

BR9024292  
INIS-BR--2251

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES  
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

AVALIAÇÃO DA DISPONIBILIDADE BIOLÓGICA DO FÓSFORO DOS FOSFATOS  
BICÁLCICO, PATOS DE MINAS, TAPIRA E FINOS DE TAPIRA PARA OVINOS,  
PELA TÉCNICA DE DILUIÇÃO ISOTÓPICA

DORINHA MIRIAM SILBER SCHMIDT VITTI



Tese apresentada como parte  
dos requisitos para obten-  
ção do Grau de Doutor em  
Tecnologia Nuclear.

Orientador: Dr. Frederico Maximiliano Wiendl

## AGRADECIMENTOS

O trabalho de tese não é uma pesquisa individual, mas representa o esforço conjunto de pessoas que auxiliam no seu desenvolvimento prático e de entidades financiadoras, sem as quais seria impossível a sua concretização.

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos a todos individualmente, mas, poderia incorrer no erro da omissão, o que seria imperdoável.

Assim sendo, quero deixar registrado os meus mais nobres sentimentos a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

As entidades que financiaram essa pesquisa foram:

- PETROBRÁS S.A. - Fertilizantes.
- Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP).
- Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN).
- Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA).

**OBRIGADA**

Aos meus filhos, *Gabriel e Felipe*,  
que foram sempre um incentivo para  
que nunca houvesse desânimo no ca-  
minho para a vitória,

**DEDICO**

Aos amigos, que compartilharam  
comigo as alegrias da descoberta  
e as lutas perante os obstáculos  
durante a realização desse  
trabalho,

**OFEREÇO**

## Í N D I C E

	<u>Página</u>
RESUMO. . . . .	x
ABSTRACT. . . . .	xi
1. INTRODUÇÃO. . . . .	1
2. REVISÃO DE LITERATURA . . . . .	3
2.1. Importância, Distribuição e Metabolismo do Fósforo. . . . .	3
2.2. Disponibilidade Biológica do Fósforo . . . . .	7
2.2.1. Conceitos . . . . .	7
2.2.2. Fatores que Afetam a Perda Endógena Fecal de Fósforo e a Disponibilidade Biológica. . . . .	10
2.3. Fontes de Fósforo . . . . .	12
2.3.1. Fosfatos de Rocha . . . . .	13
2.3.2. Ácido Fosfórico . . . . .	14
2.3.3. Fosfatos de Cálcio. . . . .	16
2.3.4. Fosfatos Desfluorados . . . . .	17
2.3.5. Farinha de Ossos. . . . .	18
2.3.6. Ortofosfatos Monoamônio e Diamônio. . . . .	18
2.4. Métodos e Critérios para Avaliar a Utilização de Fontes de Fósforo. . . . .	18
2.5. Biodisponibilidade do Fósforo de Diferentes Fontes. . . . .	27

---

	<u>Página</u>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.</b> . . . . .	<b>33</b>
<b>3.1. Local.</b> . . . . .	<b>33</b>
<b>3.2. Ensaio "in vivo".</b> . . . . .	<b>33</b>
<b>3.2.1. Animais</b> . . . . .	<b>33</b>
<b>3.2.2. Período Pré-experimental.</b> . . . . .	<b>35</b>
<b>3.2.3. Período Experimental.</b> . . . . .	<b>36</b>
<b>3.2.3.1. Preparo de Solução Radioativa e Padrão.</b> . . . . .	<b>36</b>
<b>3.2.3.2. Aplicação de Fósforo Radioativo e Coletas</b> . . . . .	<b>36</b>
<b>3.2.4. Análises.</b> . . . . .	<b>37</b>
<b>3.2.4.1. Determinação da Radioatividade no Plasma e nas Fezes</b> . . . . .	<b>37</b>
<b>3.2.4.2. Determinação do Teor de Fósforo Inorgânico no Plasma e nas Fezes.</b> . . . . .	<b>37</b>
<b>3.2.4.3. Análises da Dieta e das Fontes de Fósforo.</b> . . . . .	<b>38</b>
<b>3.2.5. Cálculos.</b> . . . . .	<b>39</b>
<b>3.2.5.1. Atividade Específica</b> . . . . .	<b>39</b>
<b>3.2.5.2. Perda Endógena Fecal, Absorção Líquida de Fósforo e Disponibilidade Biológica.</b> . . . . .	<b>40</b>

	<u>Página</u>
3.2.6. Delineamento Experimental e Análises Estatísticas. . . . .	41
3.3. Experimentos "in vitro". . . . .	41
3.3.1. Incubações. . . . .	41
3.3.2. Cálculos. . . . .	43
3.3.3. Delineamento Experimental e Análise Estatística. . . . .	44
4. RESULTADOS. . . . .	45
4.1. Ensaaios "in vivo". . . . .	45
4.1.1. Ingestão de Fósforo . . . . .	51
4.1.2. Excreção de Fósforo . . . . .	51
4.1.3. Fósforo Endógeno Fecal. . . . .	53
4.1.4. Teor de Fósforo no Plasma . . . . .	54
4.1.5. Absorção Verdadeira do Fósforo. . . . .	56
4.1.6. Correlações. . . . .	57
4.2. Experimentos "in vitro" . . . . .	58
5. DISCUSSÃO. . . . .	61
5.1. Ensaaios "in vivo". . . . .	61
5.2. Experimentos "in vitro". . . . .	64
6. CONCLUSÕES. . . . .	66
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS. . . . .	68
8. APÊNDICE. . . . .	84

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>		<u>Página</u>
1	- Atividades específicas médias no plasma e nas fezes para os animais que receberam fosfato bicálcico. . . . .	46
2	- Atividades específicas médias no plasma e nas fezes para os animais que receberam o fosfato Patos de Minas. . . . .	47
3	- Atividades específicas médias no plasma e nas fezes para os animais que receberam o fosfato Tapira. . . . .	48
4	- Atividades específicas médias no plasma e nas fezes para os animais que receberam o fosfato Finos de Tapira. . . . .	49



## LISTA DE TABELAS

<u>Tabela</u>		<u>Página</u>
I	- Classificação de produtos fosfatados. . . . .	13
II	- Reservas brasileiras de fosfatos. . . . .	15
III	- Composição da mistura concentrada oferecida aos animais experimentais. . . . .	34
IV	- Análise bromatológica do feno e da mistura concentrada (100% da matéria seca). . . . .	34
V	- Análise das fontes de fósforo utilizadas no experimento (100% da matéria seca). . . . .	35
VI	- Valores de ingestão, absorção e excreção de fósforo em carneiros com diferentes fontes desse elemento na dieta. . . . .	50
VII	- Análise da variância da quantidade de fósforo ingerido (g/dia) por ovinos que receberam na dieta os fosfatos bicálcico (BIC), Patos (PAT) Tapira (TAP) e Finos de Tapira (FIN). . . . .	52
VIII	- Análise da variância da quantidade total de fósforo excretado nas fezes (g/dia) por ovinos nos tratamentos com BIC, PAT, TAP e FIN..	53
IX	- Análise da variância da porcentagem de fósforo endógeno fecal para carneiros que receberam na dieta os fosfatos BIC, PAT, TAP e FIN. . . . .	54
X	- Análise da variância dos níveis de fósforo no plasma (mg/100 ml) em ovinos mantidos nos tratamentos com fosfato BIC, PAT, TAP e FIN. . . . .	55

<u>Tabela</u>	<u>Página</u>
XI - Análise da variância da absorção verdadeira do fósforo (%) dos fosfatos BIC, PAT, TAP e FIN . . . . .	57
XII - Correlação entre os resultados do fósforo consumido, fósforo total excretado, fósforo endógeno fecal, teor do fósforo no plasma e disponibilidade biológica . . . . .	58
XIII - Valores médios de incorporação de <sup>32</sup> P pelos microorganismos do rúmen (mg) para os fosfatos BIC, PAT, TAP e FIN . . . . .	59
XIV - Análise da variância do fósforo incorporado pelos microorganismos do rúmen (mg) . . . . .	60

**RESUMO****AVALIAÇÃO DA DISPONIBILIDADE BIOLÓGICA DO FÓSFORO DOS FOSFATOS BICÁLCICO, PATOS DE MINAS, TAPIRA E FINOS DE TAPIRA PARA OVINOS, PELA TÉCNICA DE DILUIÇÃO ISOTÓPICA**

*Dorinda Miriam Silber Schmidt Vitti*

Com o objetivo de determinar a disponibilidade biológica do fósforo do fosfato bicálcico, rocha de Patos, rocha Tapira e Finos de Tapira, foram desenvolvidos experimentos constituídos por técnicas "in vivo" e "in vitro".

Vinte e quatro carneiros machos castrados, com peso médio de 40 kg, divididos em três grupos de oito animais, receberam uma dieta básica de feno e mistura concentrada (melaço, uréia, farinha de mandioca, farelo de soja e minerais). As fontes de fosfato foram adicionadas ao concentrado em quantidades equivalentes a 4 g diárias de fósforo por animal. Essa alimentação foi fornecida durante quatorze dias, quando registrou-se o consumo e a excreção.

Após esse período, foram injetados 200  $\mu\text{Ci}$  de  $^{32}\text{P}(\text{Na}_2\text{HPO}_4)$  em cada animal, através da jugular, e coletou-se amostras de sangue e fezes a intervalos de 24 horas durante oito dias. Determinou-se as atividades específicas do plasma e das fezes e calculou-se a perda endógena fecal e a absorção real de fósforo.

Para os ensaios "in vitro", conteúdo do rúmen de bovino fistulado foi filtrado e incubado com 0,1  $\mu\text{Ci}$  de  $^{32}\text{P}$  em meio contendo os diversos fosfatos. Após a separação dos microorganismos por centrifugação, a incorporação de fósforo foi determinada.

Os valores da absorção real do fósforo nos fosfatos bicálcico, Finos de Tapira, Tapira e Patos foram respectivamente 58,92; 50,85; 47,99 e 42,72%, sendo o fosfato bicálcico mais disponível que o Patos ( $P < 0,05$ ). Em relação ao bicálcico as rochas fosfáticas apresentaram altos valores de disponibilidade. Observou-se porém, alguma diferença no metabolismo do fosfato bicálcico, mais rapidamente distribuído aos tecidos.

Os ensaios "in vitro" indicaram que os fosfatos bicálcico e Patos foram melhor utilizados pelos microorganismos do rúmen, diferindo dos dados obtidos "in vivo".

Concluiu-se que as rochas fosfáticas podem ter valor como suplemento de fósforo em dieta para ruminantes mas, recomenda-se que mais pesquisas sejam feitas para verificar os efeitos na produção e a possível toxicidade do flúor.

## ABSTRACT

## EVALUATION OF THE AVAILABILITY OF PHOSPHORUS FROM DICALCIUM PHOSPHATE AND ROCK PHOSPHATES FROM PATOS DE MINAS, TAPIRA AND FINOS DE TAPIRA FOR SHEEP, BY THE ISOTOPE DILUTION TECHNIQUE

*Dorinha Miriam Silber Schmidt Vitti*

"In vitro" and "in vivo" assays were carried out to determine the phosphorus availability from dicalcium phosphate and rock phosphates from Patos de Minas, Tapira and Finos de Tapira.

Twenty four male sheep, with 40 kg live weight, were assigned to three groups of eight animals each. The animals were housed individually in metabolism cages and received a diet containing cassava meal, urea, molasses, soybean meal and mineral mixture. Phosphate sources were added to give 4 g of phosphorus per animal per day.

After two weeks on the experimental diet each sheep was injected intravenously with 200  $\mu\text{Ci}$  of  $^{32}\text{P}$  ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ). Blood samples were collected from the jugular vein at 24 hs intervals for 8 days. The daily fecal outputs were collected for 8 days and sampled. The specific activities of plasma and feces were determined and the fecal endogenous loss and true phosphorus absorption were calculated.

For "in vitro" assay, rumen samples were collected from a fistulated steer and aliquots were incubated with 0.1  $\mu\text{Ci}$   $^{32}\text{P}$  ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) in a medium containing the phosphorus sources. After centrifugation microorganisms were separated and phosphorus incorporation determined.

The true absorption values were 58.92; 50.85; 47.99 and 42.72% for dicalcium phosphate, Finos de Tapira, Tapira and Patos, respectively. Dicalcium phosphate showed higher availability ( $P < 0.05$ ) than Patos, but in relation to dicalcium, the rock phosphate availabilities were high. Some differences were observed in the metabolism of dicalcium phosphate which was more rapidly distributed to tissues.

It was concluded that rock phosphate could be of value as phosphorus supplement in diets for ruminants and that more experimental research is required to evaluate the effects on animal production and a possible toxicity of fluorine.

## 1. INTRODUÇÃO

Entre os fatores que afetam a produtividade do rebanho bovino brasileiro, destacam-se as deficiências minerais, especialmente a do fósforo. Existem no Brasil muitas regiões cujas pastagens apresentam níveis de fósforo abaixo das necessidades mínimas dos animais, evidenciando-se a região do Pantanal Matogrossense com uma área de 140.000 km<sup>2</sup>, caracterizada por um solo pobre, silicoso na grande maioria, onde a atividade principal é a criação extensiva de bovinos de corte.

A deficiência de fósforo produz efeitos adversos no crescimento e na reprodução. Quando ela é severa pode levar a anormalidades no esqueleto e nos dentes. Uma das maneiras de se corrigir esse tipo de distúrbio é através do fornecimento desse elemento em misturas minerais. As principais fontes comerciais de fósforo atualmente destinadas à alimentação animal no Brasil são o fosfato bicálcico e a farinha de ossos. Entretanto, o custo elevado e a produção nacional insuficiente desses suplementos, limitam o seu uso, a ponto dos fabricantes de mistura mineral e criadores estarem incluindo o fosfato de rocha sem qualquer tratamento na alimentação de bovinos.

As duas limitações principais do emprego dos fosfatos de rocha estão relacionadas ao elevado teor em flúor, geralmente superior a 1,3%, e à baixa disponibilidade bioló-

gica.

A maioria dos fosfatos brasileiros são de origem ígnea, sendo diferente dos sedimentares por apresentarem menor reatividade. Isto constitui-se uma vantagem, pela menor liberação do flúor. Entretanto, a relação fósforo: flúor nessas fontes é baixa, fato desfavorável na sua utilização. No Brasil, as reservas de fosfatos de rocha localizam-se em Minas Gerais (70%), Goiás (10%), Santa Catarina (9%) e São Paulo (6%).

Para se fazer a avaliação de uma fonte de fósforo, a análise química do mineral não é suficiente. Sabe-se que os elementos não são totalmente aproveitados, pois ocorrem perdas durante os processos de digestão, absorção e transporte. Deve-se, portanto, determinar a disponibilidade biológica ou seja, o grau em que o elemento é realmente utilizado pelo animal. Isso envolve a medida da perda endógena fecal, que é a porção procedente dos tecidos e que atinge a luz do trato digestivo. Para esse cálculo, utilizam-se técnicas com radioisótopos.

Os objetivos do presente trabalho foram:

- determinar a absorção real do fósforo do fosfato bicálcico, Rocha de Patos de Minas, Tapira e Finos de Tapira para ovinos;
- avaliar a disponibilidade dessas fontes aos microorganismos do rúmen.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Importância, Distribuição e Metabolismo do Fósforo

Cerca de 80% do fósforo presente nos organismos é encontrado no esqueleto, sendo o restante distribuído pelo corpo em combinação com proteínas, gorduras e sais orgânicos (MAYNARD & LOOSLI, 1969).

No tecido ósseo, esse elemento está na forma de hidroxiapatita e nos tecidos moles e fluidos do corpo, a maior parte encontra-se como compostos orgânicos (fosfoproteínas, ácidos nucleicos, ATP, ADP, fosfolipídeos, creatinina fosfato). Uma pequena porção do fósforo está presente como mineral, na forma de fosfatos de cálcio, magnésio, potássio e amônio (GEORGIEVSKII, 1982).

Entrando na formação dessa grande variedade de compostos, o fósforo possui funções essenciais na produção de energia, formação do tecido muscular, no movimento, na deposição e utilização de gorduras; encontra-se presente em cada célula viva e é importante em todas as fases da reprodução. Em acréscimo, participa do metabolismo dos carboidratos, vitaminas e outros minerais (THOMPSON, 1978).

