

Biodisponibilidade do P e digestibilidade aparente do N em dietas de suínos suplementadas com níveis crescentes de fitase, balanceadas de acordo com o conceito de proteína ideal

[Phosphorus bioavailability and nitrogen apparent digestibility in diets supplemented with phytase increasing level, balanced according to the ideal protein concept]

J.A. Moreira¹, B. Berenchtein², D.M.S.S. Vitti², R. M. Patino³, T. S. Silva²,
T.T. Santos³, J.B. Lopes⁴

¹Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Caixa Postal 1524
59072-970 – Natal, RN

²Universidade de Sucre - Bogotá, Colômbia

³ABVista Feed Ingredients - Curitiba, PR

⁴Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, PI

RESUMO

Avaliaram-se o efeito de inclusão crescente de fitase (unidade de fitase – UF) em dietas para suínos na fase de crescimento pela técnica de diluição isotópica. Foram utilizados 20 suínos, machos castrados, em delineamento de blocos ao acaso, com cinco tratamentos – 0, 250, 500, 750 e 1000UF/kg da ração – e quatro repetições. Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas por 17 dias, sendo 10 dias para adaptação e sete dias para coleta de fezes e urina. Amostras de sangue foram coletadas por cinco dias. No primeiro dia da fase experimental, cada animal recebeu por via endovenosa em solução radioativa com 7,4MBq de ³²P. A Quantum Phytase foi eficiente em disponibilizar o P fítico para suínos em crescimento até 750UF/kg de dieta, sendo que 500UF/kg da ração foi o indicado para dietas à base de milho e farelo de soja, formuladas de acordo com o conceito de proteína ideal.

Palavras-chave: suínos, fitase, fósforo, diluição isotópica

ABSTRACT

The effects of increasing levels of phytase (phytase units – PU) for pigs, using the isotopic dilution technique, were evaluated on 20 crossbred barrows in a randomized block design experiment, with five treatments, 0, 250, 500, 750 and 1000PU/kg diet, and four replicates. The animals were kept in metabolic cages for a 10-day adaptation period and seven days for total collection of feces and urine. Blood samples were taken for five days. On the first day of the collection period each animal was injected intravenously with 7.4 MBq ³²P. Phytase was efficient to improve the availability of the P phytate for pigs until the level of 750 PU/kg diet. The level of 500 PU/kg diet is indicated for diets based on soybean meal and corn, formulated according to the concept of ideal protein.

Keywords: pig, phytase, phosphorus, isotopic dilution

INTRODUÇÃO

Existe hoje a consciência da necessidade de maximizar a produtividade de suínos, minimizar os custos, proteger o meio ambiente e garantir o bem-estar animal. Neste contexto, o fósforo e o

nitrogênio são vitais ao desenvolvimento dos animais, mas, quando presentes em excesso nas excreções, podem tornar-se poluentes, se os dejetos não forem manejados adequadamente.

O potencial de desenvolvimento dos animais associado ao baixo custo e à redução do impacto

Recebido em 17 de março de 2010

Aceito em 6 de abril de 2011

E-mail: japmoreira@bol.com.br

ambiental pode ser obtido com a formulação de dietas de acordo com o conceito de proteína ideal, que consiste no oferecimento de quantidades exatas em nutrientes para atender às necessidades fisiológicas do animal.

O uso da fitase, além de melhorar o valor nutricional do alimento para animais não ruminantes, também resulta em benefícios ao meio ambiente, por reduzir o teor de fósforo e nitrogênio nas excreções fecal e urinária. Melhoras na digestibilidade da molécula do fitato permitem redução na suplementação do P inorgânico, porém a retirada da suplementação pode acarretar prejuízos no desempenho dos animais (Santos *et al.*, 2008), mesmo sendo as dietas suplementadas com a fitase. Contudo, quando essas dietas são formuladas com farelo de arroz desengordurado, é possível retirar a suplementação de P inorgânico, adicionando-se 759 unidade de fitase (UF), sem afetar a performance e o metabolismo de suínos em crescimento (Moreira, 2002).

Os suínos não aproveitam eficientemente o fósforo dos vegetais por não sintetizarem a fitase, substância capaz de catabolizar o fitato disponibilizando fósforo, outros minerais e proteínas para o metabolismo dos animais (Ludke *et al.*, 2002; Moreira *et al.*, 2004).

