

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

RAQUEL SOUZA DIAS

Estudo do metabolismo do fósforo utilizando modelos matemáticos

Piracicaba - SP

2006

RAQUEL SOUZA DIAS

Estudo do metabolismo do fósforo utilizando modelos matemáticos

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na
Agricultura da Universidade de São Paulo para a
obtenção do título de Doutora em Ciências

Área de Concentração: Energia Nuclear na
Agricultura

Orientadora: Prof. Dr^a. Dorinha M. S. S. Vitti
Kennedy

Piracicaba - SP

2006

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Dias, Raquel Souza

Estudo do metabolismo do fósforo utilizando modelos matemáticos /
Raquel Souza Dias; orientadora Dorinha Silber Schimidt Vitti Kennedy. - -
Piracicaba, 2006.

104 f. : fig.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de
Concentração: Energia Nuclear na Agricultura) – Centro de Energia Nuclear
na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Metabolismo mineral 2. Modelagem matemática 3. Nutrientes para
animais 4. Ovinos 5. Ruminantes I. Título

CDU 591.53:549.22

DEDICATÓRIA

Ao meu marido Gustavo, pelo amor, companheirismo e constante incentivo que me dá forças para perseverar na busca dos nossos sonhos. Do seu lado a simplicidade e a tranquilidade prevalecem, e assim, as dificuldades não incomodam, pois elas fazem parte dos desafios que tornam a nossa vida mais prazerosa e enriquecedora.

À minha querida família, a razão pela qual eu me transformei em quem sou, que está sempre comigo me apoiando.

Amo muito todos vocês.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Dorinha, pela amizade, cumplicidade e incentivo que me fizeram realizar o meu trabalho da melhor forma possível;

Aos professores Drs. James France e Ermeas Kebreab pela paciência, confiança, incentivo e pela colaboração nos trabalhos que fazem parte dessa tese;

Ao Dr. Adibe Luiz Abdalla pelo apoio constante;

Aos professores Dr. Dirlei Antonio Berto e Dr. Mauro S.Bueno, pelas sugestões e críticas;

Ao professor e amigo Ives, pelas críticas construtivas e apoio constante;

À FAPESP, pelo incentivo à atividade científica através da concessão da bolsa de doutorado;

Às amigas Ana Paula, Patrícia, Sarita, Valéria e Jenifer pela amizade que foi fundamental para que eu superasse os obstáculos encontrados;

À Regina, Lécio, Everaldo e Eduardo, pela colaboração na fase experimental;

À Silvana, sempre prestativa e eficiente;

À Marília da biblioteca, pelas correções da tese;

E, a Deus, pois Ele com Sua bondade infinita, sempre coloca pessoas especiais no meu caminho.

Resumo

O fósforo (P) é responsável por funções essenciais nos ruminantes, tais como transporte de energia, formação dos fosfolipídeos e efeito tampão no rumem. A falta desse mineral pode prejudicar o apetite e conseqüentemente causar a perda de peso. Entretanto, o seu fornecimento em excesso leva a perda por excreção que pode causar poluição quando o P alcança as águas de rios e mananciais. O objetivo desse trabalho foi utilizar a modelagem matemática como ferramenta para o estudo do metabolismo e cinética do P em ruminantes. Dezesesseis ovinos machos jovens foram alimentados com dietas contendo diferentes fontes de cálcio (Ca) e níveis semelhantes de P e Ca. Após adaptação às dietas os animais receberam uma injeção única contendo 7,4 MBq de ^{32}P e 7,4 MBq de ^{45}Ca . As coletas de fezes, urina e sangue foram feitas diariamente durante sete dias para análise desses minerais. Depois de sacrificar os animais, foram coletadas amostras de tecidos moles (rins, fígado, coração e músculo) e ossos para análise do P e do Ca. Num primeiro trabalho, os dados obtidos foram utilizados para revisar o modelo Vitti, e dados referentes ao P do fitato foram adicionados ao modelo. Os resultados referentes aos fluxos obtidos entre os ossos e o plasma (23,8 e 22,9 g/d) foram maiores do que os fluxos entre os tecidos e o plasma (3,35 e 2,83 g/d), refletindo a maior precisão do modelo revisado. As predições do modelo quanto à absorção e excreção do P do fitato poderão ser utilizadas em estudos futuros relativos ao seu metabolismo em ruminantes. No segundo trabalho, os tratamentos contendo as diferentes fontes de cálcio (calcário, feno de alfafa, polpa cítrica e farinha de conchas de ostras) foram comparados através da análise estatística dos fluxos obtidos de dois modelos: Vitti revisado (VD) e modelo Fernandez revisado por Lopes (FL). Os resultados referentes à presença de Ca líquido nos ossos estão de acordo entre os modelos VD e FL, no entanto o modelo VD apresentou maior valor de retenção líquida de Ca nos tecidos. Ambos os modelos mostraram o mesmo