O fósforo para os ruminantes, além de ser essencial ao crescimento, funções reprodutivas e formação dos ossos, é necessário ao metabolismo e desenvolvimento da flora do rúmen (ROUND, 1976).

O sangue total contém de 35 a 45 mg de fósforo por 100 ml, a maior porção estando presente nas células. No plasma, grande quantidade do elemento na forma inorgânica está ionizada e é ultrafiltrável (GEORGIEVSKII, 1982) e os níveis considerados normais variam de 4 a 9 mg por 100 ml (THOMPSON, 1978).

Além do fósforo dietético outros fatores influenciam o nível plasmático, como excitação, jejum (MOODIE, 1975), e armazenamento das amostras de sangue, quando pode ocorrer hidrólise de fosfatos orgânicos (LITTLE *et alii*, 1971; DAYRELL *et alii*, 1983).

Os ruminantes secretam elevadas quantidades de fósforo na saliva (FIELD, 1983), representando aproximadamente 80% do total da secreção endógena desse elemento no rúmen. Grande porção desse fósforo é inorgânica e excede pelo menos em cinco vezes a concentração no plasma (COHEN, 1980).

A saliva dos ovinos contém normalmente entre 20 a 60 mg de fósforo por 100 ml, mas, pode haver uma variação de 5 a 100 mg. Um dos fatores que contribui para que exista essa grande flutuação é a quantidade de saliva secretada, que depende principalmente da natureza da dieta e da quantidade de alimento consumido (BAILEY & BALCH, 1961; THOMPSON, 1978).

No rúmen a concentração é de 30 a 90 mg de fósforo por 100 ml (BARNETT & REID, 1961), sendo originado em grande parte, da saliva.



O principal veículo de excreção de fósforo nos ruminantes são as fezes (BARROW & LAMBOURNE, 1962), verificando-se uma relação linear positiva entre o fósforo total excretado e a ingestão do elemento (BARROW & LAMBOURNE, 1962; COHEN, 1974; FIELD & KAMPHUES, 1983).

O organismo animal ingere o fósforo como mono, di e trifosfatos inorgânicos ou na forma orgânica como fitatos, fosfolipídeos e fosfoproteínas. Os fosfatos solúveis, alguns insolúveis e o ácido fosfórico dos compostos orgânicos são dissolvidos pelo suco gástrico. Esse processo ocorre no intestino delgado, sob efeito das fosfatases do suco digestivo. Os fitatos são hidrolisados no rúmen pela ação das fitases produzidas pelos microorganismos (GEORGIEVSKII, 1982).

A absorção de fósforo é dependente de uma série de fatores, como: proporção Ca:P, pH intestinal, níveis dietéticos de cálcio e fósforo, presença de vitamina D, gorduras e outros minerais (HAY & SWENSON, 1970). As proporções indicadas de cálcio e fósforo na dieta estão entre 2:1 e 1:1, embora condições adequadas de nutrição sejam possíveis fora desses limites (MANSTON, 1967; THOMPSON, 1978).

A absorção de fosfatos no rúmen e omasum é negligenciável (COHEN, 1980), e não tem sido claramente demonstrada. Entretanto foi observada "in vivo", com carneiros, a permeabilidade da parede do rúmen em qualquer direção (PARTHASARATHY *et alii*, 1952).

Os fosfatos solúveis que chegam aos intesti-

nos e aqueles aí formados com a participação de ácidos fosfóricos são prontamente absorvidos, sendo que a porção superior do intestino delgado é o sítio de maior absorção (IRVING, 1964; COHEN, 1980; GEORGIEVSKII, 1982). A absorção de fósforo é relacionada ao consumo, mas, pode ser aumentada em resposta à demanda, sugerindo que nem todo o fósforo disponível é normalmente absorvido e que dois processos diferentes podem estar envolvidos na absorção: um processo passivo relacionado ao consumo, e outro ativo, referente à demanda de fósforo (BRAITHWAITE, 1984).

A absorção de fósforo é facilitada pelo baixo pH intestinal, que é necessário a sua solubilidade (HAY & SWENSON, 1970) e vários elementos, além do cálcio, podem afetá-la. Excessivas quantidades de ferro, alumínio, zinco cobre, molibdênio e magnésio podem deprimir a absorção desse elemento, pela formação de compostos insolúveis (GEORGIEVSKII, 1982; CHURCH *et alii*, 1971).

O fósforo absorvido do intestino, pela rota portal, circula pelo organismo e é fixado em ATP, creatinina, carboidratos e proteínas. Também ocorre incorporação nos ossos e dentes (HAY & SWENSON, 1970; GEORGIEVSKII, 1982).

O excesso de fósforo é excretado na urina como fosfatos mono e dibásicos. Nos ruminantes, o principal caminho de excreção é via fezes, devendo-se isto à habilidade do rim em absorver fosfatos. Menos que 1% do fósforo nos bovinos é perdido normalmente via urina (THOMPSON, 1978).

O metabolismo de cálcio e fósforo é estritamente interligado e esses elementos interagem no trato gastrointestinal, nos fluidos celulares, no sistema osso - sangue e são regulados por idênticos mecanismos biológicos e físico-químicos. O controle desses mecanismos inclui principalmente o hormônio da paratireóide e a tirocalcitonina.

O hormônio da paratireóide regula o metabolismo de cálcio, mantendo constante o nível do elemento no sangue, através da mobilização do cálcio do osso, e a tirocalcitonina reduz o nível sanguíneo, deprimindo a absorção ou reduzindo mobilização do elemento do osso (CHURCH *et alii*, 1971; KRONFIELD *et alii*, 1976).

No caso de ocorrer uma deficiência de cálcio há mobilização deste, do osso para o sangue, ocorrendo simultaneamente liberação do fósforo. No excesso de cálcio, não ocorre mobilização e conseqüentemente menor quantidade de fósforo fica disponível para o sangue. Assim, o principal mecanismo regulador do turnover de P é grandemente dependente do status de cálcio do animal (COHEN, 1980).

## 2.2. Disponibilidade Biológica do Fósforo

### 2.2.1. Conceitos

A concentração de um elemento mineral nos suplementos e rações, determinada pela análise química, não tem muito valor a não ser que seja conhecida a disponibilidade

biológica daquele mineral no ingrediente para a espécie animal a ser suplementada.

O termo disponibilidade biológica é definido como sendo a medida da capacidade do elemento em sofrer algum processo fisiológico (McGILLIVRAY, 1978) e indica portanto, o grau em que um mineral é utilizado efetivamente pelo animal. Nenhum elemento é totalmente absorvido e utilizado, já que perdas ocorrem nos processos normais de digestão e metabolismo (PEELER, 1972).

No trato gastrointestinal, os elementos minerais seguem dois caminhos: exógeno (como alimento e água) e endógeno (nos vários sucos gástricos, restos celulares).

A diferença entre a ingestão pelo alimento e a excreção nas fezes resulta na assimilação aparente. Para se determinar a absorção real do mineral deve-se levar em consideração o seu conteúdo endógeno (ANNENKOV, 1982).

Nos ruminantes, a determinação da perda endógena é muito importante já que nesses animais a excreção do fósforo endógeno é quase que exclusivamente pelas fezes e pode exceder o fósforo não digerido do alimento (GEORGIEVSKII, 1982).

A assimilação real de um elemento é derivada da fórmula descrita abaixo:

$$V_a = V_i - V_F + V_f,$$

onde:

$V_a$  = representa a assimilação real;

$V_i$  = o consumo no alimento;

$V_F$  = a excreção nas fezes;

$V_f$  = a excreção endógena.

Sua determinação envolve o uso de radioisótopos e os princípios básicos do método são descritos com detalhes na literatura (LOFGREEN *et alii*, 1952; LOFGREEN & KLEIBER, 1953, 1954; LUICK & LOFGREEN, 1957), podendo ser resumidos como segue-se:

*"Quando um isótopo radioativo do elemento em estudo for introduzido na corrente sangüínea, será detectado nas fezes após um curto período de tempo. Os isótopos radioativo e estável comportam-se de maneira idêntica e entram no lúmen do trato digestivo na mesma proporção em que estão no sangue (KLEIBER *et alii*, 1951). Entretanto, nas fezes está presente certa quantidade exógena do elemento, o que leva a uma diluição do elemento radioativo. Assim a razão entre o isótopo radioativo e estável é mais baixa que a do sangue. Se a porção endógena do conteúdo do trato for maior, menor será a diluição.*

*Conhecendo-se a fração endógena nas fezes e, se o total do mineral no alimento e nas fezes forem determinados, a quantidade endógena absoluta pode ser calculada".*

KLEIBER *et alii* (1951) encontraram que em vacas, a máxima quantidade de fósforo radioativo aparece nas fezes 2 dias após a injeção, assumindo assim que a quantidade de  $^{32}\text{P}$  excretada no trato gastrointestinal aparece nas

fezes 2 dias mais tarde.

Com ovelhas, foi observado que o pico de atividade específica ocorre nas fezes 24 horas após a introdução do radioisótopo no sangue (LOFGREEN & KLEIBER, 1953).

Assim a fração de fósforo de origem metabólica pode ser formulada:

$$\pi(t) M = \phi(t + 24)$$

onde:

$\pi(t)$  = atividade específica do fósforo inorgânico no plasma no tempo t;

$\phi(t + 24)$  = atividade específica nas fezes 24 horas mais tarde;

M = proporção de fósforo fecal que origina do fósforo do plasma e representa a fração metabólica.

A digestibilidade verdadeira é então calculada:

$$\text{Digestibilidade verdadeira} = \frac{\text{fósforo alimento} - (\text{fósforo total fezes} - \text{fósforo metabólico})}{\text{fósforo alimento}}$$

### 2.2.2. Fatores que Afetam a Perda Endógena Fecal de Fósforo e a Disponibilidade Biológica

A perda endógena fecal de fósforo é diretamente relacionada ao consumo e à absorção desse elemento (BRAITHWAITE, 1984; SCOTT *et alii*, 1985). FIELD *et alii* (1985) reportaram que a excreção endógena fecal, em carneiros, aumentou com o con

sumo de matéria seca ou com a ingestão de fósforo, resultando valores de 17,9 e 33,5 mg por kg de peso vivo por dia, respectivamente para o nível mais baixo e mais elevado da dieta. BRAITHWAITE (1981) calculou um valor de 35 mg por kg peso vivo para o fósforo endógeno excretado em ovinos alimentados com feno e concentrado e considerou esse dado como a perda endógena mínima diária.

Valores mais elevados foram citados por GEORGIEVSKII (1982), que considerou que a perda média diária de fósforo em ovinos varia de 43 a 48 mg por kg de peso vivo.

Em experimentos com ovelhas mantidas em dietas deficiente e adequada em fósforo, BOXEBELD *et alii* (1985) observaram que a fração endógena foi respectivamente 24,5 e 60,5 mg por kg de peso vivo.

Considerando-se os trabalhos acima mencionados, verifica-se que há uma variação grande nos valores do fósforo endógeno fecal, que se relaciona principalmente com o conteúdo do elemento na dieta.

A disponibilidade biológica de minerais depende principalmente do alimento ou do suplemento oferecido, mas, isto não significa que outros fatores como o ambiente e o animal em estudo não tenham influência.

De acordo com McDONALD *et alii* (1975), o estado fisiológico, o peso vivo e a idade têm efeito na digestibilidade, decrescendo com os dois últimos fatores.

O tipo de ração, a forma química, níveis de energia e proteína, interação com outros elementos, hormônios, doenças, parasitas e proporção Ca:P são citados como elementos que afetam a utilização dos minerais (CHURCH, 1975; PEELER, 1972; MCGILLIVRAY, 1978).

Em trabalhos com fontes de cálcio vários autores (PEELER, 1972; THOMPSON & MENDES, 1976) observaram que a espécie animal deve ser considerada como um fator importante quando se determina a disponibilidade biológica. Os pesquisadores citam que os ruminantes são mais sensíveis que os monogástricos e na determinação da biodisponibilidade do magnésio obtiveram valores menores com os ruminantes.

Os ruminantes jovens apresentam resultados mais evidentes para a digestibilidade. HANSARD *et alii* (1957) verificaram, com fontes de cálcio, que esses valores foram maiores nos animais jovens.

### 2.3. Fontes de Fósforo

As fontes de fosfatos alimentares são divididas em quatro grupos: fosfatos de cálcio, fosfatos de sódio, fosfato de amônio e ácido fosfórico.

Na Tabela I é apresentada a classificação desses suplementos de acordo com THOMPSON (1980).



**Tabela I - Classificação de produtos fosfatados.**

**1. Fosfatos de cálcio**

**NATURAIS ou não processados**

- a) Fosfato de rocha
- b) Farinha de ossos

**PROCESSADOS QUIMICAMENTE**

- a) Fosfato bicálcico
- b) Fosfatos desfluorados

**2. Fosfatos de sódio**

**3. Fosfatos de amônio**

- a) Monoamônio fosfato (MAP)
- b) Diamônio fosfato (DAP)

**4. Ácido fosfórico**

- a) Processo por via úmida
- b) Processo por via seca

Várias fontes de fósforo estão disponíveis para a suplementação de animais, e serão descritas aquelas mais utilizadas na prática.

**2.3.1. Fosfatos de Rocha**

O fosfato de rocha é uma apatita de forma geral  $Ca_{10}(PO_4)_X_2$ , onde  $X_2$  inclui comumente o flúor. Níveis consideráveis de óxidos de alumínio e hepatita, em geral, também estão presente nessas fontes (ROUND, 1976).

O ponto de partida para produção de quase to-

dos os fosfatos alimentares processados é a rocha fosfática. Para isso, o fosfato de rocha deve ser submetido a tratamentos físico-químico ou biogeoquímicos, a fim de tornar o fósforo mais solúvel e de se obter uma proporção adequada entre o fósforo e o flúor.

As reservas de fosfatos no Brasil apresentam uma média 10% de  $P_2O_5$ , necessitando de processos de concentração para serem utilizadas (LOBO & SILVA, 1984).

A maioria das rochas nacionais são de origem ígnea e contém baixo teor em flúor (1,34 a 2,52%), representando 30 a 60% menos desse elemento que as de origem sedimentar (3,35 a 4,04%) (ROSA, 1983).

A Tabela II indica as principais jazidas brasileiras, de acordo com LOBO & SILVA (1984).

### 2.3.2. Ácido Fosfórico

Uma das maneiras de se utilizar a rocha fosfática é através da produção de ácido fosfórico, usado na síntese dos fosfatos alimentares (THOMPSON, 1980). Há dois tipos de ácido fosfórico, produzidos por via seca ou via úmida. O ácido fosfórico obtido via seca tem baixo nível de flúor, enquanto que o preparado por via úmida contém teores demasiadamente altos para o emprego em alimentos animais, necessitando de uma etapa adicional de purificação (desfluoração) (VIANA, 1985).

Tabela II - Reservas brasileiras de fosfatos.

J a z i d a	Unidade da Federação	Reserva total (10 <sup>6</sup> t)	Teor P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%)	Reserva em P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (10 <sup>6</sup> t)	Obser- vações
Trauíra/Piracaua	MA	25	21	5,2	*
Olinda	PE	15	18	2,7	Paralisada
Paulista	PE	20	18	3,6	Em estudos
Itatiaia	CE	115	12	13,8	Em estudos
Araxá	MG	455	14	63,7	Em lavra
		100	8	8,0	*
		103	13,3	13,7	Paralisada
Lagamar	MG	6	30	1,8	Em lavra
Patos	MG	414	11,3	46,8	Em lavra
Patrocínio	MG	220	8	17,6	Paralisada
Tapira	MG	716	8,7	62,3	Em lavra
		453	8	36,2	Paralisada
Catalão	GO	285	7	20,0	Em lavra
Ouvidor	GO	80	11	8,8	Em lavra
Jacupiranga	SP	75	5,3	4,0	Em lavra
Iperó	SP	119	6,7	8,0	Paralisada
Registro	SP	18	10	1,8	Paralisada
Anitápolis	SC	320	8,5	27,2	Em estudos
Total		3539		345,2	

Fonte: LOBO & SILVA (1984).

\*Fosfatos aluminosos.

