

## Ação da Fitase sobre a Disponibilidade Biológica do Fósforo, por Intermédio da Técnica de Diluição Isotópica, em Dietas com Farelo de Arroz Integral para Suínos

Agustinho Valente de Figueirêdo<sup>1</sup>, Elias Tadeu Fialho<sup>2</sup>, Dorinha Miriam S.S. Vitti<sup>3</sup>, João Batista Lopes<sup>1</sup>, José Cleto da Silva Filho<sup>2</sup>, Antonio Soares Teixeira<sup>2</sup>, José Augusto de Freitas Lima<sup>2</sup>

**RESUMO** - Esta pesquisa foi realizada para determinar as perdas endógenas fecais de fósforo e a ação da fitase sobre a disponibilidade biológica do P nas rações e no farelo integral de arroz (FAI), para suínos em crescimento, por meio da técnica de diluição isotópica. Os leitões foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e três repetições. Os tratamentos consistiram de duas dietas sem FAI (com ou sem 1250 FTU [Unidade de Atividade de Fitase]/kg ração), com 0,34% de P total, e outras duas com FAI (sem ou com 1250 FTU/kg ração), com 0,56% de P total. No 11<sup>o</sup> dia do experimento, foram aplicados em cada animal, por via endovenosa, 7,4 MBq de <sup>32</sup>P. As perdas endógenas fecais não foram influenciadas pela ação da fitase. A adição de fitase reduziu o P total excretado nas fezes e melhorou a absorção e a disponibilidade biológica do P das dietas com farelo de arroz integral.

Palavras-chave: biodisponibilidade, farelo de arroz integral, fitase, fósforo, radiofósforo, suíno

## Effect of Phytase on the Biological Availability of Phosphorus by Means of Isotopic Dilution Technique, in Whole Rice Meal Based Diets, for Swines

**ABSTRACT** - This experiment was carried out to determine the endogenous fecal losses of P and the effect of phytase on the biological availability of P in the diets and in the whole rice meal (WRM) for growing swines, by means of the isotopic dilution technique. The barrows were allotted to a complete randomized experimental design, with four treatments and three replicates. The treatments consisted on two diets without WRM (with or without 1250 FTU [Unit of Phytase Activity]/kg diet), with 0.34% total P, and other two diets with WRM (with or without 1250 FTU/kg of diet), with 0.56% total P. An the 11<sup>th</sup> day, each animal was intravenously injected with 7.4 MBq <sup>32</sup>P. The endogenous fecal losses of P were not affected by the action of phytase. The phytase addition reduced the total P excreted in the feces and improved the absorption and the biological availability of P of diets with whole rice meal.

Key Words: bioavailability, whole rice meal, phytase, phosphorus, radiophosphorus, swine

### Introdução

O fósforo é um nutriente básico das rações de aves e suínos que requer atenção especial por parte dos nutricionistas, pois participa de inúmeras funções metabólicas no organismo animal, além de constituir-se no mineral que mais onera os custos das rações.

Resultados contraditórios de disponibilidade biológica desse mineral em diversos alimentos, associados a custos elevados dos suplementos de fósforo nas dietas de monogástricos, têm induzido o meio técnico-científico a realizar diversas pesquisas em busca de fontes alternativas de fósforo, visando ao seu melhor aproveitamento.

Assim, o conhecimento da disponibilidade biológica dos minerais nos ingredientes das rações é de grande importância no processo de formulação de dietas de baixo custo, pois possibilita o fornecimento

de quantidades adequadas, para que o suíno consiga se desenvolver com maior eficiência, o criador obtenha maior lucratividade e o meio ambiente seja menos poluído, devido à incorporação de menores quantidades de fósforo provenientes dos dejetos.