De acordo com Perdomo e Lima (1998), a poluição por dejetos de suínos é cerca de três vezes maior que a dos seres humanos. Em termos comparativos, enquanto a DBO₅ *per capita* de um suíno com 85kg de peso vivo varia de 189 a 208g/animal/dia, a humana é de 45 a 75g/habitante/dia.

O fósforo é considerado um agente poluidor. No caso dos animais monogástricos, do total do fósforo consumido, cerca de 60 a 70% são excretados nas fezes e na urina. A fitase, quando adicionada às rações, atua nas ligações do grupo fosfato, liberando o fósforo e outros minerais que fazem parte dessa molécula. A contaminação dos mananciais de água com fósforo e nitrogênio ocorre em razão do processo de eutrofização desencadeado pelo crescimento de algas, aumentando a competição por oxigênio entre as algas e os animais aquáticos (Merten e Minella, 2002).

Este trabalho foi desenvolvido com a finalidade de avaliar a biodisponibilidade do P e a

digestibilidade aparente do nitrogênio em dietas balanceadas com fitase e proteína ideal para suínos em crescimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 20 leitões mestiços, machos castrados, com média de peso de 26,8kg, alojados em gaiolas de metabolismo. O experimento foi realizado no período de 17 dias, sendo 10 dias para adaptação e sete para coleta de sangue, fezes e urina. No primeiro dia da fase experimental, cada animal recebeu, por via endovenosa, 0,5mL de uma solução radioativa com 7,4MBq de ³²P.

A solução radioativa, preparada de acordo com Vitti *et al.* (2006), constitui-se de fosfato de sódio (Na₂H³²PO₄), livre de carregador, e foi adquirida no Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares (IPEN). Após a aplicação do material radioativo, foram coletados diariamente, durante sete dias, 10 mL de sangue, com o uso de tubos a vácuo, com heparina, em intervalos de 24 horas.

Os tratamentos consistiram dos seguintes níveis de inclusão de fitase (Quantum Phytase): 0, 250, 500, 750 e 1000UF/kg de ração, correspondendo a 0; 0,01; 0,02, 0,03 e 0,04%, respectivamente (Tab. 1).

As dietas experimentais, fornecidas de acordo com o consumo metabólico (W^{0,75}), foram formuladas à base de milho e farelo de soja, balanceadas de acordo com o conceito de proteína ideal, e suplementadas com aminoácidos – L-lisina, DL-metionina, L-treonina e L-triptofano (segundo o perfil de aminoácidos recomendados por Rostagno *et al.* (2005) –, minerais e vitaminas, para atender às necessidades nutricionais de suínos na fase de crescimento, exceto em fósforo disponível. As dietas foram umedecidas na proporção de 1:1 água/ração e fornecidas em duas refeições diárias, às 7h e 30min e às 15h e 30min.

As análises bromatológicas das dietas foram realizadas segundo 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).

Tabela 1. Composição das dietas experimentais para suínos segundo a inclusão de fitase na dieta

Ingrediente (%)	Inclusão de fitase (UF/kg de dieta)				
	0	250	500	750	1000
Milho	84,03	84,03	84,03	84,03	84,03
Farelo de soja	13,50	13,50	13,50	13,50	13,50
Fosfato bicálcico	0,372	0,372	0,372	0,372	0,372
Calcário	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64
Sal	0,365	0,365	0,365	0,365	0,365
² Premix vitamínico - 41	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
² Premix vitamínico - 25	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
¹ Premix mineral	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Enzima fitase	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04
Areia lavada	0,10	0,09	0,08	0,07	0,06
L-lisina (98,5%)	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51
DL-metionina (99%)	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
L-treonina (98,5%)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
L-triptofano (98,5%)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
³ Composição calculada	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Energia metabolizável (kcal/kg)	3250	3250	3250	3250	3250
Proteína bruta	14,07	14,07	14,07	14,07	14,07
Lisina digestível	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89
Metionina digestível	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32
Metionina + cistina digestível	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54
Triptofano digestível	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
Treonina digestível	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58
Cálcio	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Fósforo total	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Fósforo disponível	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
Relação Ca/P	1,14/1	1,14/1	1,14/1	1,14/1	1,14/1
Fibra	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44
Sódio	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18

¹Conteúdo/kg: 100g Fe; 10g Cu; 1g Co; 40g Mn; 100g Zn; 1,5g I; selênio: 0,3g; excipiente, selênio-0,3g q.s.p.