O esquema abaixo mostra a produção do ácido fosfórico (THOMPSON, 1980):

a) *Produção de ácido fosfórico por via seca:*

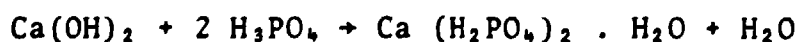
- fosfato + sílica + coque + fósforo elementar de rocha
- fósforo elementar + oxigênio + pentóxido de fósforo
- pentóxido de fósforo + água + ácido fosfórico

b) *Produção por via úmida:*

- fosfato de rocha + ácido sulfúrico + ácido fosfórico + gesso

### 2.3.3. Fosfatos de Cálcio

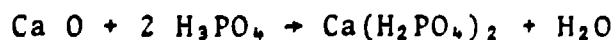
Quantitativamente, os fosfatos de cálcio são as fontes de fósforo suplementar mais importantes. O fosfato monocálcico mono-hidratado é obtido por reação de cal hidratada com ácido fosfórico (BELL, 1971) pela reação:



Esse produto é hidrossolúvel e higroscópico.

O fosfato monocálcico anidro é preparado pela reação de cal com ácido fosfórico a temperaturas de 140 a 175°C.

A reação é a seguinte:



O fosfato bicálcico tem uma baixa solubilidade, o que torna-o adequado para incorporação em blocos.

Essa fonte fosfatada é preparada por adição de uma pasta de cal diluída em uma solução de ácido fosfóri-

co também diluído. O dihidrato é formado à temperatura baixa ( $< 40^{\circ}\text{C}$ ), e o produto anidro obtido acima de  $70^{\circ}\text{C}$ , por cristalização (BELL, 1971):



O fosfato bicálcico pode ainda ser produzido pelo tratamento de fonte de fosfato tricálcico com ácido hidroclórico (THOMPSON, 1980).

- a) *Ossos (fosfato tricálcico) + ácido hidroclórico + fosfato monocálcico + cloreto de cálcio.*
- b) *Fosfato monocálcico + hidróxido de cálcio + fosfato bicálcico.*

#### 2.3.4. Fosfatos Desfluorados

Os fosfatos desfluorados são obtidos pela reação de fosfatos de rocha com ácido fosfórico e carbonato de sódio, seguindo-se calcinação a altas temperaturas:

Fosfato de rocha + ácido fosfórico + carbonato de sódio  $> 1000^{\circ}\text{C}$   
 $\rightarrow$  fosfato tricálcico bruto (fosfato desfluorado).

Através da calcinação o flúor é retirado, e a rocha fosfática é convertida em forma biologicamente mais aproveitável pelos animais (THOMPSON, 1980).

### **2.3.5. Farinha de Ossos**

A produção de farinha de ossos ocorre por tratamento pelo calor ou solventes orgânicos, desidratação e moagem. Dependendo da intensidade de calor aplicada, obtêm-se a farinha autoclavada ou calcinada. Para a produção da farinha de ossos calcinada, temperaturas em torno de 800 a 1000°C, na presença de oxigênio, são usadas. No caso da farinha autoclavada, conforme a temperatura, diferentes quantidades de matéria orgânica serão extraídas, alterando-se assim a composição química do produto resultante (MACIEL & LEBOUTE, 1978).

### **2.3.6. Ortofosfatos Monoamônio e Diamônio**

São produzidos por reação de amônia aquosa ou gasosa com solução de ácido fosfórico. Esses fosfatos são comumente disponíveis como fertilizantes, mas, têm sido usados como suplementos de fósforo para bovinos (ROUND, 1976). A vantagem dessas fontes é a presença de nitrogênio.

## **2.4. Métodos e Critérios para Avaliar a Utilização de Fontes de Fósforo**

Os estudos para determinar a eficiência de utilização do fósforo em forragens ou suplementos minerais incluem técnicas "in vitro" e "in vivo". As medidas "in vitro"

abrangem métodos microbiológicos, como o de rúmen artificial ou com uso de radioisótopos e testes de solubilidade em ácido cítrico, ácido clorídrico, líquido do rúmen ou abomasum.

A determinação da disponibilidade biológica de fósforo "in vivo" inclui parâmetros como níveis do elemento no plasma, teor nas cinzas dos ossos, eficiência alimentar, ganho de peso, balanço convencional e medida de absorção verdadeira.

As pesquisas conduzidas utilizando técnicas microbiológicas são baseadas no conceito de que as bactérias do rúmen, depletadas de fósforo, digerirão a celulose rapidamente quando supridas com quantidade de fósforo disponível.

CHICCO *et alii* (1965) determinaram a disponibilidade biológica relativa de três formas cristalinas de fosfato (orto, meta e pirofosfatos de cálcio e sódio), utilizando técnicas "in vivo" e "in vitro". Os resultados mostraram que as formas meta e pirofosfato foram muito pouco utilizadas.

Os dados da digestão da celulose "in vitro", seguem a mesma ordem de disponibilidade encontrada nos experimentos "in vivo", mas com valores de diferentes magnitudes.

Utilizando-se do ortofosfato monossódico, meta e pirofosfato de sódio, HALL *et alii* (1961) verificaram que a digestão da celulose "in vitro" ocorreu quando os níveis de fósforo foram elevados de 20 para 100 µg por ml de meio,

---

não havendo diferenças significativas entre as fontes.

Em geral, existe uma relação positiva entre a disponibilidade de um mineral na forma orgânica e sua solubilidade em água ou ácidos diluídos (UNDERWOOD, 1966). De acordo com ROSA *et alii* (1986) a fração de fósforo absorvido é diretamente proporcional à quantidade de fósforo ingerida que é solubilizada.

Os resultados obtidos por teste de solubilidade em ácido cítrico 2% apresentaram boas correlações com dados de ensaio de biodisponibilidade realizados com pintos (YOSHIDA, 1979).

HALL & LEE (1978), testando a solubilidade de fontes inorgânicas e farinha de ossos em ácido cítrico ou em líquido do rúmen, concluíram que, os valores de disponibilidade relativa do fósforo, obtidos com este último, eram mais próximos daqueles encontrados em experimentos "in vivo".

Em comparação de fontes de fósforo inorgânico, utilizando fluido abomasal e ruminal, WITT & OWENS (1985) concluíram que a solubilização no fluido abomasal foi mais indicativa na avaliação da eficiência do fósforo da dieta para ruminantes do que a solubilidade no líquido do rúmen. Esses resultados foram confirmados por ROSA *et alii* (1986) com fosfato parcialmente desfluorado e fosfato de Araxá.

Apesar de haver concordância em comparações entre métodos "in vitro" e "in vivo" (CHICCO *et alii*, 1965), precauções devem ser tomadas quando se faz uma extrapolação



de resultado obtido em rúmen artificial para os animais (PEELER, 1972).

A associação de técnica do rúmen artificial com o uso de radioisótopos tem mostrado resultados satisfatórios em pesquisas relacionadas à utilização de fósforo pelos microorganismos do rúmen. O método baseia-se na relação entre a incorporação de fósforo na matéria microbiana e a síntese de proteína, utilização de amônia ou produção de ácidos graxos voláteis, em períodos de incubações curtos, usando o fósforo radioativo como marcador.

As primeiras técnicas com uso do fósforo radioativo ( $^{32}\text{P}$ ) foram desenvolvidos por VAN NEVEL & DEMEYER (1973). Os autores mediram a síntese microbiana após vários períodos de incubação (0,5; 1,0; 1,5 e 2 horas) e concluíram que os valores de produção de células, obtidos pela incorporação de  $^{32}\text{P}$ , concordaram com os resultados teóricos calculados pela produção de ácidos graxos voláteis e de lactato.

Entretanto, VAN NEVEL *et alii* (1976) e VAN NEVEL & DEMEYER (1977) indicaram que método com o uso de fósforo - 32 leva à determinação do crescimento total dos microorganismos, não considerando a degradação das células. Os autores concluíram que os resultados calculados por esse método foram significativamente diferentes dos dados obtidos através da utilização de amônia ou nitrogênio solúvel total, propondo que a interpretação desses dados seja feita com cautela.

Mais recentemente, DURAND *et alii* (1983) estimaram que a necessidade de fósforo pelos microorganismos variou de 30 a 70 mg por litro de meio. Os autores sugerem que esses resultados sejam confirmados em experimentos "in vivo". Segundo DURAND & KUNASHIMA (1980), a administração de 4 g de P/kg de matéria orgânica no rúmen é suficiente para a síntese de ácidos nucleicos pelos microorganismos.

Em experimentos realizados com animais, vários parâmetros foram utilizados para se comparar diferentes fontes de minerais.

GILLIS *et alii* (1954) avaliaram a biodisponibilidade do fósforo de diversos fosfatos para pintos de um dia de idade durante quatro semanas, e o critério de avaliação foi o teor de cinzas nos ossos. Utilizando como padrão o  $\beta$ -fosfato tricálcico, os autores observaram que os fosfato bicálcico, fosfato desfluorado e farinha de ossos autoclavados foram altamente disponíveis. O método que utiliza pintos de um dia representa um baixo custo, período experimental curto e possibilidade de se testar um maior número de fosfatos (WOZNIAK *et alii*, 1977; HUYGHEBAERT *et alii*, 1980). Além disso, os valores encontrados para suínos e ruminantes são semelhantes aos das aves, mesmo considerando todos os tipos de determinações (INTERNATIONAL MINERALS & CHEMICAL CORPORATION, 1978).

TILLMAN (1956), através do balanço metabólico em novilhos de corte, observou que a disponibilidade do fos-

fato bicálcico foi de 100% e a da farinha de ossos 99%. Essas fontes foram comparadas ao ácido fosfórico, considerado como padrão. Também LONG *et alii* (1957) não encontraram diferenças significativas quando testaram a farinha de ossos autoclavada, fosfato da Ilha de Curaçau e o bicálcico para a suplementação de novilhos. Esses autores usaram como parâmetros de avaliação a ingestão de alimento, ganho de peso e fósforo plasmático.

AMMERMAN *et alii* (1957), utilizando a técnica do balanço e o teor de fósforo no soro de carneiros, determinaram a disponibilidade desse elemento em diversos suplementos, não se preocupando com a fração endógena. Os autores concluíram que, para carneiros, o fosfato mole com argila coloidal e o fosfato desfluorado apresentaram cerca de 50% da eficiência em relação ao bicálcico, farinha de ossos e fosfato desfluorado quando estes foram fornecidos para bovinos.

Em alguns testes, os autores consideraram o aumento do teor de mineral no sangue associado a outros parâmetros para determinar a disponibilidade do elemento. Com vacas leiteiras, WISE *et alii* (1961) avaliaram fontes de fósforo tendo como critérios, o nível no soro, o crescimento dos ossos, nível de fosfatase alcalina no sangue, teor de cinzas nos ossos. A medida mais sensível foi o nível do elemento no soro e embora os dados não levem ao cálculo da disponibilidade, os suplementos foram classificados em ordem decrescente em relação as respostas obtidas: fosfato bicálcico, fosfato desfluorado, fosfato de rocha com baixo teor em flúor

e fosfato coloidal.

Em estudo semelhante, ARRINGTON *et alii* (1962), através do nível de fósforo no soro, confirmaram os achados de WISE *et alii* (1961).

FISHER (1978) determinou a disponibilidade do fósforo do fosfato bicálcico, monocálcico, monoamônio fosfato e fosfato monosódico, através dos níveis do elemento no plasma de bovinos, a ingestão de matéria seca e a digestibilidade. Os autores concluíram que não houve diferença entre as fontes. O trabalho de FISWICK & HEMINGWAY (1973), com balanço metabólico em carneiros, concorda os achados de FISHER (1978), mostrando que o fosfato bicálcico, fosfato de uréia e fosfato monoamônio, proporcionaram respostas semelhantes quanto ao nível plasmático de fósforo, à retenção e excreção urinária do elemento.

HEMINGWAY & McLAUGHLIN (1979) estudaram a disponibilidade do fósforo nos fosfatos bicálcico, monocálcico e fosfato de magnésio. Foram utilizados carneiros em crescimento e os autores observaram que as três fontes tiveram igual efeito na retenção e excreção urinária e fecal e no teor do elemento no plasma. A disponibilidade aparente variou de 63 a 73%.

PAZ *et alii* (1984) realizaram experimentos com ovelhas para investigar a disponibilidade de fósforo de um resíduo da indústria de aço (basic steel slag) através de técnicas de depleção seguida de suplementação de fósforo e

determinando a absorção aparente, retenção, nível do elemento no soro, ingestão de alimento, peso corporal e valores de hematócrito e hemoglobina. Os resultados sugeriram que o fósforo no resíduo apresentou igual utilização que o do fosfato monossódico.

Os estudos para determinação da disponibilidade biológica com radioisótopos oferecem maiores vantagens sobre os demais e o seu uso é menos dispendioso, mais rápido e menos trabalhoso, apesar de não permitir o aproveitamento da carcaça do animal (UNDERWOOD, 1981). Com o uso de radioisótopos torna-se possível determinar a fração endógena e calcular a digestibilidade verdadeira.

Um dos primeiros trabalhos para estimativa do fósforo endógeno fecal e medida da digestibilidade verdadeira do elemento em forragens foi desenvolvido por KLEIBER *et alii* (1951). Através de injeção de fósforo-32 por via endovenosa, a atividade específica do plasma e das fezes foi determinada para o cálculo do fósforo endógeno.

A mesma técnica para a determinação da digestibilidade verdadeira foi usada posteriormente (LOFGREEN & KLEIBER, 1953, 1954) e os autores mostraram que a metodologia que determina a digestibilidade aparente leva a uma subestimativa do aproveitamento do fósforo.

Uma metodologia com carneiros alimentados com alfafa, envolvendo o uso de fosfato de cálcio marcado com fósforo-32, foi descrita (LUICK & LOFGREEN, 1957). O material

foi injetado subcutaneamente ou via intraperitoneal e o método de aplicação subcutânea apresentou vantagens em relação à injeção intraperitoneal ou endovenosa pelo fato de que o equilíbrio do  $^{32}\text{P}$  foi atingido mais rapidamente (3 dias) e permaneceu inutável por tempo mais longo (27 dias).

Em trabalhos mais recentes, a determinação da digestibilidade verdadeira tem sido feita com suínos (BELLAVAR *et alii*, 1983; 1984) em estudos com rochas fosfatadas.

Com ruminantes, poucos trabalhos foram realizados. GRACE (1981), em estudos da cinética do fósforo em carneiros, determinou a disponibilidade desse elemento em forragens fresca e palha de alfafa (*Medicago sativa*). O  $^{32}\text{P}$  foi injetado via jugular e seguiram-se coletas de sangue e fezes por 14 dias para a determinação da atividade específica no plasma e fezes. Os valores de disponibilidade do fósforo foram 56 e 62% para a alfafa e forragem fresca (*Lolium perenne* L.).

A absorção de cálcio e fósforo em carneiros jovens com níveis diferentes dos elementos foi medida com  $^{45}\text{Ca}$  e  $^{32}\text{P}$  (SCHNEIDER *et alii*, 1985) pela técnica da diluição isotópica, sendo que o material radioativo foi introduzido em uma primeira dose por cânula abomasal e a segunda dose aplicada via jugular. Os autores utilizaram técnicas de análise compartimental e observaram que a porcentagem de absorção do fósforo não apresentou diferenças entre os tratamentos e que o fósforo provavelmente foi absorvido por um mecanismo não saturável.

## 2.5. Biodisponibilidade do Fósforo de Diferentes Fontes

Uma grande quantidade de trabalhos tem sido divulgada para examinar a disponibilidade do fósforo de suplementos minerais para todas as classes de ruminantes. Poucos ou senão nenhum desses suplementos são ideais quando são considerados fatores como a palatabilidade, consumo pelos animais, ausência de efeitos deletérios, custo de preparo e custo do suplemento.

Um dos primeiros trabalhos para avaliar suplementos de fósforo para animais foi desenvolvido por THEILER (1927), que observou que o fosfato de sódio, fosfato de cálcio, ácido fosfórico, farelo de trigo e a farinha de ossos foram efetivos em eliminar a osteofagia de bovinos deficientes em fósforo.

Através do aumento do teor de cinzas ósseas, GILLIS *et alii* (1954) avaliaram a disponibilidade do fosfato bicálcico, fosfato desfluorado e farinha de ossos. Comparados com  $\beta$ -fosfato tricálcico, os respectivos valores variaram de 89 a 97; 82 a 99 e 70 a 100%.

