. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 30, p.165-173, 2001.
- LOFGREEN, G.P. The availability of the phosphorus in dicalcium phosphate, bone meal, soft phosphate and calcium phytate for mature wether. *J. Nutr.*, 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. *J. Anim. Sci.*, 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: SBZ, 2001. p.703.
- MOREIRA, J.A.; VITTI, D.M.S.S.; LOPES, J.B. et al. Fluxo biológico do P no metabolismo de suínos alimentados com dietas contendo fitase. *Rev. Bras. Zootec.*, v.33, p.2066-2075, 2004.
- 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: CENA, 1977. 25p. (Boletim Científico, 48).
- OFFICIAL methods of analysis. 13.ed. Washington: AOAC, 1980. 1018p.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais*. 2.ed. Viçosa: UFV, 2005. 186p.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. *Análises químicas em plantas*. Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 56p.

SAUVANT, D.; BAUMONT, R.; FAVERDIN, P. Development of a mechanistic model of intake and chewing activities of sheep. *J. Anim. Sci.*, v.74, p.1785-2802, 1996.

SIMONS, P.C.M.; VERSTEEGH, H.A.J. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. *Br. J. Nutr.*, v.64, p.525-540, 1990.

TEIXEIRA, A.O.; LOPES, D.C.; LOPES, J.B. et al. Determinação da biodisponibilidade do fósforo de diferentes fontes pela técnica de diluição isotópica, em suínos em crescimento. *Rev. Bras. Zootec.*, v.33, p.1231-1237, 2004.

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. 1989. 87f. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

VITTI, D.M.S.S.; KEBREAB, E.; LOPES, J.B. et al. A kinetic model of phosphorus metabolism in growing goats. *J. Anim. Sci.*, v.78, p.2706-2712, 2000.

VITTI, D.M.S.S.; ROQUE, A.P ; DIAS, R.S. et al. Metabolismo de cálcio em ovinos em crescimento sob suplementação com diferentes fontes de cálcio: aplicação e comparação de dois modelos matemáticos. *Rev. Bras. Zootec.*, v.35, p.2487-2495, 2006.