padrão para os fluxos de P, assim como para as retenções líquidas de P nos ossos e tecidos. Os modelos refletiram de maneira semelhante o metabolismo do P. No terceiro trabalho, o modelo VD foi utilizado para avaliar o efeito de diferentes níveis de suplementação de P na dieta sobre o metabolismo do P em ovinos em crescimento (0; 1,5; 3,0; 4,5 g de P/animal/dia correspondendo aos tratamentos T1, T2, T3 e T4 respectivamente). O maior valor para o P absorvido nos ossos foi obtido pelos animais do T4 que excretaram os maiores níveis de P nas fezes. O T3 forneceu o melhor nível de P para essa categoria de animal, pois o P absorvido nos ossos e tecidos indicou que a absorção total de P foi adequada. Como conclusão final dos três trabalhos realizados, pode-se afirmar que o modelo VD é uma importante ferramenta para ser utilizada no estudo do metabolismo do P em ruminantes.

Palavras chaves: fósforo, cálcio, modelo matemático, metabolismo, nutrição de ruminantes

Abstract

The phosphorus (P) is responsible for essential functions in ruminants as such energy transportation, phospholipids formation and buffer effect on rumen. The lack of this mineral can impair appetite therefore causing loss of weight. However the excess of P provided leads to losses through excretion that can cause pollution when it reaches river and stream water. The objective of this work was to apply mathematical modeling as a tool to study P metabolism and kinetics in ruminants. Sixteen young male sheep were fed with diets containing sources of Ca and similar levels of P and Ca. After adaptation to diets the animals received a single injection of 7,4 MBq of ^{32}P and 7,4 MBq of ^{45}Ca . Collections of feces, urine and blood were made daily for 7 days for further P and Ca analyses. After animals were sacrificed, samples were collected from soft tissue (kidney, liver, heart and muscle) and bone for P and Ca analyses. In the first paper, the obtained data was used to revise Vitti model, and data from phytate P were added to the model. The results concerned to the fluxes obtained between bone and plasma (23,8 and 22,9 g/d) were greater than the fluxes between tissue and plasma (3,35 and 2,83 g/d) reflecting the better precision from the revised model. The model prediction for phytate P absorption and excretion can be further used in studies related to phytate P metabolism in ruminants. In the second paper, the treatments containing different Ca sources (limestone, alfalfa hay, citrus pulp and oyster shell meal) were compared using statistical analyses from the fluxes obtained from two models: Vitti model revised (VD model) and Fernandez model revised by Lopes (FL model). The results concerned to the presence of net Ca in bone are in agreement between the two models; however the net Ca retention in tissue was greater for VD model. Both models showed the same pattern for P fluxes, as well as for net P retention in bone and tissue. The models reflected P metabolism in the same way. In the third paper, the Vitti model revised was used to assess the effect of different levels of P

supplementation (0; 1,5; 3,0 and 4,5 g P/animal/ day corresponding to T1, T2, T3 and T4 respectively) upon P metabolism in growing sheep. The higher value for P absorbed in bone was obtained by animals from T4 that also excreted the greater levels of P in feces. The T3 provided the best P level for this animal category because P absorbed in bone and tissue indicated that total P absorption was adequate. As final conclusion from the accomplished work, it can be claimed that the revised Vitti model is an important tool to be used to study P metabolism in ruminants.