²Conteúdo/kg Vit.A: 6.000.000UI; D₃: 1.500.000UI; E: 15.000; B₁: 1,35g; B₂: 4,0g; B₆: 2g; ácido pantotênico: 9,35g; vit. K₃: 1,5g; ácido nicotínico: 20g; vit. B₁₂: 20,0g; ácido fólico: 0,6g; biotina: 0,08g; excipiente q.s.p – 1.000g.

³Calculado de acordo com Rostagno *et al.* (2005)

A porcentagem da atividade injetada e as atividades específicas encontradas no plasma e nas fezes foram calculadas conforme Lofgreen (1960), e o valor do P endógeno baseado em Vittì *et al.* (2006).

A meia-vida biológica do fósforo foi determinada utilizando-se um sistema cartesiano com atividade específica no plasma, e o tempo, de acordo com a lei de decaimento dos átomos radioativos (International..., 1979):

$$T1/2 = \frac{\ln 2}{K}, \text{ em que } K = \text{constante de decaimento}$$

biológico, calculado pela equação exponencial: $A = A_0 \cdot e^{-kt}$, em que: A = atividade específica no

instante t; A_0 = atividade específica inicial (t=0 e t = tempo).

Na fase de adaptação, os animais foram estimulados a consumirem o máximo de ração, porém, na fase de coleta, visando evitar sobras, a quantidade de ração em cada tratamento foi baseada no menor consumo dentre os animais do bloco, obtido no período pré-experimental. A água foi oferecida à vontade. As variáveis foram analisadas pelo PROC GLM do SAS (2000), para análise de regressão por polinômios ortogonais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados relativos ao metabolismo do fósforo em função dos níveis crescentes de fitase nas dietas experimentais estão apresentados na Tab. 2.

Tabela 2. Parâmetros relacionados ao metabolismo de fósforo em suínos na fase de crescimento, segundo a inclusão de fitase na dieta

Parâmetro	Inclusão de fitase (UF/kg dieta)					CV (%)**
	0 UF	250 UF	500 UF	750 UF	1000 UF	
Consumo da dieta (g/kgPV/d)	41,88	41,92	41,85	41,39	41,77	10,81
P consumido (mg/kgPV/d)	146,60	146,71	146,48	144,87	146,21	10,81
P fezes (mg/kgPV/d)*	80,69	68,05	59,34	61,74	59,25	17,77
P endógeno (mg/kgPV/d)	7,52	7,30	9,22	8,53	7,54	29,73
P urinário (%)**	0,17	0,22	1,55	5,63	5,78	58,07
Biodisponibilidade do P(%)*	49,62	57,91	65,93	63,53	65,20	12,17
P retido (mg/kgPV/d)	65,69	78,44	85,59	77,49	81,86	20,56
P plasma (mg/100ml)	8,31	8,10	8,66	8,54	8,83	5,58
Meia-vida biológica (horas)	96,00	93,50	101,00	105,75	92,00	21,13

*Efeito quadrático (P<0,05). **Efeito linear (P<0,05). UF: unidade de fitase.

Os níveis crescentes de fitase não influenciaram o consumo da dieta e o P consumido (P>0,05), semelhante às observações de Figueiredo *et al.* (2000), que estudaram a ação da fitase sobre a disponibilidade biológica do fósforo em suínos alimentados com dietas que continham farelo de arroz integral, utilizando a mesma técnica. O resultado obtido foi o esperado, pois, em experimento de metabolismo, o consumo é padronizado. Sendo assim, a variação foi pequena para o P consumido.

Ao se relacionarem os níveis crescentes de fitase (X) com o fósforo excretado nas fezes (Y), em que $\hat{Y} = 80,14 - 0,00555880X + 0,0000359X^2$; $R^2 = 0,95$, observou-se efeito quadrático (P<0,05) (Fig. 1), com forte tendência em reduzir a excreção de fósforo até a inclusão de 774UF (ponto de mínimo). Este resultado está em consonância com os obtidos por Figueiredo *et al.* (2000), que observaram redução da excreção de fósforo, com o uso de fitase.

No tratamento em que se utilizou o nível 0 de fitase, a excreção foi de 80,69mg/kgPV e no tratamento com 750UF, a excreção foi de 61,74mg/kgPV, apresentando uma diferença de 18,95mg/kgPV com o uso da fitase. Além disso, houve uma redução em 50% na adição de fosfato inorgânico neste tratamento. Isto indica que a fitase foi eficiente em catabolizar a molécula de fitato e disponibilizar o P.