As dietas de suínos e aves no Brasil são formuladas à base de ingredientes de origem vegetal, geralmente, grãos de cereais, que possuem mais da metade do fósforo sob a forma de fitato, com disponibilidade biológica variando entre 18 e 60% (CROMWELL, 1979; CORLEY et al., 1980). A maioria dos alimentos de origem vegetal apresenta baixo teor de fósforo. Já o farelo de arroz integral possui teores relativamente elevados em P total, porém apresenta-se em grande parte na forma de fitato, uma forma química de baixa disponibilidade para aves e suínos. Assim, aumentando a disponibilidade do fósforo fítico dos ingredientes das rações

<sup>1</sup> Professor do Departamento de Zootecnia CCA - UFPI. E.mail: jblopes@webone.com.br

<sup>2</sup> Professor do Departamento de Zootecnia - UFLA. E.mail: jallima@ufla.br

<sup>3</sup> Pesquisador do CENA-USP. E.mail: dovitti@cena.usp.br

destes animais, reduz-se a necessidade de suplementação de fósforo inorgânico nas dietas. Por outro lado, o fitato complexa cátions como o Ca, Zn, Fe, Mn e outros (NEWMANN, 1994) e, com a melhora na utilização do fósforo fítico, haverá, também, melhor utilização destes cátions.

O fósforo inorgânico das sementes de plantas, de modo geral, é bem digerido pelos suínos e aves, mas, segundo CROMWELL (1980), ainda não se sabe se sua disponibilidade é total para esses animais. É importante destacar que a habilidade dos suínos para utilizar o P fítico melhora com a idade, devido, possivelmente, à maior concentração da quantidade da enzima fitase presente no intestino dos animais mais velhos (McGILLIVRAY, 1978). As enzimas fitase e algumas fosfatases têm sido isoladas no trato gastrointestinal de suínos e aves, contudo, as quantidades são, aparentemente, insuficientes ou o meio intestinal não é apropriado para permitir uma hidrólise mais eficiente dos grupos ortofosfatos da molécula de fitato (CROMWELL, 1980). O uso destas enzimas tem demonstrado sua importância em melhorar a eficiência de utilização do fósforo fítico por animais não-ruminantes e, assim, reduzir a suplementação de fósforo mineral, o que proporcionará redução de 20 a 30% do P excretado nas fezes (SIMONS et al. 1990).

YI et al. (1996), ao adicionarem níveis crescentes de fitase microbiana, 0; 350; 700; 1050; ou 1400 unidades/kg de dieta, para leitões jovens, sem P inorgânico suplementar, observaram que a adição desta enzima resultou em acréscimo linear no ganho de peso e na conversão alimentar. Quando a ração continha P suplementar (0,32%), a excreção fecal de P reduziu com o uso da fitase. Esses autores concluíram que a liberação de 1 g de P inorgânico exigiu, aproximadamente, 676 unidades de fitase, o que correspondeu a 77% do P liberado do fitato.

O presente trabalho teve o objetivo de determinar as perdas endógenas fecais de P e a ação da fitase sobre a disponibilidade biológica do P nas rações e no farelo de arroz integral, para suínos em crescimento, por meio da técnica de diluição isotópica.

### Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras e no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, no período de junho a novembro de 1998, utilizando-se 12 leitões, machos, castrados,

com peso vivo médio inicial de 25,80 kg.

Os tratamentos (Tabela 1) consistiram de: A - dieta à base de milho, farelo de soja, óleo de soja e premix mineral e vitamínica, sem P suplementar, com 0,34% P total; B - dieta A, com a adição de 1250 FTU de fitase/kg de ração; C - dieta formulada com milho, farelo de soja, óleo de soja e farelo de arroz integral, com premix mineral e vitamínico, sem P suplementar, com 0,56% de P total; e D - semelhante ao C, porém, com a adição de 1250 FTU de fitase/kg de ração.

A enzima utilizada no experimento foi a NATUPHOS 5000, fornecida pela BASF, que é uma marca registrada da fitase obtida por intermédio de fermentação por meio de fungos do grupo *Aspergillus niger*. É um pó de cor amarelo-pardo, que contém atividade inicial mínima de 5000 FTU/g. Uma unidade de atividade de fitase (FTU) é definida pela quantidade de enzima que libera 1 micromol de fósforo inorgânico em 1 minuto num substrato de sódio-fitato a 37°C em pH 5,5.