Key words: phosphorus, calcium, mathematical model, metabolism, ruminant nutrition

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Representação esquemática do modelo revisado do metabolismo do fósforo em ovinos em crescimento mostrando o fósforo do fitato.....	31
Figura 4.1 - Representação esquemática do modelo Vitti-Dias usada para o metabolismo do cálcio em cordeiros (Vitti et al., 2000).....	53
Figura 4.2 - Representação esquemática do modelo Fernandez-Lopes usada para o metabolismo do cálcio em cordeiros (Lopes et al., 2001).....	55
Figura 5.1 - Representação esquemática do modelo Vitti-Dias model usada para o metabolismo do fósforo em cordeiros (from Vitti et al., 2000).....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Ingredientes da dieta e composição das dietas fornecidas aos ovinos contendo diferentes fontes de cálcio.....	28
Tabela 3.2 - Composição química dos ingredientes da dieta (g/kg DM).....	29
Tabela 3.3 - Principais símbolos usados no modelo.....	32
Tabela 3.4 - Ingestão e excreção de fósforo e cálcio, atividades específicas, e outras medidas experimentais.....	36
Tabela 3.5 - Valores observados e preditos da atividade específica do Ca e P no plasma (AE-144hs), e excreção fecal do fitato P e demais P.....	37
Tabela 3.6 - Fluxos de P e Ca calculados usando o modelo revisado.....	38
Tabela 4.1- Ingredientes da dieta e composição das dietas fornecidas aos ovinos contendo diferentes fontes de cálcio.....	50
Tabela 4.2 - Composição química dos ingredientes da dieta (g/kg DM).....	51
Tabela 4.3 - Principais símbolos usados no modelo.....	53
Tabela 4.4 - Fluxos de Ca, atividades específicas (AE) e outras entradas usadas no modelo Vitti-Dias e Fernandez-Lopes (médias dos tratamentos).....	57
Tabela 4.5 - Fluxos de Ca calculados dos modelos Vitti-Dias e Fernandez-Lopes para as diferentes fontes de Ca.....	58
Tabela 4.6 - Fluxos de P, atividades específicas (AE) e outras entradas usadas no modelo Vitti-Dias e Fernandez-Lopes (médias dos tratamentos).....	59
Tabela 4.7 - Fluxos de P calculados dos modelos Vitti-Dias e Fernandez-Lopes para diferentes fontes de Ca.....	60
Tabela 5.1 - Dietas fornecidas aos cordeiros contendo diferentes níveis de P.....	73
Tabela 5.2 - Composição química das dietas contendo diferentes níveis de P.....	74

Tabela 5.3 - Principais símbolos usados no modelo.....	75
Tabela 5.4 - Fluxos de P, atividades específicas (AE) e outras entradas usadas no modelo Vitti-Dias.....	79
Tabela 5.5 - Distribuição do P de acordo com Spiekers et al. (1993).....	81
Tabela 5.6 - Fluxos do fósforo do modelo Vitti-Dias para ovinos alimentados com diferentes níveis de fósforo.....	84

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	8
LISTA DE TABELAS.....	9
RESUMO.....	4
ABSTRACT.....	6
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 A importância do fósforo.....	17
2.2 O fósforo e o cálcio.....	19
2.3 Modelos matemáticos.....	21
3. REVISÃO DO MODELO PARA ESTUDO DA CINÉTICA DO FÓSFORO E DO CÁLCIO EM OVINOS EM CRESCIMENTO	
Resumo.....	24
Abstract.....	25
3.1 INTRODUÇÃO.....	26
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.2.1 Procedimento experimental.....	27
Animais e dietas.....	27
Análise das amostras.....	29
Modelo Revisado.....	30