A poluição por P e N, em razão do manejo inadequado dos dejetos, vem sendo discutida em diversas partes do mundo onde a criação de suínos é mais intensa (Palhares, 2009). As fezes dos animais, se não forem manejadas adequadamente,

podem atingir fontes de água e provocar a eutrofização. Porém, a preocupação maior não deve ser com o fósforo total das excretas, mas sim com o fósforo solúvel, pois este é o principal causador da eutrofização (Santos, 2009). A fitase reduz a excreção de fósforo total e solúvel nas excretas, mas o seu excesso pode ser prejudicial ao meio ambiente se ocorrer o aumento do P solúvel. No Brasil, o problema concentra-se entre os criadores mais tradicionais, que aos poucos estão se conscientizando da importância a ser dada aos nutrientes P e N nas dietas, e ao planejamento do descarte dos dejetos.

Os ajustes nas dietas, de acordo com o conceito de proteína ideal, permitem levar a criação de suínos a um nível de conscientização que associa o interesse na lucratividade ao bem-estar animal e à proteção do meio ambiente. Contudo, pesquisas devem ser desenvolvidas com o intuito de criar condições aos nutricionistas para que estes possam ajustar as dietas de forma a se atingir o alvo que é o uso da dieta ideal, ou seja, de modo que forneçam todos os ingredientes sem excessos e deficiências.

A suinocultura é uma atividade que ocupa pequena extensão territorial e de manejo relativamente fácil, mas os gastos com alimentação são elevados. Nesse contexto, cabe aos nutricionistas o papel de desenvolver mecanismos que permitam a maximização do atendimento das necessidades dos animais em aminoácidos, em vitaminas, em energia, em fibras e em minerais, evitando o desperdício de alimentos, reduzindo os transtornos metabólicos provocados aos animais e diminuindo os custos com alimentação.

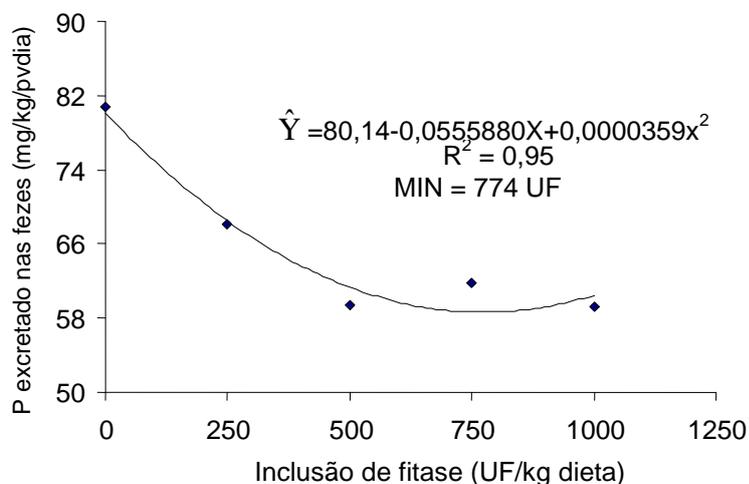


Figura 1. P excretado nas fezes de suínos segundo a inclusão de fitase na dieta.

A biodisponibilidade do P foi afetada de forma quadrática pela crescente adição de fitase, com ponto de máxima em 773UF/kg dieta (Fig. 2). Este resultado está em consonância com a literatura, em que diversos autores também constataram a eficiência da fitase em disponibilizar o P para o metabolismo dos animais.

Neste experimento, não se observaram diferenças no consumo, assim o efeito observado ocorreu pela maior disponibilidade de P originário da molécula de fitase. A absorção do P no intestino delgado pode ocorrer por meio do transporte passivo saturável e ativo não saturável (Breves e Schroder,

1991). Desse modo, em situações de intensa disponibilidade de P, pode ocorrer também a absorção passiva, provocada pela pressão do P exercida nos sítios de absorção (Lopes, 1998).

Para o P no plasma, não se observou efeito significativo da inclusão de fitase ($P > 0,05$). O teor deste mineral no sangue varia com a idade do animal, sendo mais elevado nos recém-nascidos. A concentração varia entre 8 e 10mg/dL (Gurtler *et al.*, 1984); desta forma, o valor médio de 8,63mg/dL encontrado neste experimento está dentro da normalidade.