As dietas foram formuladas de modo a atender às exigências dos leitões em crescimento (ROSTAGNO et al. 1987). Entretanto, os tratamentos A e B apresentaram níveis de fósforo total abaixo das recomendações (0,34% Pt), uma vez que não foi adicionado fósforo inorgânico às dietas experimentais. Já nas dietas contendo FAI, o nível de Pt atendia às exigências dos animais (0,56% Pt). A distribuição das rações foi realizada em duas refeições diárias, sendo umedecidas com água, na proporção 1:1 (água/ração), com as quantidades fornecidas, levando-se em consideração o consumo registrado na fase pré-experimental, tendo-se o cuidado para não ocorrer sobras.

Os leitões foram alojados, durante todo o experimento, em gaiolas individuais de metabolismo, onde permaneceram por um período de 18 dias, sendo seis de adaptação às gaiolas e às dietas experimentais e cinco de coletas de fezes e urina, para determinação do fósforo inorgânico. No 11º dia do experimento, 7,4 MBq de  $^{32}\text{P}$ , como fosfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), livre de carregador, foram injetados, por via endovenosa, em cada animal. Após a injeção do radiotraçador, procedeu-se, durante sete dias, à coleta de fezes, urina e amostras de sangue, para leitura da radioatividade.

As análises químicas dos ingredientes e das dietas seguiram as recomendações da ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC (1980). O conteúdo de P inorgânico no plasma e na urina foi determinado por colorimetria, segundo FISKE e SUBBAROW (1925), e nas dietas e nas fezes, pelo método vanadato-molibdato (SARRUGE e HAAG, 1974). A contagem da radioatividade do  $^{32}\text{P}$

nas amostras de fezes e plasma foi realizada em espectrômetro de cintilação líquida por efeito Cerenkov (IAEA, 1979; NASCIMENTO FILHO e LOBÃO, 1977).

Os cálculos do percentual da atividade do  $^{32}\text{P}$  injetada no plasma e nas fezes e as atividades específicas determinadas no plasma e nas fezes foram feitos de acordo com LOFGREN (1960) e o valor do fósforo endógeno, conforme COMAR et al. (1953) e VITTI (1989). Devido à impossibilidade de se fazer a determinação do fitato das rações e, posteriormente, das excreções fecais, o que permitiria quantificar o total de fósforo fítico hidrolisado pela fitase, determinou-se apenas o teor de fósforo total nas fezes (Tabela 2).

Com os valores da disponibilidade biológica do P das dietas à base de milho e farelo de soja, sem o farelo de arroz integral (A e B), calculou-se, por fracionamento, a disponibilidade biológica do P do

farelo de arroz integral nas dietas contendo FAI, com e sem fitase microbial, seguindo-se os procedimentos adotados por FIGUEIRÊDO (1998).

Os resultados foram submetidos à análise de variância e à comparação das médias por contrastes ortogonais (SAS, 1986), considerando-se um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e três repetições, sendo a unidade experimental representada por um animal/gaiola. Contrastes ortogonais foram formados para o experimento entre níveis de tratamentos:

Contraste  $C_1$  = comparação entre dietas sem e com FAI (A,B vs C,D);

Contraste  $C_2$  = comparação entre as dietas sem FAI, observando o efeito da fitase (A vs B); e

Contraste  $C_3$  = comparação entre as dietas com FAI (14,30%), observando-se o efeito da fitase (C vs D).