TILLMAN (1956) confirmou esses resultados, em experimentos de balanço metabólico, tendo encontrado para o fosfato bicálcico valor de 100% e para a farinha de ossos 99% em relação ao ácido fosfórico. Também TILLMAN & BRETHOUR (1958) obtiveram que a disponibilidade do ácido fosfórico foi da mesma magnitude que a do bicálcico.

Entretanto, COHEN (1974) menciona a ocorrência de problema na Austrália com a utilização do ácido fosfórico como suplemento para ovinos e bovinos.

AMMERMAN *et alii* (1957) afirmaram que, em geral, os pesquisadores mencionam que a farinha de ossos, os fosfatos bicálcicos comerciais e os fosfatos desfluorados são fontes satisfatórias para bovinos. Realizando testes de balanço com esses suplementos e incluindo também os fosfatos de Curaçau e o coloidal, concluíram que todos os suplementos foram efetivos para novilhos de sobreano. Entretanto para carneiros, os fosfatos desfluorado e coloidal tiveram apenas 50% de eficiência em relação aos demais suplementos. Em concordância com esses resultados LONG *et alii* (1957) citaram que a farinha de ossos, o fosfato bicálcico e Curaçau foram igualmente disponíveis a novilhos em crescimento.

Em estudos posteriores com ovelhas, LOFGREEN (1960), com uso da técnica com radioisótopos, na qual a interferência do fósforo endógeno foi eliminada, determinou a digestibilidade verdadeira de vários suplementos orgânicos. Os valores foram de 50, 46, 14 e 33% respectivamente para o fosfato bicálcico, farinha de ossos, fosfato coloidal e fitato de Ca.

Outros pesquisadores (O'DONOVAN *et alii*, 1965; ARRINGTON *et alii*, 1963; LONG *et alii*, 1956), utilizando diferentes técnicas, apontaram os valores de digestibilidade de 70; 61,2 e 53% respectivamente para o fosfato bicálcico, fos



fato desfluorado e fosfato coloidal.

HILL (1965) observou que a disponibilidade do fósforo de fosfato de ferro e alumínio e de meta e pirofosfatos foi praticamente nula. CHICCO *et alii* (1965), usando a absorção e deposição de fósforo-32 nos tecidos e a atividade de celulolítica dos microorganismos do rúmen, confirmaram que as formas meta e pirofosfato foram muito pouco utilizadas.

PEELER (1972) revisando a literatura classificou as fontes inorgânicas de fósforo, de acordo com a disponibilidade, como segue-se: fosfato de sódio = ácido fosfórico = fosfato monocálcico > fosfato bicálcico > fosfato desfluorado = farinha de ossos > fosfato de rocha com baixo F > fosfato coloidal. Aparentemente a única fonte que apresentou-se como insatisfatória foi o fosfato coloidal.

Não foram observadas diferenças entre o fosfato bicálcico, monocálcico, fosfato de amônio e monosódico, quando o nível do fósforo no plasma de bovinos foi medido (FISHER, 1978). Alguns desses resultados concordam com a revisão feita por PEELER (1972).

AROEIRA *et alii* (1979) indicaram que a farinha de ossos calcinada apresentou maior disponibilidade e absorção de fósforo, seguindo-se de perto pela farinha de ossos autoclavada e fosfato bicálcico. Os parâmetros avaliados foram níveis de fósforo no soro, nos ossos, balanço fosfórico e fosfatase alcalina. LOFGREEN (1960) encontrou também que a disponibilidade verdadeira da farinha de ossos foi

semelhante a do fosfato bicálcico, concordando pois, com os autores acima citados.

FISHWICK (1976), em experimento com carneiros, encontrou que a retenção aparente do fósforo foi maior para o fosfato tricálcico em relação ao bicálcico. Entretanto, mais tarde, o mesmo autor (FISHWICK, 1978) ao comparar fontes de fosfato de magnésio, fosfato tricálcico e bicálcico, observou que a retenção de fósforo foi semelhante.

O fósforo de fertilizantes fosfatados como o supertriplo e fosfatos de amônio é altamente disponível quando comparado ao de fosfatos de sódio, e o uso dessas fontes na suplementação de rações é limitado mais pelo conteúdo de flúor do que pela digestibilidade (REID, 1980).

SAMPAIO & ANDRADE (1984) não observaram diferenças no peso corporal, níveis de cálcio, fósforo e magnésio no plasma e concentração de cálcio e fósforo nos ossos, em novilhos que receberam fosfato bicálcico e fosfato monoamônio. Entretanto, ROSA *et alii* (1986) obtiveram maior solubilidade para o fosfato monoamônio em relação ao bicálcico.

Quanto ao uso de fosfatos de rocha em nutrição animal, apesar de haver uma literatura bastante extensa, ela é pobre em se tratando de bovinos.

Para aves, o emprego do fosfato de rocha como Araxá, Patos de Minas e Tapira, em substituição ao fosfato bicálcico, foi satisfatório e recomendável em uma alimentação econômica (SAKOMURA *et alii*, 1983; CADORIN *et alii*, 1984).

Outros ensaios com aves para determinar a biodisponibilidade do fósforo nos fosfatos de rocha revelaram que são fontes adequadas desse mineral quando comparados com o fosfato desfluorado, bicálcico e farinha de ossos (CABALLERO & GONZALEZ, 1979). Resultados semelhantes foram obtidos por MILLER & PHILLIPS (1953) quando trabalharam com ratos. BELLAVER *et alii* (1983, 1984), em experimentos com suínos, determinaram que a digestibilidade verdadeira dos fosfatos Goiás, Patos, Tapira e da farinha de ossos calcinada foi 37,56; 44,30; 47,80 e 46,34%, respectivamente. Os autores concluíram que tais fontes naturais permitem a sua utilização para balanceamento de rações para suínos.

O fosfato de rocha foi também usado na suplementação de vacas leiteiras em regime de pastagem, levando a um aumento na produção (DAVIDSON *et alii*, 1986).

Recentemente, COUTO (1987) trabalhando com pintos, observou valores de biodisponibilidade relativa de 71,13 e 55,67% para os fosfatos de Patos e Tapira, respectivamente, usando como padrão o fosfato ácido de sódio.

Contrariamente, alguns pesquisadores não recomendam a substituição de fontes de fósforo tradicionais pelos fosfatos naturais. ARAKI (1984) avaliando o ganho de peso, conversão alimentar, mortalidade, nível cálcio e fósforo no sangue, ossos e cinzas em frangos de corte que receberam os fosfatos Patos de Minas ou Tapira, concluíram que estes foram impróprios para o consumo e afetaram o desempenho

das aves.

Provavelmente os efeitos do flúor presente nos fosfatos naturais são limitantes na disponibilidade de fósforo e responsáveis pelo baixo consumo (LOPES, 1983).

Por outro lado, a origem ígnea das rochas fosfáticas brasileiras, com exceção da Rocha Patos de Minas, constitui uma vantagem, em relação àquelas de origem sedimentar, pela reatividade menor, levando à liberação mais lenta do flúor (BELLAVÉR *et alii*, 1984). LOPES (1986) acredita na viabilidade do uso de fosfatos de rocha para a suplementação de animais domésticos.

Pela literatura existente observa-se que, além de existirem poucos trabalhos em que a digestibilidade verdadeira de fontes de fósforo foi determinada, praticamente inexistem pesquisas a esses respeito com as rochas fosfáticas brasileiras.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Local

O presente trabalho foi dividido em duas fases constituídas por ensaios "in vivo" e técnicas "in vitro".

Os animais foram mantidos em gaiolas de metabolismo colocadas no biotério da Seção de Ciências Animais do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Piracicaba, Estado de São Paulo. Os experimentos "in vitro" e as análises foram realizadas nos laboratórios desta Seção, sendo feita a contagem das amostras radioativas na Seção de Radioisótopos do CENA.

#### 3.2. Ensaio "in vivo"

##### 3.2.1. Animais

Foram utilizados vinte e quatro carneiros machos, castrados, com peso médio de 40 kg, divididos em grupos de oito animais cada.

A dieta básica constituiu-se de feno de capim Jaraguã (*Hyparrhenia rufa*), oferecido à vontade e de uma mistura concentrada cuja composição e análise bromatológica são indicadas nas Tabelas III e IV.

Tabela III - Composição da mistura concentrada oferecida aos animais experimentais.

Componentes	
Melaço (ml/dia)	100
Uréia (g/dia)	15
Farinha de mandioca (g/dia)	200
Farelo soja (g/dia)	150
Mistura mineral* (g/dia)	10

\*Em g/d: 0,009 KI, 0,0008 CoSO<sub>4</sub>, 0,03 Cu SO<sub>4</sub>, 1,61 Mg O,  
3,45 Na Cl, 0,32 ZnSO<sub>4</sub>, 0,148 Mn SO<sub>4</sub>, 0,457 Fe SO<sub>4</sub>,  
4,00 S.

Tabela IV - Análise bromatológica do feno e da mistura concentrada (100% da matéria seca).

	Feno	Mistura concentrada
Matéria seca %	94,65	87,89
Proteína bruta %	4,16	29,74
Cinza %	7,31	4,41
Extrato etéreo %	2,23	2,11
Fibra bruta %	38,57	6,87
P %	0,11	0,30

Os tratamentos constituíram-se de quatro fontes de fósforo, misturadas ao concentrado: Fosfato Bicálcico (BIC), Rocha de Patos (PAT), Fosfato Tapira (TAP) e Finos de Tapira (FIN). Esses suplementos forneceram 4 g diárias de fósforo por animal e 9 g de cálcio. A composição dessas fontes é mostrada na Tabela V.

Tabela V - Análise das fontes de fósforo utilizadas no experimento (100% da matéria seca).

	Bicálcico	Patos	Tapira	Finos de Tapira
Matéria seca %	98,20	99,35	87,45	88,33
Matéria min. %	82,19	97,88	98,50	96,95
P %	16,00	10,00	16,20	15,00
Ca %	27,00	34,00	34,70	48,00
F %	0,08	1,20	1,60	1,06

### 3.2.2. Período Pré-experimental

Os animais permaneceram em gaiolas de metabolismo por um período de sete dias para adaptação recebendo capim picado (*Pennisetum purpureum*) e ração. Seguiu-se à pesagem dos mesmos e o fornecimento da dieta experimental durante quatorze dias, quando registrou-se o consumo de alimento e a excreção de fezes.

### 3.2.3. Período Experimental

#### 3.2.3.1. Preparo de Solução Radioativa e Padrão

A solução radioativa utilizada foi produzida pelo Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares de São Paulo (IPEN), constituindo-se de fosfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) livre de carregador. Em dez ml de solução salina estéril (0,85%), adicionou-se quantidade correspondente a 2 mCi de  $^{32}\text{P}$  e foram preparadas seringas descartáveis contendo 1 ml de solução (200  $\mu\text{Ci}$ ).

O conteúdo de uma das seringas foi transferido para balão de 1 litro contendo água destilada, e o volume foi completado. Cem  $\mu\text{l}$  foram transferidos para frasco de contagem com 19 ml de água destilada, e com esse dado fêz-se o cálculo da dose injetada.

#### 3.2.3.2. Aplicação de Fósforo Radioativo e Coletas

Através da jugular direita, injetou-se em cada animal, o volume de uma seringa, que correspondeu a 200  $\mu\text{Ci}$  de  $^{32}\text{P}$ . Amostras de sangue foram coletadas, pela jugular esquerda, com o uso de tubos a vácuo heparinizados, 5 minutos, 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas após a injeção. Coletou-se as fezes a intervalos de 24 horas e um décimo do total diário foi armazenado em congelador. O consumo de alimento e a excreção de fezes foram medidos.



### **3.2.4. Análises**

#### **3.2.4.1. Determinação da Radioatividade no Plasma e nas Fezes**

As amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm em centrífuga Sorvall (modelo-RC2B) por 10 minutos e o plasma separado. Meio ml de plasma foi transferido para frascos de cintilação com 19 ml de água destilada e a radioatividade detectada por efeito Cerenkov. Foram feitas duplicatas de todas as amostras.

As fezes foram maceradas em almofariz, homogenizadas e 1 g colocado em cadinhos de porcelana para a determinação da matéria seca a 100°C e das cinzas a 500°C.

Seguiu-se à digestão das cinzas com 5 ml de ácido sulfúrico (1:1) e o material digerido foi colocado em frascos para a medida da atividade, completando-se o volume para 20 ml com água destilada.

#### **3.2.4.2. Determinação do Teor de Fósforo Inorgânico no Plasma e nas Fezes**

Alíquotas de 1 ml de plasma foram misturadas com 9 ml de ácido tricloroacético a 10%, para precipitação das proteínas. Após 10 minutos o material foi filtrado e o

---

teor de fósforo inorgânico determinado pelo método de FISKE & SUBBAROW (1925).

Amostras de 1 g de fezes foram secas a 100°C e após a determinação das cinzas a 500°C, fêz-se a digestão com 5 ml de ácido clorídrico concentrado. Seguiu-se à filtração das amostras e determinação do fósforo inorgânico por colorimetria. A 2,5 ml do filtrado adicionou-se 2,5 ml de água deionizada e 2 ml de reagente misto composto de iguais quantidades de molibdato de amônio a 5% e vanadato de amônio a 0,25%. Fêz-se a leitura em colorímetro Klett, usando o filtro nº 42 (400 - 450 nm).

#### 3.2.4.3. Análises da Dieta e das Fontes de Fósforo

A análise bromatológica da dieta seguiu as recomendações da AOAC (1980). Para a análise dos fosfatos, preparou-se um extrato a partir da digestão de 1 g do material, com 5 ml de ácido clorídrico concentrado, 30 ml de ácido nítrico e 50 ml de água deionizada, que foi feita em sistema de refluxo. O teor de fósforo inorgânico foi determinado por colorimetria, pelo método com vanadato e molibdato de amônio, e o cálcio medido através de espectrometria de absorção atômica.

Para a medida do nível de flúor dissolveu-se 50 mg de cinzas dos fosfatos em 2 ml de ácido nítrico concentrado e 30 ml de solução de hidróxido de sódio a 2%. Comple-

tou-se o volume para 100 ml com água deionizada e a determinação foi feita empregando-se potenciômetro (Orion, modelo 701A).

### 3.2.5. Cálculos

#### 3.2.5.1. Atividade Específica

A atividade específica no plasma e nas fezes foi calculada como porcentagem da atividade injetada por mg de fósforo:

• Plasma:

$$\% \text{ atividade injetada} = \frac{\text{cpm líquida da amostra}}{\text{cpm padrão}}$$

$$\text{Atividade específica} = \frac{\% \text{ atividade injetada}}{\text{mg fósforo/ml plasma}}$$

onde, cpm líquida amostra = contagens por minutos em 1 ml de plasma;

cpm padrão = contagens por minuto em 100 µl de padrão x 10000.

• Fezes:

$$\% \text{ atividade injetada} = \frac{\text{cpm fezes}}{\text{cpm padrão}}$$

$$\text{atividade específica} = \frac{\% \text{ atividade injetada}}{\text{mg fosforo por g de fezes}}$$

onde, cpm fezes = contagens por minuto em 1 g de fezes.

Com os dados das atividades específicas no plasma determinou-se a curva de desaparecimento do  $^{32}\text{P}$  e calculou-se a meia-vida biológica, representada por  $T_{1/2}$  (Apêndice).

### 3.2.5.2. Perda Endôgena Fecal, Absorção líquida de Fósforo e Disponibilidade Biológica

Os cálculos foram baseados nos trabalhos de LOFGREEN & KLEIBER (1953):

- a perda endôgena fecal diária foi determinada através das atividades específicas nas fezes e no plasma, e pelo cálculo do fósforo total excretado:

$$\% \text{ de fósforo endógeno fecal} = \frac{\text{atividade específica fezes}}{\text{atividade específica plasma}} \times 100$$

$$P \text{ total excretado (g/dia)} = \text{volume das fezes} \times \% \text{ fósforo nas fezes}$$

Conhecendo-se a quantidade de fósforo consumido e a excreção líquida do elemento, determinou-se a absorção real ou líquida:

$$\text{Quantidade diária de P endógeno fecal} = \frac{\text{ativ. esp. fezes}}{\text{ativ. esp. plasma}} \times P \text{ total excretado (g)/dia}$$

$$\text{Absorção líquida de P (g)} = \text{quant. de P consumido} - (\text{P excretado nas fezes} - \text{P endógeno nas fezes})$$

A disponibilidade biológica foi então determinada:

$$\% \text{ de disponibilidade biológica} = \frac{\text{absorção líquida} \times 100}{\text{quantidade de P consumido}}$$

### **3.2.6. Delineamento Experimental e Análises Estatísticas**

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, considerando-se 3 blocos, 4 tratamentos e 2 repetições por tratamento dentro de cada bloco.