3.2.2 Análise estatística.....	34
3.3 RESULTADOS.....	35
Fósforo.....	35
Cálcio.....	38
Cálcio e fósforo.....	39
3.4 DISCUSSÃO.....	40
3.5 CONCLUSÕES.....	44
4 - APLICAÇÃO E COMPARAÇÃO DE DOIS MODELOS PARA ESTUDO DOS EFEITOS DE FONTES DE CÁLCIO EM OVINOS	
Resumo.....	45
Abstract.....	47
4.1 INTRODUÇÃO.....	48
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	49
4.2.1 Procedimento experimental.....	49
Animais e dietas.....	49
Análise das amostras.....	50
Modelo Vitti-Dias.....	52
Modelo Fernandez Lopes.....	54
4.2.2 Análise estatística.....	56
4.3 RESULTADOS.....	56
Cálcio.....	56

Fósforo.....	59
4.4 DISCUSSÃO.....	61
Cálcio.....	61
Fósforo.....	64
4.5 CONCLUSÃO.....	66
5. CINÉTICA DO FÓSFORO EM CORDEIROS ALIMENTADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE FÓSFORO	
Resumo.....	68
Abstract.....	70
5.1 INTRODUÇÃO.....	71
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	72
5.2.1 Procedimento experimental.....	72
Animais e dietas.....	72
Análise das amostras.....	73
Modelo Vitti-Dias.....	75
5.2.2 Análise estatística.....	77
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
5.4 CONCLUSÃO.....	87
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	88
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93

1. INTRODUÇÃO GERAL

A utilização de modelos matemáticos para estudo de fenômenos biológicos é uma prática crescente no mundo devido às vantagens que eles proporcionam. A disponibilidade de informações e o conhecimento gerado nos amplos ramos da ciência têm permitido que cientistas simulem e desenvolvam modelos que se ajustem aos fenômenos biológicos, físicos e químicos que ocorrem nos sistemas naturais, extrapolando resultados para o conjunto da população (France e Thornley, 1984). Modelos desenvolvidos para animais, por exemplo, podem ser utilizados com diversos propósitos, desde uma simples descrição de observações, passando por estimativas de respostas a diferentes manejos, até à caracterização de mecanismos biológicos (Tedeschi et al., 2005).

Modelos compartimentais, que permitem determinar o destino de um elemento estudado no organismo, são construídos com o auxílio de experimentos com radioisótopos. Estes, que utilizam marcadores radioativos, ainda possibilitam a determinação da secreção endógena e absorção de minerais (Schneider et al., 1983), ao invés da obtenção de estimativas muitas vezes sujeitas à erros.

O fósforo (P) é um dos principais minerais estudados através dessa técnica, que é baseada na proporção entre o radioisótopo e o isótopo estável e é utilizada para estudar a cinética e o metabolismo de nutrientes em diferentes espécies e categorias de animais. Isto porque, o P além de participar de várias etapas da nutrição animal, é considerado um importante poluidor de águas em vários países do mundo (Tamminga, 1992; Valk et al., 2000). A poluição pode ser causada pelo P quando este é fornecido em excesso ou quando a digestão do P não ocorre adequadamente. Em ambas as situações o P excretado nas fezes pode causar a poluição quando este é lixiviado do solo e atinge as águas, provocando a eutrofização. Problemas na digestibilidade do P podem ter diferentes causas, sendo uma delas,

a diminuição da eficiência digestiva da enzima fitase. Esta enzima libera o P ligado à molécula do fitato para ser utilizado pelos ruminantes. Quando há problemas digestivos que afetam a atividade normal da fitase, o P do fitato, principal forma do P presente nos grãos de cereais, não é digerido completamente. No entanto, este fato ainda é controverso, mas sabe-se que uma vez eliminado nas fezes o P é acumulado no solo e pode ser lixiviado provocando a poluição. Isto ocorre, especialmente, em solos ricos nesse mineral. No Brasil, por outro lado, o P é deficiente na maioria dos solos (Tokarnia et al., 2000), o que diminui a incidência desse problema, mas acarreta problemas relacionados com o baixo consumo de P como a diminuição da taxa de crescimento e ganho de peso, baixa eficiência reprodutiva, e redução da produção de carne e leite.