Tabela 1 - Composição percentual das rações experimentais

Table 1 - Percentage composition of the experimental diets

Ingrediente <i>Ingredient</i>	Unidade <i>Unit</i>	A	B	C	D
Milho <i>Corn</i>	kg	67,56	67,56	54,56	54,56
Farelo soja <i>Soybean meal</i>	kg	28,90	28,90	26,50	26,50
Farelo de arroz integral <i>Whole rice meal</i>	kg	-	-	14,30	14,30
Óleo soja <i>Soybean oil</i>	kg	0,80	0,80	1,90	1,90
Calcário <i>Limestone</i>	kg	1,80	1,80	1,80	1,80
Fitase <i>Phytase</i>	kg	-	0,025	-	0,025
Caulim <i>Clay</i>	kg	0,025	0,00	0,025	0,00
Premix mineral <sup>1</sup> <i>Mineral premix</i>	kg	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix vitamin <sup>2</sup> <i>Vitamin premix</i>	kg	0,40	0,40	0,40	0,40
BHT <sup>3</sup>		0,015	0,015	0,015	0,015
Sal <i>Salt</i>	%	0,40	0,40	0,40	0,40
Proteína bruta <i>Crude protein</i>	%	18,00	18,00	18,00	18,00
Energia digestível <i>Digestible energy</i>	kcal/kg	3400	3400	3400	3400
Ca	%	0,75	0,75	0,75	0,75
P total	%	0,34	0,34	0,56	0,56

<sup>1</sup> Premix mineral forneceu por kg de dieta (*Mineral premix provided per kilogram of diet*): Se, 0,5 mg; I, 0,8 mg; Co, 0,5 mg; Fe, 70 mg; Cu, 20 mg; Mn, 40 mg; e Zn, 80 mg.

<sup>2</sup> Premix vitamínico forneceu por kg de dieta (*Vitamin premix provided per kilogram of diet*): Vit. A, 8.000 UI; Vit. D<sub>3</sub>, 1200 UI; Vit. E, 20 mg; Vit. K<sub>3</sub>, 2,5 mg; Tiamina (*Thiamin*), 1,0 mg; Riboflavina (*Riboflavin*), 4,0 mg; Piridoxina (*Pyridoxine*), 2,0 mg; Vit. B<sub>12</sub>, 2,0 mcg; Niacina (*Niacin*), 26,00 mg; Ác. pantotênico (*Pantothenic acid*), 10,0 mg; Biotina (*Biotin*), 0,05 mg; Ác. fólico (*Folic acid*), 0,6 mg; Vit. C, 50,0 mg; Colina (*Choline*), 1200 mg; Metionina (*Methionine*), 40 mg; Lisina (*Lysine*), 200 mg; Triptofano (*Tryptophan*), 10,0 mg; Treonina (*Threonine*), 20,0 mg; Promotor de crescimento (*Growth promoter*), 20,0 mg.

<sup>3</sup> Butil-hidroxi-tolueno (antioxidante) *Butil-hidroxi-toluen* (*antioxidant*).

### Resultados e Discussão

Os dados do estudo de metabolismo de fósforo, em função dos tratamentos experimentais para suínos em crescimento, encontram-se na Tabela 2.

A fitase não influenciou o consumo de ração e de fósforo total. Com relação ao consumo de ração, o resultado é semelhante ao obtido por BELLAVER et al. (1983), que não observaram diferenças no consumo entre as dietas com e sem P suplementar. Da mesma forma, YOUNG et al. (1993) não constataram efeito da inclusão da enzima fitase, em até 1000 FTU/kg da dieta, sobre o consumo de ração por leitões. Os animais dos tratamentos sem FAI (A e B) consumiram menores ( $P < 0,01$ ) quantidades de fósforo em relação àqueles dos tratamentos contendo FAI (C e D). Isso ocorreu em razão do maior percentual de fósforo total presente nas rações que continham farelo de arroz integral (0,56% Pt) em relação às dietas sem FAI (0,34% Pt), não tendo sido observado efeito da

fitase sobre a ingestão deste mineral entre as dietas com o mesmo nível de fósforo total.

O contraste  $C_1$  demonstrou que a utilização de FAI aumentou ( $P < 0,01$ ) proporcionalmente a excreção fecal de fósforo, confirmando as altas concentrações de fitato presente no farelo de arroz integral (NELSON et al. 1968). Por outro lado, observou-se que a adição de 1250 FTU de fitase/kg de dieta promoveu redução ( $P < 0,01$ ) nos teores de P total excretados nas fezes dos suínos.