Os dados foram submetidos à análise da variância e o teste F foi aplicado para verificar a significância dos quadrados médios das fontes de variação. Utilizou-se o teste de Tukey para comparação das médias das diversas determinações e estudou-se ainda as correlações entre os parâmetros testados.

### **3.3. Experimentos "in vitro"**

#### **3.3.1. Incubações**

A metodologia empregada nas incubações foi baseada nos trabalhos de VAN NEVEL & DEMEYER (1977) e de DURAND *et alii* (1983).

O conteúdo de rúmen utilizado como inóculo nos testes foi coletado de um bovino fistulado que recebeu por 4 semanas dieta com baixo teor em fósforo para a obtenção de resposta mais rápida pelos microorganismos do rúmen.

Coletou-se cerca de 500 ml de líquido do rúmen e após filtração em gase, o material foi distribuído em erlenmeyers (16 ml/frasco) e uma parte separada para a deter

minação do fósforo inorgânico. Adicionou-se a cada frasco 4 ml de solução de bicarbonato de sódio (3 g/l) e 0,1 g de glucose (D - glucose monohidrato). As diversas fontes de fósforo foram colocadas para atingir 300 µg de fósforo por ml de meio de incubação: 0,03 g de fosfato bicálcico, 0,06 g de fosfato de Patos, 0,037 g de Tapira e 0,04 g de fosfato Finos de Tapira.

A cada frasco de incubação acrescentou-se 25 µl de solução contendo 0,1 µCi de  $^{32}\text{P}$  ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ). Os erlenmeyers permaneceram durante 4 horas em incubadora com fluxo de  $\text{CO}_2$  de 0,3 l/min., mantendo-se a temperatura de 38°C.

Após a incubação os frascos foram mergulhados em cuba com água e gelo e 1 ml de ácido sulfúrico 5N foi adicionado para interromper a fermentação.

O conteúdo dos erlenmeyers foi centrifugado a 12.000 rpm, a 5°C por 10 minutos, e o sobrenadante retirado. Colocou-se alíquotas de 1 ml em frascos de cintilação com 19 ml de água destilada para a detecção da radioatividade.

O precipitado foi lavado duas vezes com 10 ml de solução salina 0,85%, com a finalidade de retirar os resíduos e a radioatividade extracelular. O pellet resultante foi transferido para cadinhos e seco a 100°C. Fêz-se a digestão das cinzas com 5 ml de ácido sulfúrico 1:1 e transferiu-se o extrato para frascos de cintilação para a contagem.

O teor de fósforo inorgânico no meio foi de-

terminado pelo método de FISKE & SUBARROW (1925), sendo que antes da determinação, o líquido do rúmen foi diluído 1 : 20 com água deionizada.

### 3.3.2. Cálculos

O método para medida da incorporação de  $^{32}\text{P}$  pelos microorganismos envolve a determinação das atividades específicas das células e do meio (VAN NEVEL & DEMEYER, 1977):

$$\text{Atividade específica das células} = \frac{\text{cpm incorporado}}{\text{mg de P incorporado}}$$

$$\text{Atividade específica do meio} = \frac{\text{cpm meio}}{\text{mg de P do meio}}$$

onde,

cpm incorporado = contagens por minutos nas células;

P incorporado = quantidade de fósforo incorporado pelos microorganismos;

cpm meio = contagens por minuto no meio;

P meio = teor de fósforo no meio (mg/ml).

Assumindo-se que durante a incubação há um equilíbrio entre a atividade específica do meio e a da fração representada pelos microorganismos, tem-se:

Atividade específica das células = atividade específica do meio

---

$$\frac{\text{cpm inc.}}{\text{mg P inc.}} = \frac{\text{cpm meio}}{\text{mg P meio}} \longrightarrow \text{mg P inc.} = \frac{\text{cpm inc.}}{\text{cpm meio}} \times \text{mg P meio}$$

### 3.3.3. Delineamento Experimental e Análise Estatística

O experimento foi repetido três vezes, sendo utilizados 4 frascos por tratamento, totalizando 16 frascos por experimento. Para a análise estatística considerou-se cada experimento como um bloco, com 4 tratamentos e 4 repetições por tratamento.



#### 4. RESULTADOS

##### 4.1. Ensaio "in vivo"

As atividades específicas médias no plasma e nas fezes para tratamentos BIC, PAT, TAP e FIN são ilustradas nas Figuras 1, 2, 3 e 4. Observou-se que a atividade específica no plasma para os animais que receberam BIC decresceu mais rapidamente que para os demais tratamentos, o que é verificado através dos valores de  $T_{1/2}$  (meia-vida biológica do fósforo-32 no plasma), que foram 57,27; 91,18; 84,51 e 92,40 horas, respectivamente para BIC, PAT, TAP e FIN.

A máxima atividade específica nas fezes foi obtida 24 horas em relação àquela do plasma para o BIC, TAP e FIN. Para o PAT observou-se um valor ligeiramente maior após 48 horas.

Mesmo assim, nos cálculos da fração endógena utilizou-se o intervalo de 24 horas, comparando-se as médias da atividade específica das fezes dos dias 6 a 8 com as do plasma dos dias 5 a 7.

Os valores da ingestão, absorção e excreção do fósforo para os quatro tratamentos são indicados na Tabela VI.

Esses dados serão detalhados separadamente a seguir.

---

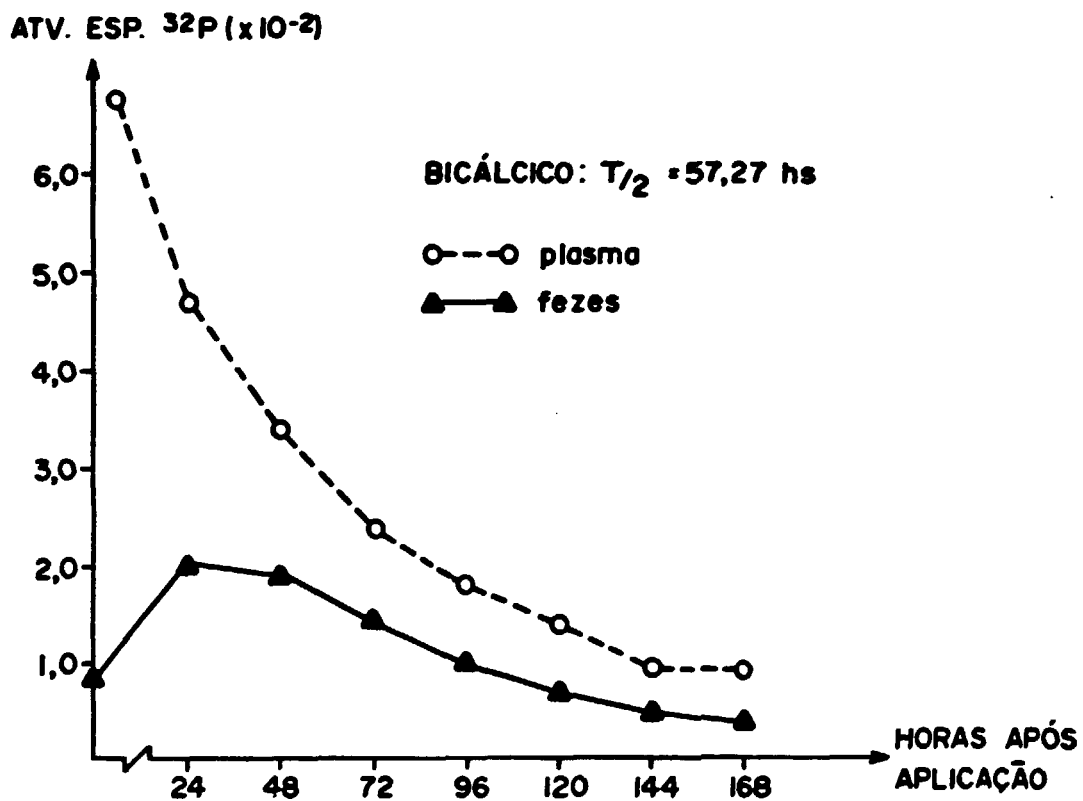


Figura 1 - Atividades específicas médias no plasma e nas fezes para os animais que receberam fosfato bicálcico.

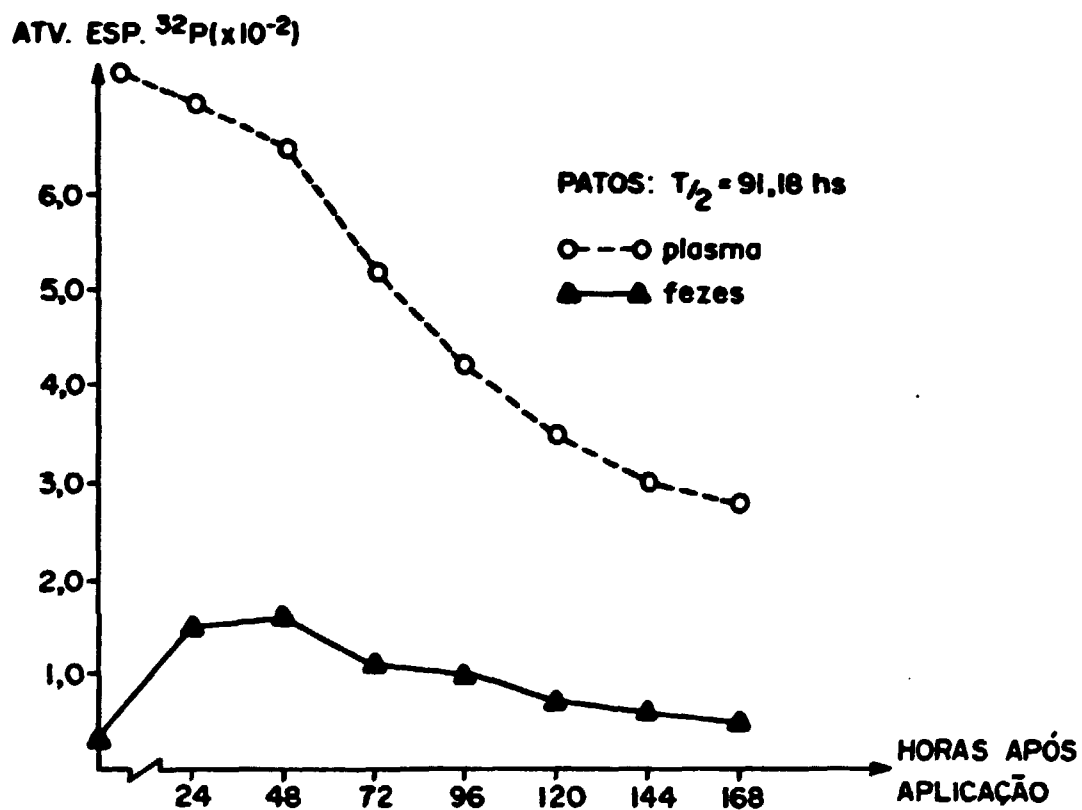


Figura 2 - Atividades específicas médias no plasma e nas fezes para os animais que receberam o fosfato Patos de Minas.

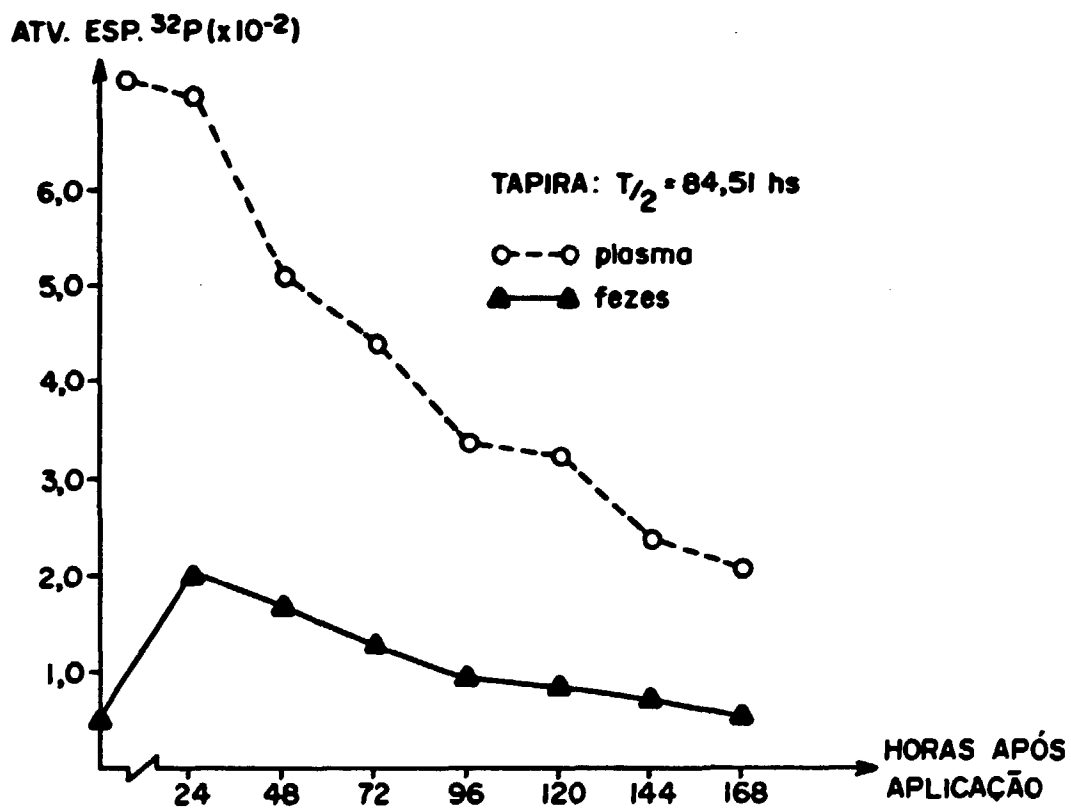


Figura 3 - Atividades específicas médias no plasma e nas fezes para os animais que receberam o fosfato Tapiira.

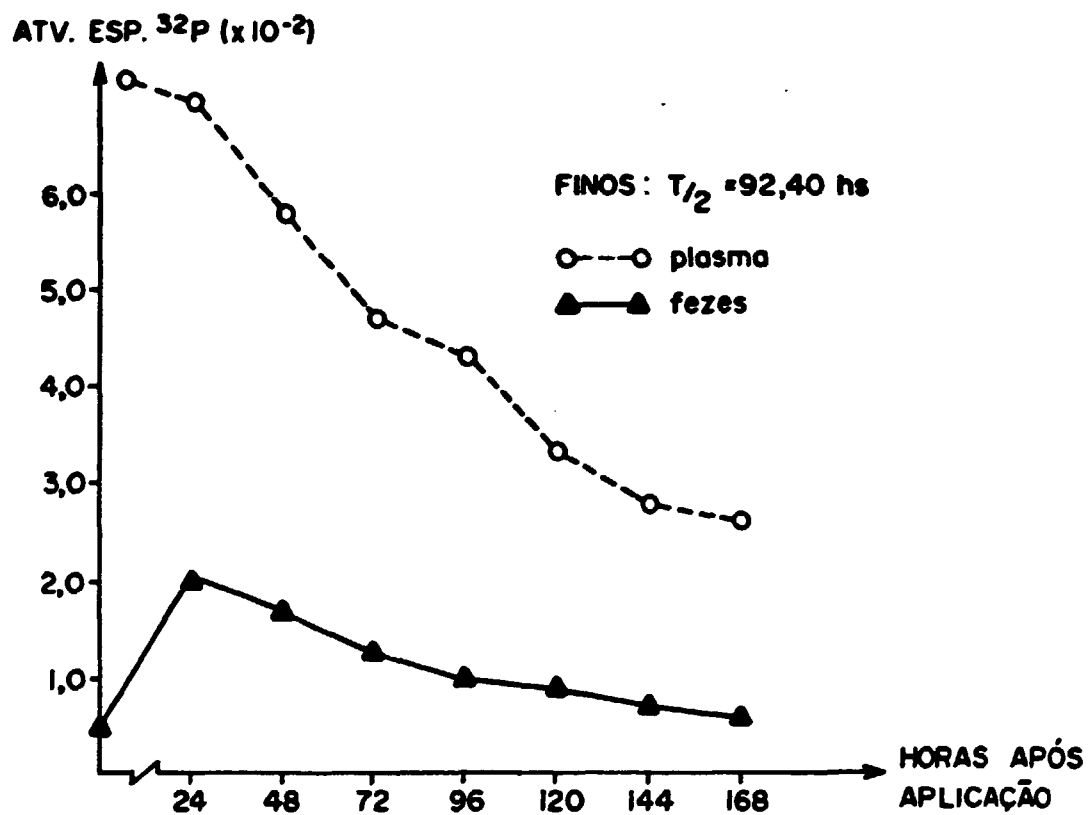


Figura 4 - Atividades específicas médias no plasma e nas fezes para os animais que receberam o fosfato Finos de Tapira.