Cerca de 80% do fósforo encontra-se nos ossos associados ao cálcio (Ca) constituindo a hidroxiapatita. Devido à natureza estática da razão Ca:P encontrada nos ossos, os efeitos do metabolismo do Ca relacionados com a absorção e reabsorção óssea podem refletir nas concentrações de P no sangue (Braithwaite, 1975). Nos animais jovens a mineralização e crescimento ósseo ocorrem independentes do P dietético, enquanto que nos animais adultos, a utilização de reservas desse mineral é menos eficiente do que a utilização do Ca, e não parece estar sob o mesmo controle hormonal do Ca (Challa et al., 1989).

A relação entre o metabolismo do Ca e P também ocorre porque eles são regulados por mecanismos físico-químicos e biológicos semelhantes (Underwood, 1999). Assim, apesar das particularidades de cada mineral, modelos matemáticos construídos para o estudo do P podem ser utilizados com frequência para o estudo do Ca, e vice versa.

O modelo compartimental proposto por Albert e Milhaud em 1960 (Albert e Milhaud, 1960) está entre os primeiros modelos elaborados para estudo do Ca. Esses pesquisadores elaboraram um modelo matemático para o estudo das principais rotas do Ca em humanos. Esse modelo, baseado na interpretação teórica da curva decrescente de atividade específica do

Ca sérico após a injeção intravenosa do ^{45}Ca , foi adaptado para o estudo do metabolismo do Ca e P em ruminantes. Ele é constituído de três compartimentos, que correspondem ao trato digestivo, o plasma e os ossos com os tecidos moles, estudados juntos. O trato digestivo e o osso mais os tecidos moles estão em intercâmbio bi-direcional com o compartimento do plasma, que funciona como compartimento central das trocas do mineral. Este modelo tem a vantagem de não exigir o sacrifício dos animais experimentais para análise do P nos ossos e tecidos, entretanto sua precisão é limitada.

O modelo proposto por Vitti e colaboradores (Vitti et al., 2000), foi construído a partir de dados obtidos de experimentos nos quais o ^{32}P foi injetado em dose única caprinos. Esse modelo separa ossos e tecidos moles em dois compartimentos distintos e também possui os compartimentos correspondentes ao trato digestivo e ao plasma. Neste modelo exige-se o sacrifício dos animais experimentais para coletas de tecidos.

Fernandez em 1995 propôs um modelo matemático com a finalidade de esclarecer a absorção e utilização do Ca e do P em suínos em crescimento, estabelecer métodos padronizados para a avaliação da suplementação de Ca e P e simultaneamente, as exigências desses minerais para o melhor desempenho dos suínos (Fernandez, 1995a).

Lopes et al. (2001) adaptaram o modelo de Fernandez para estudar o metabolismo do P nos tecidos de suínos, acrescentando ao modelo um compartimento que respresenta os tecidos moles.

O princípio de conservação das massas é aplicado para cada compartimento desses modelos, gerando equações diferenciais que descrevem a dinâmica do comportamento do sistema.

Além disso, considera-se que no período experimental o mineral presente nos animais fica no estado estável, e assim as trocas no sistema permanecem constantes, e a taxa de entrada é igual à taxa de saída.

Assim, dentro do contexto previamente apresentado, o primeiro capítulo desse trabalho, utilizou dados referentes a um experimento realizado com cordeiros alimentados com diferentes fontes de cálcio, onde os tratamentos foram agrupados formando um único conjunto de dados que foi utilizado na revisão do modelo Vitti et al. (2000). Além disso, dados do P do fitato ingerido e excretado nas fezes foram inseridos no modelo.

No segundo capítulo, o modelo Vitti revisado (Dias et al., 2006) foi comparado com o modelo de Fernandez (1995) adaptado por Lopes et al. (2001). Os tratamentos contendo as diferentes fontes de Ca foram comparados.

No terceiro capítulo, dados referentes a um experimento com ovinos alimentados com diferentes níveis de P foram avaliados utilizando-se o modelo Vitti revisado (Dias et al., 2006).