Os resultados deste experimento estão em consonância com os de SIMONOS e VERSTEEGH (1990), YOUNG et al. (1993), CROMWEL et al. (1995) e YI et al. (1996), ao observarem redução no conteúdo de P total excretado nas fezes de suínos alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, com o uso de fitase microbiana.

O contraste  $C_2$  revelou que a fitase em 1250 FTU/kg de dieta foi eficiente em reduzir os teores de P fecal de 44,99 para 31,83% em relação ao fósforo total

Tabela 2 - Resultados do metabolismo do fósforo obtidos para as variáveis estudadas

Table 2 - Results of metabolism phosphorus obtained for the variables studied

Parâmetro <i>Parameter</i>	Unidade <i>Unit</i>	Tratamento <i>Treatment</i>				Contraste <i>Contrast</i>		
		A	B	C	D	$C_1$	$C_2$	$C_3$
						P > F	P > F	P > F
Peso inicial <i>Start weight</i>	kg	27,50	26,33	25,03	24,43	-	-	-
Consumo ração <i>Feed intake</i>	g/dia	1133	966	1067	1133	0,05	NS	NS
P consumido <i>P intake</i>	g/dia	3,89	3,32	6,05	6,42	0,01	NS	NS
P excretado fezes <i>Fecal excreted P</i>	g/dia	1,75	1,06	3,34	1,96	0,01	0,03	0,01
P absorvido aparente <i>Apparent P absorption</i>	g/dia	2,14	2,26	2,70	4,46	0,01	NS	0,01
P endógeno fecal <i>Endogenous fecal P</i>	g/dia	0,194	0,319	0,405	0,217	NS	NS	NS
P absorvido verdadeiro <i>True P absorption</i>	g/dia	2,33	2,58	3,11	4,68	0,01	NS	0,01
Purinário <i>Urinary P</i>	mg/dia	3,4	6,7	9,0	15,3	NS	NS	NS
P retido aparente <sup>1</sup> <i>Apparent P retention</i>	g/dia	2,137	2,253	2,691	4,445	0,01	NS	0,01
P retido aparente <sup>2</sup> <i>Apparent P retention</i>	g/dia	2,327	2,573	3,101	4,665	0,01	NS	0,01
Taxa abs. verdadeira <i>True absorption rate</i>	%	59,88	77,78	51,40	72,81	0,01	0,05	0,05
Disp. biol. FAI <sup>3</sup> <i>Biol. avail. whole rice meal<sup>2</sup></i>	%	-	-	40,19	67,99	-	-	0,01
P plasma <i>Plasm P</i>	mg/dL	7,6	8,4	8,7	8,3	NS	NS	NS

<sup>1</sup> Considerando o P absorvido aparente (*Considering P apparent absorption*).

<sup>2</sup> Considerando o P absorvido verdadeiro (*Considering P true absorption*).

<sup>3</sup> Disponibilidade biológica do fósforo do farelo de arroz integral (*Biological availability of phosphorus in whole rice meal*).

Contrastes ortogonais (*Orthogonal contrast*):  $C_1 = (A, B \text{ vs } C, D)$ ;  $C_2 = A \text{ vs } B$ ;  $C_3 = C \text{ vs } D$

consumido, promovendo, assim, redução de 29,25% entre as dietas sem FAI. Do mesmo modo, o contraste C<sub>3</sub> mostrou que a adição de fitase reduziu a excreção de fósforo nas fezes de 55,21 para 30,53% em relação ao P consumido, levando à redução de 44,70% entre as dietas com FAI. Portanto, na ração com FAI, a redução foi 54% maior que a ocorrida na ração sem o farelo de arroz integral. De maneira semelhante, TEICHMANN et al. (1998) observaram efeito linear positivo dos níveis de fitase sobre o conteúdo do fósforo total nas excretas de frango de corte.