Tabela VI - Valores de ingestão, absorção e excreção de fósforo em carneiros com diferentes fontes desse elemento na dieta.

Tratamento	Fósforo consumido (g/dia)	Fósforo total excretado (g/dia)	Fósforo no plasma (mg/100 ml)	% de Fósforo endógeno fecal	Absorção verdadeira (%)	Absorção aparente (%)
Bicálcico	6,04	4,68	4,47	40,17	53,64	22,52
	6,37	3,91	6,89	45,98	66,88	38,62
	6,14	5,27	7,40	55,56	61,89	14,17
	6,24	3,56	8,13	42,86	67,46	42,95
	6,20	4,66	8,56	32,26	49,03	24,84
	6,17	4,72	9,52	40,82	54,62	23,50
Patos	6,13	3,99	7,02	21,98	49,26	34,91
	6,13	3,28	9,98	26,42	60,68	46,49
	6,15	4,40	6,89	22,53	44,71	28,46
	6,10	4,26	5,49	13,25	39,34	30,16
	6,09	4,76	6,97	11,18	30,54	21,84
	5,99	4,54	7,78	10,14	31,85	24,21
Tapira	6,46	2,07	6,53	32,26	71,67	67,96
	6,57	3,60	6,54	20,00	56,16	42,21
	6,45	4,81	7,02	18,00	38,91	25,42
	6,53	4,79	6,35	16,88	39,05	26,64
	6,28	3,85	7,58	15,71	48,25	38,69
	6,48	5,22	7,62	17,95	33,95	19,44
Finos	5,73	2,24	7,24	40,38	76,61	60,90
	5,54	3,09	5,62	10,14	49,82	44,22
	5,66	3,83	7,37	25,00	49,29	32,33
	5,60	3,33	5,74	26,00	54,56	40,54
	5,53	3,84	6,44	10,39	37,76	30,56
	5,54	4,00	8,38	13,04	37,00	27,80

#### 4.1.1. Ingestão de Fósforo

Os dados da ingestão de fósforo foram calculados baseando-se na quantidade desse elemento consumido diariamente no feno, concentrado e na fonte suplementar de fósforo.

Os resultados médios da ingestão diária de feno foram  $1090 \pm 30,38$ ;  $1025 \pm 40,87$ ;  $1297 \pm 36,16$  e  $1010 \pm 40,68$  g, para BIC, PAT, TAP e FIN, respectivamente.

Os valores do fósforo consumido obtidos para BIC, PAT, TAP e FIN foram  $6,19 \pm 0,11$ ;  $6,09 \pm 0,06$ ;  $6,46 \pm 0,10$ ;  $5,62 \pm 0,090$  g/dia, respectivamente. O coeficiente de variação foi 1,6%.

Pela análise da variância (Tabela VII) verificou-se que houve efeito de tratamento ao nível de 1% de probabilidade, não ocorrendo diferenças entre os blocos. Aplicando-se teste de Tukey, observou-se que o consumo foi menor para o FIN. Não houve diferenças entre BIC e PAT, sendo que a ingestão de fósforo foi superior para o TAP.

#### 4.1.2. Excreção de Fósforo

Os valores médios do fósforo total excretado nas fezes foram  $4,47 \pm 0,62$ ;  $4,21 \pm 0,52$ ;  $4,16 \pm 0,94$ ;  $3,39 \pm 0,66$  g/dia, respectivamente para os animais que receberam BIC, PAT, TAP e FIN. O coeficiente de variação foi 14,04%.

A análise da variância (Tabela VIII) mostrou

---

Tabela VII - Análise da variância da quantidade de fósforo ingerido (g/dia) por ovinos que receberam na dieta os fosfatos bicálcico (BIC), Patos (PAT), Tapira (TAP) e Finos de Tapira (FIN).

Causas da variação	GL	QM	Valor F
Bloco	2	0,0198	2,0823
Tratamento	3	0,7458	78,2956**
Bloco X Tratamento	6	0,0023	0,2391
Resíduo	12	0,0095	
<b>TOTAL</b>	<b>23</b>		

Teste de Tukey

Fonte	Nº de Repetições	Médias	5%	1%
TAP	6	6,4617	a	A
BIC	6	6,1933	b	B
PAT	6	6,0983	b	B
FIN	6	5,6167	c	C



que ao nível de 5% de probabilidade houve efeito de tratamentos, sendo que pelo teste de Tukey o BIC apresentou valor superior ao FIN. Para os fosfatos TAP e PAT não houve diferenças quanto à excreção de fósforo. Ao nível de 1% não se observou significância estatística.

Tabela VIII - Análise da variância da quantidade total de fósforo excretado nas fezes (g/dia) por ovinos nos tratamentos com BIC, PAT, TAP e FIN.

Causas da variação	GL	QM	Valor F
Bloco	2	2,3563	7,2706
Tratamento	3	1,2956	3,9976*
Bloco X Tratamento	6	0,2257	0,6965
Resíduo	12	0,3241	
TOTAL	23		

#### Teste de Tukey

Fonte	Nº de Repetições	Médias	5%	1%
BIC	6	4,4667	a	A
PAT	6	4,2050	ab	A
TAP	6	4,1617	ab	A
FIN	6	3,3883	b	A

#### 4.1.3. Fósforo Endógeno Fecal

Os valores médios da porcentagem de fósforo endógeno fecal foram  $42,94 \pm 7,68$ ;  $20,84 \pm 11,93$ ;  $20,13 \pm 6,11$  e  $17,58 \pm 6,89$  para o BIC, FIN, TAP e PAT, respectivamente. Esses

resultados expressos em mg por kg de peso foram 48,12; 19,16; 21,03 e 17,18 respectivamente para o BIC, PAT, TAP e FIN. Ao nível de 1% houve efeitos de tratamento (Tabela IX) e o teste de Tukey indicou que o BIC foi superior dos demais tratamentos. O coeficiente de variação foi alto (30,68%).

Tabela IX - Análise da variância da porcentagem de fósforo endógeno fecal para carneiros que receberam na dieta os fosfatos BIC, PAT, TAP e FIN.

Causas da variação	GL	QM	Valor F
Bloco	2	257,9146	4,2558*
Tratamento	3	834,6781	13,7728**
Bloco X Tratamento	6	31,0298	0,5129
Resíduo	12	60,6034	
<b>TOTAL</b>	<b>23</b>		

#### Teste de Tukey

Fonte	Nº de Repetições	Médias	5%	1%
BIC	6	42,9417	a	A
FIN	6	20,8400	b	B
TAP	6	20,1333	b	B
PAT	6	17,5833	b	B

#### 4.1.4. Teor de Fósforo no Plasma

As médias do teor de fósforo no plasma para os tratamentos BIC, PAT, TAP e FIN foram  $7,50 \pm 1,74$ :

7,36 ± 1,49; 6,94 ± 1,06 e 6,80 ± 1,06 mg/100 ml, respectivamente.

Pela análise da variância (Tabela X), não se verificou efeito de tratamentos. O coeficiente de variação foi 15,46%.

**Tabela X - Análise da variância dos níveis de fósforo no plasma (mg/100 ml) em ovinos mantidos nos tratamentos com fosfato BIC, PAT, TAP e FIN.**

Causas da variação	GL	QM	Valor F
Bloco	2	3,0178	2,5698
Tratamento	3	0,6576	0,5600
Bloco X Tratamento	6	2,2129	1,8844
Resíduo	12	1,1743	
<b>TOTAL</b>	<b>23</b>		

**Teste de Tukey**

Fonte	Nº de repetições	Médias	St	St
BIC	6	7,4950	a	A
PAT	6	7,3550	a	A
TAP	6	6,9400	a	A
FIN	6	6,7983	a	A

#### 4.1.5. Absorção Verdadeira do Fósforo

A absorção verdadeira do fósforo ou disponibilidade biológica foi de  $58,92 \pm 7,61$ ;  $50,85 \pm 14,44$ ;  $47,99 \pm 14,05$  e  $42,74 \pm 11,34\%$  para o BIC, FIN, TAP e PAT, respectivamente.

Fela análise da variância, verificou-se que houve efeito de tratamento ao nível de 5% de probabilidade, não ocorrendo diferenças significativas a 1% (Tabela XI). O coeficiente de variação foi 16,24%.

Aplicando-se o teste de Tukey, observou-se que o fosfato bicálcico foi superior ao PAT. Entre o FIN, TAP e BIC não houve diferenças significativas.

Considerando o fosfato bicálcico como padrão e atribuindo um valor de 100% para a disponibilidade biológica pode-se determinar a disponibilidade relativa das demais fontes. Assim, obteve-se valores de 86,29; 81,45 e 72,54% respectivamente para FIN, TAP e PAT.

Os resultados médios da absorção aparente, quando não se levou em conta a fração endógena fecal, foram  $27,77 \pm 10,84$ ;  $31,01 \pm 8,86$ ;  $36,73 \pm 17,54$  e  $39,39 \pm 12,24\%$  para BIC, PAT, TAP e FIN, respectivamente.

Tabela XI - Análise da variância da absorção verdadeira do fósforo (%) dos fosfatos BIC, PAT, TAP e FIN.

Causas da variação	GL	QM	Valor F
Bloco	2	819,7288	12,3747*
Tratamento	3	273,9617	4,1358*
Bloco X Tratamento	6	88,5930	1,3374
Resíduo	12	66,2422	
<b>TOTAL</b>	<b>23</b>		

#### Teste de Tukey

Fonte	Nº de repetições	Médias	5%	1%
BIC	6	58,9199	a	A
FIN	6	50,8450	ab	A
TAP	6	47,9983	ab	A
PAT	6	42,7367	b	A

#### 4.1.6. Correlações

A Tabela XII mostra as correlações entre os vários parâmetros estudados. Observou-se que houve uma alta correlação negativa entre o fósforo total excretado e a disponibilidade biológica ( $r = -0,63$ ) e uma correlação positiva entre % fósforo endógeno e a disponibilidade biológica ( $r = 0,78$ ).

Verificou-se uma baixa correlação entre o fósforo consumido e excretado ( $r = 0,34$ ), o fósforo consumido e

o fósforo endógeno fecal ( $r = 0,25$ ) e o fósforo total excretado e o fósforo endógeno fecal ( $r = 0,38$ ).

Tabela XII - Correlação entre os resultados do fósforo consumido, fósforo total excretado, fósforo endógeno fecal, teor do fósforo no plasma e disponibilidade biológica.

	Fósforo consumido	Fósforo total excretado	% Fósforo endógeno fecal	Teor de fósforo no plasma	Disponibilidade biológica
Fósforo consumido	1	0,34	0,25	0,10	0,09
Fósforo total excretado		1	0,38	0,06	-0,63
% Fósforo endógeno fecal			1	0,16	0,78
Teor de fósforo no plasma				1	0,08
Disponibilidade biológica					1

Não houve correlações entre os demais parâmetros estudados.

#### 4.2. Experimentos "in vitro"

Os valores médios do fósforo incorporado pelos microorganismos são indicados na Tabela XIII. Pela análise da variância (Tabela XIV) verificou-se que os dados apresentaram diferenças significativas nos diversos tratamentos, ao nível de 1% de probabilidade e o teste de Tukey indicou que houve maior incorporação para PAT e BIC. O coeficiente de variação foi 10,94%.

Tabela XIII - Valores médios de incorporação de  $^{32}\text{P}$  pelos microorganismos do rúmen (mg) para os fosfatos BIC, PAT, TAP e FIN.

Bloco	BIC	PAT	TAP	FIN
1	0,107 ± 0,006*	0,095 ± 0,004	0,097 ± 0,012	0,091 ± 0,012
2	0,125 ± 0,012	0,140 ± 0,006	0,114 ± 0,020	0,106 ± 0,017
3	0,150 ± 0,020	0,178 ± 0,028	0,178 ± 0,028	0,128 ± 0,013

\*Média de 4 repetições.

Tabela XIV - Análise da variância do fósforo incorporado pelos microorganismos do rúmen (mg).

Causas da variação	GL	QM	Valor F
Bloco	2	0,0087	47,8987*
Tratamento	3	0,0015	8,3179*
Bloco X Tratamento	6	0,0008	4,6514
Resíduo	36	0,0002	
<b>TOTAL</b>	<b>47</b>		

Teste de Tukey

Fonte	Nº de Repetições	Médias	5%	1%
PAT	12	0,137	a	A
BIC	12	0,128	ab	AB
TAP	12	0,116	bc	B
FIN	12	0,113	c	B



## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Ensaios "in vivo"

Os dados da atividade específica no plasma e os valores de T 1/2 indicam que existe uma diferença no metabolismo do fósforo do fosfato bicálcico, mais rapidamente distribuído aos tecidos. Esse fato pode estar relacionado principalmente à forma química em que o mineral encontra-se no suplemento (PEELER, 1972; MCGILLIVRAY, 1978).

Com referência à atividade específica das fezes, o pico máximo em 24 horas também foi observado por LOFGREEN & KLEIBER (1953). Esse resultado evidencia a precisão da técnica e indica que o fósforo de origem endógena, secretado no trato gastrointestinal, apareceu nas fezes 24 horas mais tarde.

As diferenças que ocorreram no consumo de fósforo devem-se às variações na quantidade desse elemento ingerido através do feno e do concentrado. Embora para os animais que receberam TAP, a ingestão de feno tenha sido maior, torna-se difícil prever um efeito dos tratamentos no consumo devido ao curto período experimental.

Com relação ao fósforo total excretado, as diferenças entre os tratamentos foram mínimas. Para o FIN, os valores observados foram mais baixos, podendo ser consequência do menor consumo de fósforo (BARROW & LAMBOURNE, 1962;

---

COHEN, 1974; FIELD & KAMPHUES, 1983). Entretanto, discordando dessa afirmativa, a correlação entre o fósforo consumido e excretado foi baixa ( $r = 0,34$ ).

O resultado da excreção de fósforo fecal mostra ainda que a eliminação desse elemento é, na sua maioria, através das fezes (BARROW & LAMBOURNE, 1962).

Os valores do fósforo no plasma estão dentro daqueles limites considerados normais, que variam de 4 a 9 mg por 100 ml (THOMPSON, 1978), e indicam que os tratamentos foram adequados para manter níveis satisfatórios do elemento no sangue.

Usando o nível de fósforo plasmático como critério de avaliação da fonte desse mineral (AMMERMAN *et alii*, 1957; WISE *et alii*, 1961; ARRINGTON *et alii*, 1962; FISHER, 1978), sugere-se que os fosfatos testados no presente trabalho foram igualmente utilizados.

A porcentagem do fósforo endógeno fecal para o BIC foi aproximadamente o dobro em relação aos demais tratamentos. Comparando-se a perda média diária endógena para o BIC (48,12 mg/kg PV) com os dados da literatura encontrados para ovinos, verifica-se que está dentro dos níveis citados, que variam de 17,9 a 60,5 mg/kg de peso vivo (BRAITHWAITE, 1981; GEORGIEVSKII, 1982; BOXEBELD *et alii*, 1983; FIELD *et alii*, 1985). Para as fontes de fosfatos de rocha, os níveis são bem mais baixos, sendo comparáveis com a fração endógena observada em carneiros com dietas deficientes em fósforo

(BOXEBELD *et alii*, 1983).