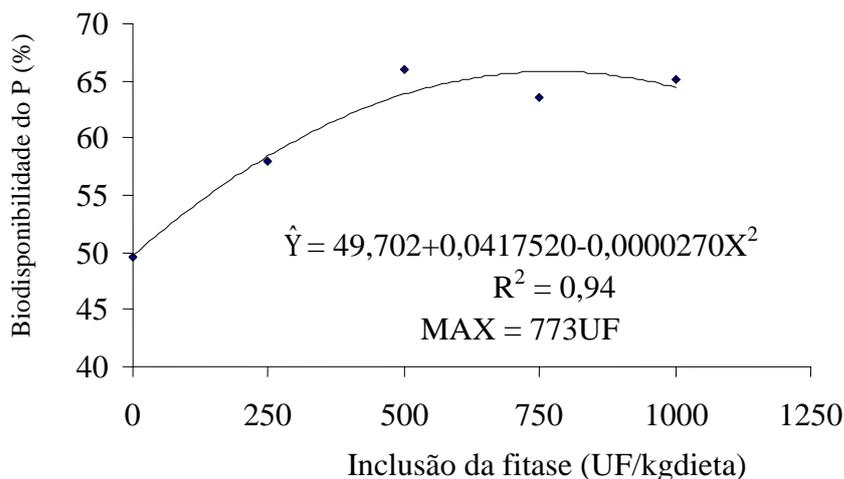


Figura 2. Biopossibilidade do P para suínos segundo a inclusão da fitase na dieta

O teor plasmático do cálcio e, conseqüentemente, o do fósforo é regulado pelo hormônio da paratireoide (PTH) e pela calcitonina. O PTH, além de aumentar o cálcio e reduzir o fósforo plasmático, aumenta a excreção do fosfato urinário, enquanto a calcitonina exerce efeito antagonico, inibindo a reabsorção óssea do cálcio e do fósforo. A vitamina D também tem participação importante no metabolismo do cálcio e do fósforo, aumentando a absorção intestinal. Sendo assim, em função desses mecanismos fisiológicos, esta variável torna-se um indicador pobre para se analisar o teor de fósforo das dietas, principalmente para ensaios de metabolismo, devido à sua curta duração.

Apesar de todos os tratamentos apresentarem valores mais altos para a retenção de fósforo, não se observou efeito deles na análise de regressão ($P > 0,05$). O mesmo fato foi observado ao se analisarem as excreções endógenas, em que a inclusão acima de 500UF/kg de dieta não resulta em valores mais altos que nos tratamentos com 0 e 250UF/kg de dieta. Esta observação, aliada ao efeito linear positivo para o P da urina, demonstra que os mecanismos fisiológicos dos animais eliminaram o excesso pelas vias endógenas e urinárias. Desse modo, observa-se que, embora a fitase tenha respondido eficientemente até a inclusão de 750UF/kg de dieta, o nível de 500UF é o mais indicado para utilização.

Os níveis de enzima não afetaram a variável meia-vida biológica do ^{32}P ($T_{1/2}$), confirmando os

resultados de Moreira et al. (2004) e Lopes (1998), que também não observaram efeito sobre esta variável. O ^{32}P tem meia-vida efetiva de 14,3 dias, ou seja, demora 14,3 dias para perder a metade da sua atividade. A meia-vida biológica representa o tempo necessário para o organismo dos animais eliminar 50% dos resíduos absorvidos. Conforme observado neste experimento, a eliminação ocorre entre 3,83 e 4,41 dias. Dessa forma, pode-se afirmar que, no final do experimento, obtém-se grande parte dos resíduos excretados. Tal fato, associado à pequena dose de ^{32}P utilizada nesses experimentos, demonstra a baixa periculosidade da carcaça dos animais.

O nitrogênio (N) consumido não foi afetado pela fitase porque o consumo foi padronizado (Tab. 3), entretanto também não se observaram efeitos para N nas fezes, para o coeficiente de absorção aparente e para a porcentagem de N retido em relação ao P absorvido. Na fração aparente das fezes, encontrou-se o N proveniente dos alimentos, dos endógenos e dos microrganismos. Assim, esta variável apresenta um indicador pobre e não representa a perda real, que pode ser obtida com ensaio em que se usam isótopos estáveis.

Na excreção urinária, observou-se tendência linear ($P < 0,08$) em aumentar a excreção conforme aumentaram os níveis de fitase. Esta observação está em consonância com os efeitos observados para o fósforo, comprovando a ação da enzima.