Por outro lado, o P endógeno fecal e urinário não sofreu influência da ação da enzima fitase microbiana e da quantidade de fósforo consumido. A similaridade observada nos valores do fósforo metabólico fecal e urinário pode ser explicada pelo consumo insuficiente de fósforo disponível para atender às exigências de suínos em crescimento (National Research Council - NRC, 1998). Nessas condições, as excreções de fósforo por essas vias são mínimas e iguais às perdas obrigatórias do metabolismo (PARTRIDGE et al., 1980). Assim, GEORGIEVSKII (1982) e BREVES e SCHRÖDER (1991) relataram que a excreção de fósforo endógeno pelas fezes e pela urina representa importante mecanismo de controle homeostático do fósforo, em não-ruminantes. A tendência observada para o P endógeno está de acordo com FIGUEIRÊDO et al. (1997) e LOPES et al. (1998), os quais constataram que, em situação de restrição de P, as perdas endógenas fecais são mínimas e iguais à parte obrigatória do metabolismo.

O P absorvido verdadeiro e o P retido aparente foram influenciados ( $P < 0,01$ ) pela adição da fitase somente nas dietas com farelo de arroz integral, em que se constatou maior absorção e retenção desse elemento na dieta com a adição da enzima, o que está de acordo com SIMONS e VERSTEEGH (1990) e CROMWELL et al. (1995), em trabalho com níveis crescentes de fitase, em dietas de suínos em crescimento à base de grão de cereais.

A fitase influenciou ( $P < 0,01$ ) positivamente na taxa de absorção verdadeira ou disponibilidade biológica do fósforo, nas dietas com e sem FAI. Nas dietas sem FAI, a adição de fitase (1250 FTU/kg dieta) melhorou a eficiência de utilização do P fítico pelos leitões em 29,89%. Já nas dietas com FAI, a ação desta enzima aumentou a utilização do P fítico em 40,78%. Este resultado está de acordo com os de KETAREN et al. (1993), em pesquisa com suínos em crescimento, em que a suplementação de fitase (1000 FTU/kg dieta) aumentou em 53% a digestibilidade aparente do fósforo do farelo de soja. De maneira semelhante,

SIMONS e VERSTEEGH (1990), em pesquisa com frangos de corte, constaram que a adição de fitase em 1000 FTU/kg da dieta aumentou a disponibilidade do fósforo em aproximadamente 60%.

A disponibilidade biológica do fósforo do farelo de arroz integral, quando se excluiu a interferência do fósforo do milho e do farelo de soja, teve incremento de 69,17% na dieta suplementada com 1250 FTU/kg de ração, passando de 40,19, na dieta sem fitase, para 67,99%, com a presença desta enzima. A disponibilidade biológica do P da dieta contendo FAI, sem fitase, foi superior à encontrada por PEO JR. (1991), em que os valores da disponibilidade biológica do P no milho, no farelo de soja e no farelo de arroz variaram entre 9 e 29; 36 e 39%; e 25%, respectivamente. Todavia, esses valores foram inferiores aos 48,22 e 66,3% obtidos, respectivamente, por BELLAVER et al. (1983) e BELLAVER et al. (1984), em dieta de leitões em crescimento, constituída de farelo de soja e milho, sem P suplementar.

A ação da enzima fitase e o conteúdo de P das dietas não influenciaram no P inorgânico no plasma, o que difere de YOUNG et al. (1993), que constataram aumento na concentração de P inorgânico no plasma com o aumento dos níveis de fitase nas dietas.

Os níveis de P no sangue encontram-se na faixa normal relatada na literatura, com variação entre 4,0 e 9,0 mg/dL (UNDERWOOD et al., 1981; GÜRTLER et al., 1984; e McDOWELL, 1992). Essa constatação pode estar relacionada com o curto período experimental, pois, segundo ENGSTRON et al. (1985), a hipofosfatemia, em dietas para suínos deficientes em P, instala-se progressivamente, atingindo a média mínima de P inorgânico no plasma, em torno de 34 a 41 dias de restrição do mineral na dieta. Conforme DeLUCA (1979) e GEORGIEVSKII (1982), o metabolismo de cálcio e de fósforo é, altamente, regulado por um sistema hormonal constituído pelo paratormônio, calcitonina e metabólitos de vitamina D, que agem no sentido de manter a concentração desses minerais no sangue em níveis suficientes para a adequada mineralização.