A maior quantidade de fósforo de origem metabólica, para o BIC, sugere maior absorção, o que está de acordo com vários autores (BRAITHWAITE, 1984; SCOTT *et alii*, 1985). No presente estudo a alta correlação entre o fósforo endógeno e a disponibilidade biológica ( $r = 0,78$ ) e os dados da absorção real confirmam essa observação.

O alto coeficiente de variação na porcentagem de fósforo de origem metabólica possivelmente foi relacionado a fatores inerentes de cada animal (McDONALD *et alii*, 1975).

Ainda com relação à fração endógena é importante considerar que se esse fator não entrar no cálculo da absorção, será feita uma subestimativa do aproveitamento de fósforo. Esse fato é evidenciado quando a absorção aparente foi determinada.

Os dados da disponibilidade biológica para o BIC (58,92%) estão de acordo com vários autores (LOFGREEN, 1960; O'DONOVAN *et alii*, 1965; ARRINGTON *et alii*, 1963; LONG *et alii*, 1956) que indicam valores entre 50 e 70%. Deve-se ressaltar que esses pesquisadores utilizaram diversas técnicas. LOFGREEN (1960) determinou que a absorção verdadeira do fosfato bicálcico foi 50%, resultado que está muito próximo daquele obtido no presente experimento, utilizando técnica semelhante.

Observa-se para os fosfatos TAP, PAT e FIN valores elevados de absorção real em relação ao BIC. Pelo tes-

---

te de médias, ao nível de 5%, o BIC foi mais disponível que o PAT. Entretanto, considerando-se que ao nível de 1% não houve diferenças, pode-se dizer que os fosfatos testados foram igualmente utilizados. Pelos dados de disponibilidade relativa verifica-se os altos valores para os fosfatos de rocha.

No presente experimento, os resultados da absorção real para o PAT e TAP (42,74 e 47,99%) são bastante semelhantes aos obtidos por BELLAVAR *et alii* (1984).

Já os resultados de disponibilidade relativa mencionados por COUTO (1987) foram próximos para o PAT (71,13%), mas apresentaram-se sensivelmente inferiores em relação ao TAP (55,67%). Os dados obtidos nesse trabalho foram 72,54 e 81,45%, respectivamente para o PAT e TAP.

Os valores de disponibilidade obtidos no presente trabalho permitem dizer que o uso das fontes TAP, PAT e FIN, como suplementos de fósforo em dieta para ruminantes é satisfatório, o que concorda com a literatura (MILLER & PHILLIPS, 1953; CABALLERO & GONZALES, 1979; CADORIN *et alii*, 1984; DAVISON *et alii*, 1986).

## 5.2. Experimentos "in vitro"

Os resultados da incorporação de fósforo pelos microorganismos mostraram uma boa repetibilidade (CV = 10,94%) entre os frascos de incubação e pequenas diferenças para ex

---

perimentos, o que se deve às variações normais da microflora do rúmen durante os períodos de coletas.

Considerando o significado do teste de incorporação de fósforo proposto originalmente por VAN NEVEL & DEMEYER (1973) e mais tarde por outros autores (VAN NEVEL *et alii*, 1976; VAN NEVEL & DEMEYER, 1977; DURAND *et alii*, 1983) como medida do crescimento celular, pode-se dizer que para as fontes PAT e BIC, o desenvolvimento dos microorganismos foi maior, indicando melhor utilização do fósforo.

A necessidade desse elemento para o desenvolvimento e manutenção da microflora do rúmen foi enfatizada por vários pesquisadores (DURAND & KUNASHIMA, 1980; DURAND *et alii*, 1983) e ficou demonstrado que a adição de fósforo ao meio de incubação estimulou a atividade celulolítica dos microorganismos (HALL *et alii*, 1961).

Pelos resultados obtidos "in vitro", a disponibilidade das fontes segue a seguinte ordem: PAT = BIC > TAP = FIN. Já os dados "in vivo" indicam a sequência: BIC = FIN = TAP > PAT.

Ocorre, portanto certa discordância quando se compara esses dados. Como já recomendado por outros pesquisadores (PEELER, 1972; VAN NEVEL *et alii*, 1976; VAN NEVEL & DEMEYER, 1977; DURAND *et alii*, 1983), deve-se ter cautela ao fazer a extrapolação de dados obtidos em sistema "in vitro" para o animal.

## 6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesse trabalho permitiram concluir que:

- os fosfatos bicálcico, Patos, Tapira e Finos de Tapira foram adequados em manter níveis satisfatórios de fósforo no plasma de ovinos;

- o fosfato bicálcico, distribuído mais rapidamente aos tecidos, indicou uma diferença no metabolismo em relação aos fosfatos de rocha;

- os valores de absorção real do fósforo nos fosfatos bicálcico, Finos, Tapira e Patos foram 58,92; 50,85; 47,99 e 42,74%, respectivamente;

- os fosfatos de rocha testados apresentaram elevada disponibilidade biológica relativa quando o padrão utilizado foi o bicálcico, seguindo-se a ordem: BIC = FIN = TAP > PAT;

- os dados de disponibilidade "in vitro" apresentaram alguma discordância em relação dos obtidos "in vivo", mostrando a sequência: PAT = BIC > TAP = FIN;

- os fosfatos de rocha Tapira, Finos de Tapira e Patos podem ter valor como suplemento de fósforo em dietas para ruminantes, baseando-se nos valores de disponibilidade biológica;

- mais pesquisas devem ser feitas para avaliar os fosfatos de rocha em termos de eficiência de produção e verificar possíveis efeitos tóxicos do flúor.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMMERMAN, C.B.; FORBÉS, R.M.; GARRIGUS, V.S.; NEWMAN, A.L.;  
NORTON, H.W.; HATFIELD, E.E. Ruminant utilization of  
inorganic phosphates. *J. Anim. Sci.* Champaign,  
16(4):796-810, 1957.
- ANNENKOV, B.N. Kinetics of mineral metabolism in organs and  
tissues. In: GEORGIEVSKII, V.I.; ANNENKOV, B.N.; SAMOKHIN,  
V.I., *Mineral Nutrition of Animals*, London, Butterworths,  
1982, cap. 10, p.257.
- ARAKI, S. *Viabilidade do uso de fosfato de Patos de Minas em  
substituição ao fosfato dicálcico em rações para frangos  
de corte*. Belo Horizonte, 1984. (Tese de Mestrado, Escola  
Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais).
- AROEIRA, L.J.M.; MOREIRA, H.A.; RODRIGUEZ, N.M.; SAMPAIO, I.  
B.M.; MARTINS, M. Utilização do fósforo de três diferentes  
suplementos por ruminantes. *Arq. Esc. Vet. UFMG*, Belo  
Horizonte, 31(2):245-53, 1979.
- ARRINGTON, L.R.; AMMERMAN, C.C.; YARD, D.; SHIRLEY, R.L.;  
DAVIS, G.K. Measurement of phosphorus availability for  
calves. *J. Anim. Sci.*, Champaign, 21(4):987, 1962.



ARRINGTON, L.R.; OUTLER, J.C.; AMMERMAN, C.B.; DAVIS, G.K.

Absorption, retention and tissue deposition of labelled inorganic phosphates by cattle. *J. Anim. Sci.* Champaign, 22(4):940-2, 1965.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. *Official methods of the analysis of the association of Official Analytical Chemists*, 13 ed., Washington, 1980. 1018p.

BAILEY, C.B. & BALCH, C.C. Salivary secretion and its relation to feeding in cattle. 2. The composition and rate of secretion of parotid saliva in a small steer. *Br. J. Nutr.* London, 15:371-82, 1961.

BARNETT, A.J.G. & REID, R.L. The minerals involved in rumen function. In: BARNETT, A.J. & REID, R.L. *Reactions in the rumen*. London, Edward Arnold, 1961. Cap. 7, p.170-207.

BARROW, N.J. & LAMBOURNE, L.J. Partition of excreted nitrogen, sulphur and phosphorus between the faeces and urine of sheep being fed pasture. *Aust. J. Agric. Res.*, Melbourne, 13:461-71, 1962.

BELL, R.N. The nomenclature and manufacture of phosphates. In: DEMAN, J.M. & MELNYCHYN, P. *Symposium: Phosphates in food processing*. Westport, AVI, 1971. p.24-37.

BELLAVER, C.; GOMES, P.C.; SANTOS, D.L. Absorção e disponibilidade de fósforo para suínos, baseada na diluição de radiofósforo ( $^{32}\text{P}$ ). *Esq. Agr. Brasília*, Brasília, 16(9):1055-7. 1985.

BELLAVER, C.; GOMES, P.C.; FIALHO, E.T.; SANTOS, D.L. Absorção e disponibilidade do fósforo de fosfatos naturais em rações para suínos. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, 19(12):1513-8, 1984.

BOXEBELD, A.; GUEGUEN, L.; HANNEQUART, G.; DURAND, M. Utilization of phosphorus and calcium and minimal maintenance requirement for phosphorus in growing sheep fed a low-phosphorus diet. *Reprod. Nutr. Develop.*, Jouy-en-Josas, 23:1043-53, 1983.

BRAITHWAITE, G.D. Effect of  $1\alpha$ -hydroxycholecalciferol on calcium and phosphorus metabolism in sheep given high or low calcium diets. *J. Agric. Sci.*, Cambridge, 96(2):291-9, 1981.

BRAITHWAITE, G.D. Some observations of phosphorus homeostasis and requirements of sheep. *J. Agric. Sci.*, Cambridge, 102(2):295-306, 1984.

CABALLERO, E.F. & GONZALEZ, E.A. Disponibilidad biológica de várias fuentes de fósforo inorganico para el pollo. *Vet. Méx.*, México, 10(2):111-4, 1979.

CADORIN, R.L.; ARIKI, J.; BUTOLO, J.E.; SAKOMURA, N.D.; JUNQUEIRA, O.M. Fosfato de Patos de Minas como fonte parcial de fósforo em rações de frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 21. Belo Horizonte, 1984. *Anais.* Belo Horizonte, SBZ, 1984. p.253.

- CHICCO, C.F.; AMMERMAN, C.B.; MORE, J.E.; Van WALLEGUEM, P.A.;  
ARRINGTON, L.R.; SHIRLEY, R.L. Utilization of inorganic  
ortho-meta and pyrophosphates by lambs and by cellulolytic  
rumen microorganisms "in vitro". *J. Anim. Sci.*, Champaign,  
24(2):355-63, 1965.
- CHURCH, D.C. Vitamins and minerals in rumen fermentation.  
In: CHURCH, D.C. *Digestive physiology and nutrition of  
ruminants*. Portland Oregon Metropolitan Co., 1975. V.1,  
cap.15, p.266-79.
- CHURCH, D.C.; SMITH, G.E.; FONTENOT, J.P.; RALSTON, A.T. The  
macro (major) minerals. In: CHURCH, D.C.; SMITH, G.R.;  
FONTENOT, J.P.; RALSTON, A.T. *Digestive physiology and  
Nutrition of Ruminants: nutrition*, Corvallis, O. & B.  
Books, 1971. v.2, Cap.19, p.413-51.
- COHEN, R.D.H. Phosphorus nutrition of beef cattle. 4. The  
use of faecal and blood phosphorus for the estimation of  
phosphorus intake. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*,  
Melbourne, 14(71):709-14, 1974.
- COHEN, R.D.H. Phosphorus in rangeland ruminant nutrition: a review.  
*Livest Prod. Sci.*, Amsterdam, 7(1):25-32, 1980.
- COUTO, O.B. *Biodisponibilidade do fósforo em concentrados de rochas  
fosfáticas e fluorose em animais de laboratório*. Belo Horizonte,  
1987. (Tese de Mestrado, Escola de Veterinária/UFMG).

DAVISON, T.M.; ISLES, D.H.; MCGUICAN, K.R. The effect of dietary supplementation with molasses and Christmas Island phosphate on milk yield of cows grazing tropical pastures. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, Melbourne, 16(2):179-82. 1986.

DAYRELL, M.S.; LOPES, H.O.S.; SAMPAIO, I.B.M.; DOBEREINER, J. Fatores a serem considerados na interpretação de valores analíticos de fósforo inorgânico no soro sanguíneo de bovinos. *Pesq. Agropec. Bras.; Sér. Vet.*, Rio de Janeiro, 8(6):43-7, 1983.

DURAND, M.; BEAUMATIN, P.; DUMAY, C. Estimation "in vitro" à l'aide du phosphore radioactif des besoins en phosphore des microorganismes du rumen. *Reprod. Nutr. Develop.*, Jouy-en-Josas, 23(4):727-39, 1983.

DURAND, M. & KAWASHIMA, R. Influence of minerals in rumen microbial digestion. In: ROCKERBUSH, Y. & THIVEND, P. *Digestive physiology and metabolism in ruminants.* England, MTP Press, 1980. cap.18, p.575-408.

FIELD, A.C. Maintenance requirement of phosphorus and absorbability of dietary phosphorus in sheep. *J. Agric. Sci.*, Cambridge, 100:231-3, 1983.

FIELD, A.C. & KAMPHUES, J. The effect of dietary intake of calcium and phosphorus on the absorption and excretion of phosphorus in chimaera-derived sheep. *J. Agric. Sci.*, Cambridge, 101:597-602, 1983.

---

FIELD, A.C.; WOOLLIAMS, J.A.; DINGWALL, R.A. The effect of dietary intake of calcium and dry matter on the absorption and excretion of calcium and phosphorus by growing lambs. *J. Agric. Sci., Cambridge*, 105:237-43, 1985.

FISHER, L.J. A comparison of supplemental forms of phosphorus. *Can. J. Anim. Sci., Ottawa*, 58(2):313-7, 1978.

FISHWICK, G. Christmas Island rock phosphates and a tricalcium phosphate derivative as source of phosphorus for growing sheep. *N.Z.J. Agric. Res., Wellington*, 19(3):307-9, 1976.

FISHWICK, G. Utilization of the phosphorus and magnesium in some calcium and magnesium phosphates by growing sheep. *N.Z.J. Agric. Res., Wellington*, 21(4):571-5, 1978.

FISHWICK, G. & HEMINGWAY, R.G. Urea phosphate and monoammonium phosphate as dietary supplement for sheep fed diets inadequate in phosphorus and nitrogen. *J. Agric. Sci., Cambridge*, 81(1):159-45, 1973.

FISKE, C.H. & SUBBARROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem., Baltimore*, 66(2):375-400, 1925.

GEORGIEVSKII, V.I. The physiological role of macroelements. In: GEORGIEVSKII, V.I.; ANENKOV, B.N.; SAMKHIN, V.I. *Mineral Nutrition of Animals*. London. Butterworths, 1982. cap.6, p.91-170.