Tabela 3. Parâmetros relacionados à digestibilidade de nitrogênio em suínos segundo a inclusão de fitase na dieta

Parâmetros	Inclusão de fitase (UF/kg dieta)					CV (%)**
	0 UF	250 UF	500 UF	750 UF	1000 UF	
N consumido (mg/kgPV/d)	942,93	943,98	942,18	931,82	940,44	10,81
N fezes (%)	47,15	52,42	47,18	53,08	49,37	17,52
Coefficiente de absorção aparente (%)	52,85	47,58	52,82	46,92	50,63	17,41
N urinário (%)*	12,08	15,37	18,78	16,82	17,80	27,38
N retido (%)	75,70	65,95	63,13	62,93	64,45	10,31

*Efeito linear ($P < 0,08$).

A administração de dietas desequilibradas pode resultar em elevada perda de aminoácidos com aumento da concentração do nitrogênio no sangue. A elevação nos teores de N na urina em relação aos de fitase evidencia a disponibilidade de aminoácidos para o metabolismo, não detectado na

excreção fecal e no coeficiente de absorção aparente, mas que certamente afetou o metabolismo dos aminoácidos. Este fato torna-se um indicativo importante para o desenvolvimento de futuras pesquisas para estudar a digestibilidade real de aminoácidos em dietas

balanceadas de acordo com o conceito de proteína ideal suplementada com fitase.

CONCLUSÕES

A fitase foi eficiente em disponibilizar o P fítico para suínos em crescimento até a inclusão de 750UF/kg de dieta. A inclusão de 500UF/kg de dieta é indicada para dietas à base de milho e farelo de soja, formuladas de acordo com o conceito de proteína ideal.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento do projeto, e às empresas ABVista Feed Ingredients, Nutron e Ajinomoto, pela doação de ingredientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BREVES, G.; SCHRÖDER, B. Comparative aspects of gastrointestinal phosphorus metabolism. *Nutr. Res. Rev.*, v.105, p.125-140, 1991.
- 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.
- FISKE, C.H.; SUBBARROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, v.66, p.375-400, 1925.
- GURTLER, H.; KETZ, H.A.; KOLB, E. *et al.* *Fisiologia Veterinária*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. 612p.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Laboratory training manual on the use of nuclear techniques in animal research. Vienna: IAEA, 1979. 299p. (Technical Report Series, 193).
- 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.
- LOPES, J.B. *Avaliação da absorção real e das perdas endógenas de fósforo em suínos pela técnica de diluição isotópica*. 1998. 87f. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.
- LUDKE, M.C.M.M.; LOPEZ, J.; LUDKE, J.V. Fitase em dietas para suínos em crescimento: (i) impacto ambiental. *Ciênc. Rural*, v.32, p.97-102, 2002.
- MERTEN, G.H.; MINELLA, J.P. Qualidade da água em bacias hidrográficas rurais: um desafio atual para a sobrevivência futura. *Agroecol. Desenvol. Rural. Sustent.*, v.3, p.33-38, 2002.
- MOREIRA, J.A. *Radiofósforo nos estudos de biodisponibilidade e perdas endógenas, cinética nos tecidos e modelo biomatemático, associado ao desempenho de suínos alimentados com dietas contendo fitase*. 2002. 142f. Tese (Doutorado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.
- MOREIRA, J.A.; VITTI, D.M.S.S.; LOPES, J.B. *et al.* Fluxo biológico do fósforo 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. Official methods of analysis. 13.ed. Washington: AOAC, 1980. 1018p.
- PALHARES, J.C.P. Legislação ambiental e produção de suínos: As experiências internacionais. *Suinocult. Ind.*, ed. 220, 2009. p.12-19.
- PERDOMO, C.C.; LIMA, G.J.M.M. Considerações sobre a questão dos dejetos e o meio ambiente. In: SOBESTIANSKY, S.; WENTZ, I.; SILVEIRA, P.R.S. *et al.* *Suinocultura intensiva*. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 1998. cap. 11, p.221-235.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE *et al.* *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 2005. 2.ed. Viçosa: UFV, 2005. 186 p.

- SANTOS, S.P.; NUNES, R.C.; LOPES, E.L. *et al.* Retirada do suplemento micromineral-vitamínico, redução de fósforo inorgânico e adição de fitase em rações de suínos na fase de terminação. *Cienc. Anim. Bras.*, v.9, p.663-671, 2008.
- SANTOS, T.T. Utilização de fitases na suinocultura. *Suinocult. Ind.*, ed. 221, 2009. p.32-38.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. *Análises químicas em plantas*. Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 56p.
- STATISTICAL analysis system. The SAS system for windows. Release 8.01. Cary: SAS Institute, 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.