## Conclusões

As perdas endógenas fecais não foram influenciadas pela adição de fitase.

A fitase reduziu o P total excretado nas fezes e melhorou a absorção e a disponibilidade biológica do fósforo das dietas com farelo de arroz integral.

## Referências Bibliográficas

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. 1980. *Official methods of analysis*. 13 ed. Washington D.C. 1018p.
- BALLAVER, C., GOMES, P.C., SANTOS, D.L. 1983. Absorção e disponibilidade de fósforo para suínos baseado na diluição de radiofósforo ( $^{32}\text{P}$ ). *Pesq. Agropec. Bras.*, 18(9):1053-1057.
- BELLAVER, C., GOMES, P.C., FIALHO, E.T. et al. 1984. Absorção e disponibilidade de fósforo de fosfatos naturais em rações para suínos. *Pesq. Agropec. Bras.*, 19(12):1513-1515.
- BREVES, G., SCHRÖDER, B. 1991. Comparative aspects of gastrointestinal phosphorus metabolism. *Nutr. Res. Rev.*, 4:125-140.
- COMAR, C.L., MONROE, R.A., VISEK, W.J. et al. 1953. Comparison of two isotope methods for determination of endogenous fecal calcium. *J. Nutr.*, 50:459-67.
- CORLEY, J.R., BAKER, D.H., EASTER, R.A. 1980. Biological availability of phosphorus in rice bran and wheat bran as affected by pelleting. *J. Anim. Sci.*, 50(2):286-292.
- CROMWELL, G.L. 1979. Availability of phosphorus in feedstuffs for swine. *Proc. Distiller Feed. Res. Conf.*, 34(40):40-50.
- CROMWELL, G.L. 1980. Biological availability of phosphorus for pigs. *Feedstuffs*, 52(9):38-42.
- CROMWELL, G.L., COFFEY, R.D., MONEGUS, H.J. et al. 1995. Efficacy of low-activity, microbial phytase in improving the bioavailability of phosphorus in corn-soybean meal diets for pigs. *J. Anim. Sci.*, 73(2):449-456.
- DeLUCA, H.F. 1979. The vitamin D system in the regulation of calcium and phosphorus metabolism. *Nutr. Rev.*, 37:161-193.
- ENGSTRON, G.W., HORST, R.L., REINHART, T.A. et al. 1985. Effect of dietary phosphorus levels on porcine renal 25-hydroxyvitamin D-1 $\alpha$  and 24R-hidroxilase activities and plasma 1,25-dihydroxyvitamin D $_3$  concentration. *J. Anim. Sci.*, 60(4):1005-1011.
- FIGUEIRÊDO, A.V., VITTI, D.M.S.S., LOPES, J.B. Disponibilidade biológica do fósforo de diferentes fontes para suínos em crescimento através da técnica de diluição isotópica. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, 1997, Juiz de Fora. *Anais...* Viçosa: SBZ, 1997, p.164-166.
- FIGUEIRÊDO, A.V. Disponibilidade biológica do fósforo de cinco fosfatos, determinada com suínos em crescimento, através da técnica de diluição isotópica. Piracicaba, SP: CENA/USP, 1998, 103p. Tese (Doutorado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura/Universidade de São Paulo, 1998.
- FISKE, C.H., SUBBAROW, Y. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66(2):375-400.
- GEORGIEVSKII, V.I. 1982. The physiological role of macroelements. In: GEORGIVIESKII, V.I., ANNENKOV, B.N., SAMOKHIN V.T. (Eds.) *Mineral nutrition of animals*. 1. ed. London: Butterworths. p.91-170.
- GÜRTLER, L., KETZ, H.A., KOLB, E. et al. 1984. *Fisiologia veterinária*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 612p.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. 1979. *Laboratory training manual on the use of nuclear techniques in animal research*. Vienna: IAEA. 299p (Technical Report Series, 193).
- KETAREN, P.P., BATTERHAM, E.S., DETTMANN, E.B. et al. 1993. Phosphorus studies in pig. 3. Effect of phytase supplementation on the digestibility and availability of phosphorus in soybean meal for grower pigs. *Brit. J. Nutr.*, 70:289-311.