Em resumo, os objetivos desses trabalhos foram: 1) utilizar dados do balanço do P e do Ca em ovinos em crescimento para revisar o modelo proposto por Vitti et al. (2000); 2) comparar o modelo revisado com outro modelo avaliando o efeito das diferentes fontes de Ca sobre o metabolismo do P e do Ca; 3) utilizar o modelo Vitti et al. (2000) revisado para avaliar o metabolismo do P em ovinos alimentados com diferentes níveis de P.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1- Importância do fósforo

Devido às inúmeras funções nas quais o P participa metabolismo no animal, a deficiência desse mineral na dieta pode prejudicar o desempenho do animal ao afetar ganho

de peso (Ternouth e Sevilla, 1984; Valk e Sebek, 1999), crescimento, reprodução, produção (Call et al., 1987) e composição do leite (Wu e Satter, 1998).

A deficiência de P é muito importante para bovinos, principalmente em relação àqueles mantidos em regime de campo. O Brasil que possui extensas áreas de pastagens deficientes em P, este é o distúrbio mineral mais comum e também economicamente, o mais importante (Tokarnia, et al., 2000).

Em áreas em que as concentrações de P no solo são adequadas ou excessivas, ele representa um risco quando liberado no ambiente. Por isso o manejo preciso e eficiente do elemento fornecido na dieta é crucial para otimizar a performance do animal e minimizar a excreção deste.

A eliminação de P nas fezes dos animais ocorre principalmente devido à ingestão de fósforo não disponível presente nos alimentos e ao fornecimento de quantidades inadequadas desse mineral. A inadequação no fornecimento é gerada principalmente pelas grandes variações nos valores estabelecidos pelos sistemas (ex..NRC, National Research Council) de diversos países (Tamminga, 1992). Segundo Tamminga (1996), como o metabolismo e a excreção de fósforo via fezes são regulados principalmente pela ingestão (Morse et al., 1992a), a forma mais fácil para reduzir a perda de fósforo é através da redução desse mineral proveniente do concentrado que compõe a ração.

As exigências nutricionais relacionadas ao P devem ser reavaliadas (Van Horn et al., 1994), pois alguns estudos mostram que o fornecimento de níveis menores que os preconizados por alguns sistemas como o NRC (National Research Council) não prejudicam o desempenho dos animais (Call et al., 1978), e reduzem a excreção desse mineral no ambiente.

É importante ressaltar que a reavaliação das exigências nutricionais deve ser feita juntamente com a avaliação da disponibilidade do fósforo nos principais alimentos utilizados

na nutrição de ruminantes, pois também há divergências quanto às definições relacionadas a esse assunto (Valk, et al., 2000).

As diferenças quanto à disponibilidade biológica ou coeficiente de absorção verdadeiro estão relacionadas principalmente a origem do P, que pode ser orgânica ou inorgânica.

O P está presente na planta na forma inorgânica como ortofosfatos (solúveis ou não), totalmente disponíveis para absorção e, em menor extensão, como pirofosfatos. Nos grãos o P está presente principalmente na forma orgânica como fitina, éster hexafosfórico de inositol ou ácido fítico.

Apesar da disponibilidade do P fítico para ruminantes ser aparentemente semelhante à de fosfatos inorgânicos (Morse et al., 1992b), há algumas evidências de que o P fítico nem sempre é totalmente hidrolisado e aproveitado pelo animal (Ellis e Tillman 1961; Nelson et al., 1976). Recentes estudos realizados por Bravo et al. (2002) mostraram que a adição de fitase na dieta à base de concentrado para caprinos aumentou a solubilidade do fósforo. Segundo esses autores, a redução da degradação do fitato (tratamento sem a adição de fitase) pode ter acontecido devido à saturação da atividade da fitase ou devido ao reduzido tempo de retenção do fitato no rúmen, causado pelo tipo da dieta, no entanto os autores não apresentam conclusão definitiva e sugerem mais pesquisas.

2.2 - O fósforo e o cálcio

Existe uma forte relação entre os metabolismos do Ca e do P, pois esses minerais são regulados por mecanismos biológicos e físico-químicos idênticos. Eles estão presentes nos ossos na forma de sais de hidroxiapatita, na proporção 2:1 (Ca:P), e devido à relação estática desses minerais nos ossos, os efeitos do metabolismo do cálcio relativos à absorção ou reabsorção óssea podem alterar as concentrações de P no sangue (Valk, et al., 2000).