- GILLIS, M.B.; MORRIS, L.C.; HEUSER, G.F. Studies on the biological value of inorganic phosphates. *J. Nutr.*, Bethesda, 52(1):115-25, 1954.
- GRACE, N.D. Phosphorus kinetics in sheep. *Br. J. Nutr.*, London, 45(2):367-74, 1981.
- HALL, G.A.B. & LEE JR., D.D. Efeito da fonte de fósforo e tempo de incubação na solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2% e em fluido de rúmen. *Rev. Soc. Bras. Zoot.*, São Paulo, 7(1):14-25, 1978.
- HALL, O.G.; BAXTER, H.D.; HOBBS, C.S. Effect of phosphorus in different chemical forms on "in vitro" cellulose digestion by rumen microorganisms. *J. Anim. Sci.*, Champaign, 20(4):817-9, 1961.
- HANSARD, S.L.; CROWDER, H.M.; LYKE, W.A. The biological availability of calcium in feeds for cattle. *J. Anim. Sci.*, Champaign, 16(2):437-43, 1957.
- HAY, V.M. & SWENSON, M.J. Minerals. In: SWENSON, M.J. *Duke's Physiology of Domestic Animals*. 8. Ed. Ithaca, Comstock London, Cornell University Press, 1970. cap.33, p.663-90.
- HEMINGWAY, R.G. & Mc LAUGHLIN, A.M. Retention by sheep of magnesium, phosphorus and fluorine from magnesium and calcium phosphates. *Br. Vet. J.*, London, 135:411-5, 1979.
-

- HILL, R. The provision and metabolism of calcium and phosphorus in ruminants. *World Rev. Nutr. Diet*, London, 3:129-48, 1965.
- HUYGHEBAERT, G.; GROOTE, G.; KEPPENS, L. The relative biological availability of phosphorus in feed phosphates for broilers. *Ann. Zootech.*, Versailles, 29(3):245-65, 1980.
- INTERNATIONAL MINERALS & CHEMICAL CORPORATION. *Calcium and phosphorus in animal nutrition*. Libertyville, 1978. 55p.
- IRVING, J.T. Dynamics and function of phosphorus. In: COMAR, C.L. and BRONNER, C.F. *Mineral Metabolism*. New York, Academic Press, 1964. v.2, pt A, cap.18, p.249-313.
- KLEIBER, M.; SMITH, A.H.; RALSTON, N.P.; BLACK, A.L. Radiophosphorus ( $^{32}\text{P}$ ) as tracer for measuring endogenous phosphorus in cow's feces. *J. Nutr.*, Philadelphia, 45(2):253-63, 1951.
- KRONFIELD, D.S.; MAYER, G.P.; RAMBERG, C.F. Calcium homeostasis in cattle. In: AURBACH. *Handbook of Physiology*. Washington (DC), American Physiological Society, 1976, p.169-81.

- LITTLE, D.A.; ROBINSON, P.J.; PLAYNE, M.J.; HAYDOCK, K.P.  
Factors affecting blood inorganic phosphorus determination  
in cattle. *Aust. Vet. J.*, Artarmon, 47:153-6, 1971.
- LOBO, M.G. & SILVA, R.M. Produção de fertilizantes fosfatados.  
In: SIMPÓSIO SOBRE FERTILIZANTES NA AGRICULTURA BRASILEIRA,  
Brasília, 1984. *Anais*. Brasília, EMBRAPA, 1984, p.73-102.
- LOFGREEN, G.P. The availability of the phosphorus in  
dicalcium phosphate, bone meal, soft phosphate and calcium  
phytates for mature wethers. *J. Nutr.*, Bethesda, 70(1):  
58-62, 1960.
- LOFGREEN, G.P. & KLEIBER, M. The availability of the  
phosphorus in alfafa hay. *J. Anim. Sci.*, Champaign,  
12(2):366-71, 1953.
- LOFGREEN, G.P. & KLEIBER, M. Further studies on the  
availability of phosphorus in alfafa hay. *J. Anim. Sci.*,  
Champaign, 13(1):258-64, 1954.
- LOFGREEN, G.P.; KLEIBER, M.; SMITH, A.H. The excretion of  
injected  $^{32}\text{P}$  into the gastrointestinal tract of the young  
calf. *J. Nutr.*, Philadelphia, 47(4):561-9, 1952.
- LONG, T.A.; TILLMAN, A.D.; NELSON, A.B.; DAVIS, B.; GALLUP,  
W.D. Dicalcium phosphate and soft phosphate with colloidal  
clay as sources of phosphorus for beef heifers. *J. Anim.  
Sci.*, Champaign, 15:1118-1122, 1956.



- LONG, T.A.; TILLMAN, A.D.; NELSON, A.B.; GALLUP, W.D.;  
DAVIES, B. Availability of phosphorus in mineral  
supplements for beef cattle. *J. Anim. Sci.*, Champaign,  
16(2):444-59, 1957.
- LOPES, H.O.S. & PEREIRA, E.A. Fontes alternativas de  
fosfatos na suplementação alimentar de animais. In:  
ENCONTRO NACIONAL DE ROCHA FOSFÁTICA, 3. Brasília,  
1986. Anais. São Paulo, IBRAFOS, 1986. p.435-48.
- LOPES, Z.M.A. *Utilização de fosfato bruto de rochas em  
rações para frangos de corte*. Belo Horizonte, 1983.  
(Tese de Mestrado, Escola de Veterinária, Universidade  
Federal de Minas Gerais).
- LUICK, J.R. & LOFGREEN, G.P. An improved method for  
determination of metabolic fecal phosphorus. *J. Anim.  
Sci.*, Champaign, 16(1):201-6, 1957.
- MACIEL, M.L.C. & LEBOUT, E.M. Avaliação de farinhas de osso  
por métodos indireto e biológico. *Anu. Tec. Inst. Pesq.  
Zootec. Francisco Osório*, Porto Alegre, 5(2):609-58,  
1978.
- MANSTON, R. The influence of dietary calcium and phosphorus  
concentration on their absorption in cow. *J. Agric. Sci.*,  
Cambridge, 68(2):263-8, 1967.

MAYNARD, L.A. & LOOSLI, J.K. The inorganic elements and their metabolism. In: MAYNARD, L.A. & LOOSLI, J.K. *Animal Nutrition*. 5 ed., New Delhi, Mc Graw Hill, 1969, cap.8, p.154-228.

Mc DONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D. The evaluation of foods. In: Mc DONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D. *Animal Nutrition*. 2 ed. New York, Longman, 1975, cap.10, p.185-197.

Mc GILLIVRAY, J.J. Biological availability of phosphorus sources. In: ANNUAL INTERNATIONAL MINERALS CONFERENCE, 1 Saint Petersburg Beach, 1978. Proceeding Saint. Petersburg Beach, IMC, 1978. p.75-86.

MILLER, R.F. & PHILLIPS, P.H. The metabolism of fluorine in the bones of the fluoride - poisoned rat. *J. Nutr.*, Bethesda, 51(2):273-81, 1953.

MOODIE, E.W. Mineral metabolism. In: BLUNT, M.H. *The blood of sheep: composition and function*. Berlin, Springer Verlag, 1975. p.63-99.

ODONOVAN, J.P.; PLUMLEE, M.P.; SMITH, W.H.; BEESON, W.M. Availability of phosphorus in dicalcium phosphate and defluorinated phosphate for steers. *J. Anim. Sci.*, Champaign, 24(4):981-5, 1965.

---

PARTHASARATHY, D.; GARTON, G.A.; PHILLIPSON, A.T. The passage of phosphorus across the rumen epithelium of sheep. *Biochem. J.*, London, 52(4):16-7, 1952.

PAZ, E.A.; McDOWELL, L.R.; CONRAD, J.H.; DAMRON, B.L. Biological availability of phosphorus from basic steel slag. *Anim. Feed Sci. and Techn.*, Amsterdam, 11:75-83, 1984.

PEELER, H.T. Biological availability of nutrients in feeds: availability of major minerals ions. *J. Anim. Sci.*, Champaign, 35(3):695-712, 1972.

REID, R.L. Relationship between phosphorus nutrition of plants and phosphorus nutrition of animals and man. In: KHAWNEH, F.E.; SAMPLE, E.C.; KAMPRATH, E.J. *The Role of Phosphorus in Agriculture*. Madison, American Society of Agronomy, 1980. p.847-86.

ROSA, I.V. Uso de rochas fosfáticas como fonte de fósforo suplementar para ruminantes. Brasília, EMBRAPA, 1983. 9p. (Parecer Técnico, 1).

ROSA, L.C.A.; SILVA, J.F.C.; ANDRADE, A.T.; LEÃO, M.I. Solubilidade abomasal e ruminal de fontes inorgânicas de fósforo em bovinos e bubalinos. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, Viçosa, 15(4):364-71, 1986.

- ROUND, M.H. *Phosphorus status and supplementation of grazing beef cattle*. Adelaide, Department of Agriculture and Fisheries, 1976. (Livestockbranch Technical Information Circular, 26). 15p.
- SAKOMURA, N.K.; BUTOLO, J.E.; ARIKI, J. Fosfatos de Patos de Minas e Catalão na alimentação de poedeiras comerciais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 20, Pelotas, 1983. *Anais*. Pelotas, SBZ, 1983, p.35.
- SAMPAIO, A.A.M. & ANDRADE, P. Efeito de fontes de nitrogênio e fósforo na mistura mineral sobre o desempenho de novilhos zebuínos. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 21., Belo Horizonte, 1984. *Anais*. Belo Horizonte, SBZ, 1984. p.350.
- SCHNEIDER, K.M.; TERNOUTH, J.H.; SEVILHA, C.C.; BOSTON, R.C. A short-term study of calcium and phosphorus absorption in sheep fed on diets high and low in calcium and phosphorus. *Aust. J. Agric. Res.*, Melbourne, 36(1): 91-105, 1985.
- SCOTT, D.; WHITELAW, F.G.; BUCHAN, W.; BRUCE, L.A. The effect of variation in phosphorus intake on salivary phosphorus secretion, net phosphorus absorption and faecal endogenous phosphorus excretion in sheep. *J. Agric. Sci.*, Cambridge, 106(2):271-7, 1985.
-

- THEILLER, A. Almsickte (parabotulism) in cattle in South Africa. *Union of South Africa, Dept. Agric. Ann. Rept.*, 11 and 12:821, 1927 apud WISE, M.B.; WENTWORTH, R.A.; SMITH, S.E. Availability of phosphorus in various sources for calves. *J. Anim. Sci.*, Champaign, 20(2):329-35, 1961.
- THOMPSON, JR, W.R. Phosphorus in animal nutrition. In: *Phosphorus for agriculture a situation analysis*. Atlanta, Potash/Phosphate Institute, 1978. p.126-58.
- THOMPSON, D.J. Industrial considerations related to fluorine toxicity. *J. Anim. Sci.*, Champaign, 51(3):767-72, 1980.
- THOMPSON, D.J. & MENDES, M.O. Disponibilidade biológica dos principais minerais ions. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO SOBRE PESQUISA EM NUTRIÇÃO MINERAL DE RUMINANTES EM PASTAGENS. Belo Horizonte, 1976. *Anais*. Belo Horizonte, UFMG, 1973. p.219-35.
- TILLMAN, A.D. (1956) apud AROEIRA, L.J.M. *Viabilidade de três fontes de fósforo para ruminantes*. Belo Horizonte, UFMG, Escola de Veterinária, 1976, p.4.
- TILLMAN, A.D. & BRETHOUR, J.R. Utilization of phytin phosphorus by sheep. *J. Anim. Sci.*, Champaign, 17(1): 104-12, 1958.
- UNDERWOOD, E.J. *The mineral nutrition of livestock*. Aberdeen, Central Press, 1960. 237p.

- UNDERWOOD, E.J. Sources of minerals. In: UNDERWOOD, E.J. *The mineral nutrition of livestock*. 2 ed. Farnham Royal, Commonwealth Agricultural Bureaux, 1981. cap. 2., p.9-19.
- VAN NEVEL, C.J. & DEMEYER, D.I. Determination of microbial cells synthesis in the rumen "in vitro" by measurement of  $^{32}\text{P}$  labelled phosphate incorporation. Annual Meeting of the European Society of Nuclear Methods in Agriculture (ESNA). Louvain, 1973.
- VAN NEVEL, C.J. & DEMEYER, D.I. Determination of rumen microbial growth "in vitro" from  $^{32}\text{P}$  labelled phosphate incorporation. *Br. J. Nutr.*, London, 38(1):101-14, 1977.
- VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I.; MAENG, W.J. Problems in estimating rumen microbial growth from phosphorus-32 incorporation. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Nuclear Techniques in Animal Production and Health*. Vienna, IAEA, 1976. p.509-17. (Painel proceedings).
- VIANA, J.A.C. Fontes de sais minerais para bovinos e o desafio de suplementos de fósforo no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 5. Piracicaba, 1985. *Anais*. Piracicaba, FEALQ, 1985. p.47-66.
- WISE, M.R.; KENTWORTH, R.A.; SMITH, S.E. Availability of the phosphorus in various sources for calves. *J. Anim. Sci.*, Champaign, 20(2):329-35, 1961.
-

WITT, K.E. & OWENS, F.M. Phosphorus ruminal availability and effects on digestion. *J. Anim. Sci.*, Champaign, 56(4): 930-7, 1983.

WOZNIAK, L.A.; PENSACK, J.M.; STRYVESKI, V.; WILBUR, R.D. Biological availability of feed grade phosphates using a corn soybean meal basal diet. *Poult. Sci.*, Champaign, 56(1):366-9, 1977.

YOSHIDA, M.; ISHIKAWA, M.; NAKAJIMA, H.; HOTTA, S. Solubility of phosphorus in citric acid solution as an index of biological availability. *J.P.N. Poult Sci.*, Ibaragi-Ken, 16:290-2, 1979.

---

**8. APENDICE**





### CÁLCULOS UTILIZADOS NA DETERMINAÇÃO DO T 1/2

A taxa de desaparecimento do  $^{32}\text{P}$  injetado na corrente sanguínea fornece a velocidade com que o radioisótopo é distribuído do sangue para outros órgãos. No organismo vivo esse desaparecimento ocorre, não só pelo decaimento físico mas, pela eliminação biológica. Como o período usado no presente trabalho foi curto a constante de decaimento físico é desprezível. O decréscimo do número de átomos radioativos ( $^{32}\text{P}$ ) no plasma pode ser expresso pela meia-vida biológica (T 1/2), que possui um maior significado prático, ou seja, ela representa o tempo necessário para a remoção de 50% dos átomos radioativos. O desaparecimento do  $^{32}\text{P}$  no plasma descreve uma exponencial,

$$R = R_0 e^{-kt} \dots \dots \dots (1)$$

onde,  $R_0$  representa a atividade específica inicial no plasma (em  $t = 0$ );  $R$ , a atividade específica no instante  $t$  e  $k$  é a constante de decaimento biológico. Se  $t = T \text{ 1/2}$ , por definição tem-se que  $R = \frac{R_0}{2}$ . Substituindo-se essas variáveis na equação 1, obtém-se:

$$\frac{R_0}{2} = R_0 e^{-k T \text{ 1/2}}$$

e pode-se demonstrar facilmente que:

$$T \text{ 1/2} = \frac{0,693}{k}$$

Obteve-se desse modo, as equações das curvas de atividades específicas médias no plasma (Tabela 1) e os

**Tabela 1 - Atividades específicas médias no plasma para os animais que receberam os fosfatos BIC, PAT, TAP e FIN.**

Tempo (horas)	T r a t a m e n t o s			
	BIC	PAT	TAP	FIN
5*	1,134 ± 1,067	1,857 ± 1,181	2,006 ± 0,833	2,234 ± 1,122
24	0,047 ± 0,009	0,081 ± 0,016	0,073 ± 0,13	0,076 ± 0,015
48	0,034 ± 0,005	0,065 ± 0,017	0,051 ± 0,008	0,058 ± 0,009
72	0,024 ± 0,008	0,052 ± 0,011	0,044 ± 0,006	0,047 ± 0,009
96	0,018 ± 0,006	0,042 ± 0,009	0,034 ± 0,008	0,043 ± 0,010
120	0,014 ± 0,001	0,035 ± 0,006	0,033 ± 0,006	0,033 ± 0,004
144	0,011 ± 0,003	0,030 ± 0,007	0,024 ± 0,004	0,028 ± 0,006
168	0,011 ± 0,004	0,028 ± 0,008	0,021 ± 0,003	0,026 ± 0,006

\*Tempo em minutos.

valores de  $T_{1/2}$  para os quatro tratamentos:

• **Bicálcico:**

$$R = 0,0598 e^{-0,0121 T_{1/2}}, \quad r^2 = 0,98$$

$$T_{1/2} = \frac{0,693}{0,0121}$$

$$T_{1/2} = 57,27 \text{ horas}$$

• **Patos:**

$$R = 0,0923 e^{-0,0076 T_{1/2}}, \quad r^2 = 0,98$$

$$T_{1/2} = \frac{0,693}{0,0076}$$

$$T_{1/2} = 91,18 \text{ horas}$$

• **Tapira:**

$$T = 0,0813 e^{-0,0082 T_{1/2}}, \quad r^2 = 0,97$$

$$T_{1/2} = \frac{0,693}{0,0082}$$

$$T_{1/2} = 84,51 \text{ horas}$$

• **Finos de Tapira:**

$$R = 0,0852 e^{-0,0075 T_{1/2}}, \quad r^2 = 0,92$$

$$T_{1/2} = \frac{0,693}{0,0075}$$

$$T_{1/2} = 92,40 \text{ horas}$$