- LOFGREEN, G. P. 1960. The availability of the phosphorus in dicalcium phosphate, bone, meal, soft phosphate and calcium phytates for mature wethers. *J. Nutr.*, 70(1):58-62.
- LOPES, J.B., VITTI, D.M.S.S., FIGUEIRÊDO, A.V. et al. Avaliação da disponibilidade biológica e perdas endógenas de fósforo em suínos pela técnica de diluição isotópica. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu. *Anais...* Botucatu, 1998, p.434-436.
- McDOWELL, L.R. 1992. *Mineral in animal and human nutrition*. San Diego: Academic Press. 524p.
- McGILLVRAY, J.J. Biological availability of phosphorus sources. In: ANUAL INTERNATIONAL MINERALS CONFERENCE, 1, St. Petersburg Beach, Florida, 1978. *Proceedings...* St. Petersburg Beach. International Minerals & Chemical Corporation, 1980. p.73-86.
- NASCIMENTO FILHO, V.F., LOBÃO, A.O. 1977. Detecção de P-32 em amostras de origem animal e vegetal por efeito Cerenkov, cintilação líquida e detector GM. Piracicaba: CENA/USP. 25p (Boletim Científico, 48).
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 1998. *Nutrient requirements of swine*. 10.ed. Washington: National Academy of Sciences. 190p.
- NELSON, T.S., FERRARA, L.W., STORE, N.L. 1968. Phytate phosphorus content of feed ingredients derived from plants. *Poult. Sci.*, 47(4):1372-1374.
- NEWMANN, C.W. The U.S. marker for feed enzymes: what opportunities exist? In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 1994, 10, Nicholasville. *Proceedings...* Nicholasville, Alltech Technical Publications, 1994. p.99-116.
- PARTRIDGE, I.G. 1980. Mineral nutrition of the pig. *Proc. Nutr. Soc.*, 39(2):185-192.
- PEO JR., E.R. 1991. Calcium, phosphorus, and vitamin D in swine nutrition. In: MILLER, E.R., ULTREY, D.E., LEWIS, A.J. (Eds.) *Swine nutrition*. Livestock: Butterworth-Heinemann. Chapter 10, p.165-182.
- ROSTAGNO, H.S., SILVA, D.J., COSTA, P.M.A. et al. 1987. *Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos: tabelas brasileiras*. Viçosa, MG: UFV. 59p.
- SIMONS, P.C.M., VERSTEEGH, H.A.J. 1990. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. *Br. J. Nut.*, 64(2):525-40.
- SARRUGE, J.R., HAAG, H.P. 1974. *Análises químicas em plantas*. Piracicaba: ESALQ/USP. 56p.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. 1986. *System for linear models*. Cary: SAS Institute. 211p.
- TEICHMANN, H.F., LÓPEZ, J., LÓPEZ, S.E. 1998. Efeito da fitase na biodisponibilidade do fósforo em dietas com farelo de arroz integral para frangos de corte. *R. Soc. Bras. Zootec.*, 27(2):338-344.
- UNDERWOOD, E.J. 1981. *The mineral nutrition of livestock*. 2.ed. London: Commonwealth Agricultural Bureaux. 179p.
- VITTI, D.M.S.S. Avaliação da disponibilidade biológica do fósforo dos fosfatos bicálcico, Patos de Minas, Tapira e finos de Tapira para ovinos pela técnica de diluição isotópica. São Paulo, SP: IPEN/USP, 1989. 87p. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares/USP, 1989.
- YI, Z., KORNEGAY, E.T., RAVINDRAN, V. et al. 1996. Effectiveness of natuphos phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in soybean meal-based semipurified diets for young pigs. *J. Anim. Sci.*, 74(7):1601-1611.
- YOUNG, G.L., LEUNISEN, M., ATKINSON, J.L. 1993. Addition of microbial phytase to diets of young pigs. *J. Anim. Sci.*, 71(8):2147-2150.

Recebido em: 06/01/99

Aceito em: 26/05/99