Os ruminantes, diferentemente dos monogástricos, toleram maiores diferenças na proporção Ca:P da dieta, que podem variar de 1:1 a 7:1, conquanto que a quantidade de P fornecida na dieta seja adequada.

A regulação desses minerais é influenciada por dois hormônios importantes: o hormônio da paratiróide (PTH) e a 1,25 dihidroxivitamina D, que é o metabólito da vitamina D produzido nos rins (Horst, 1986).

Dua e Care (1999) observaram que a infusão de fosfato no rúmen de ovinos aumentou a absorção de Ca através da parede do rúmen e sugeriram que a mudança da proporção entre o P e o Ca no sangue provavelmente interfere na secreção do PTH circulante, que aumenta em resposta à infusão de fosfato.

Existem poucos estudos mostrando os possíveis efeitos de diferentes formas de Ca fornecido na dieta (fontes orgânicas ou inorgânicas) no metabolismo do P. As fontes inorgânicas e orgânicas de cálcio apresentam diferentes disponibilidades, devido às diferenças quanto à forma química que afetam diretamente a absorção do elemento pelo metabolismo animal. Outros fatores como a idade da planta e a relação do mineral com outros nutrientes também afetam a disponibilidade do Ca.

Existem diferentes alimentos utilizados como fonte de Ca para ruminantes, estando o calcário calcítico e a farinha de conchas entre os principais suplementos utilizados na nutrição animal (NRC, 1996).

O feno de alfafa possui alto teor de Ca (0,8-1,5%) e proteína, tornando esse volumoso bastante utilizado na nutrição de ruminantes.

A polpa cítrica é um subproduto da indústria da laranja, altamente disponível no mercado brasileiro, e com características favoráveis para a sua utilização na nutrição de ruminantes como, alto teor de fibra e energia, (valores de 80% de NDT) e valores altos e variáveis de Ca, oscilando entre 1,1 a 2,1% (Lucci et al., 1975). Além disso, a polpa cítrica

propicia condições ruminais estáveis com efeitos semelhantes aos de alimentos volumosos devido principalmente à concentração de pectinas (Highfill et al., 1987).

2.3 Modelos matemáticos

Os modelos matemáticos de crescimento animal, desenvolvimento e fisiologia são atualmente parte integrante das ciências animais, tornando-se a base dos sistemas modernos de nutrição (Nagorcka et al., 2004). No entanto, no Brasil, a área de modelagem e simulação de sistemas tem recebido pouca contribuição ao longo dos anos, tanto na elaboração dos modelos como na utilização destes para orientação de pesquisas.

A grande quantidade de dados disponível sobre digestão, metabolismo e processos fisiológicos justifica a tentativa de construir modelos matemáticos quantitativos que representem esses processos e que possibilitem extrapolar os resultados para a população em estudo. Esses modelos além de melhorarem a visão do pesquisador em relação ao seu estudo e fornecer suporte na estratégia de programas de pesquisa, também tornam mais efetivo o uso das informações existentes, assim como a interpretação dos experimentos (Baldwin, 1995; France e Thornley, 1984).

Para o estudo do metabolismo do P, os dados aplicados nos modelos são na maioria das vezes coletados a partir de experimentos que utilizam a técnica de diluição isotópica, pois através dessa técnica é possível determinar o fósforo endógeno, que representa parte importante do P excretado nas fezes.

Como os metabolismos do Ca e do P são regulados por mecanismos biológicos e fisiológicos idênticos, é possível estudar o metabolismo desses minerais através de modelos matemáticos similares.

Aubert e Milhaud, em 1960, elaboraram um modelo matemático para o estudo das principais rotas do Ca em humanos. Esse modelo, baseado na interpretação teórica da curva

decrecente de atividade específica do Ca sérico após a injeção intravenosa do ^{45}Ca , foi adaptado para o estudo do metabolismo do Ca e P em ruminantes (Ramberg et al., 1970; Grace, 1981).

O modelo proposto por Aubert e Milhaud é constituído de três compartimentos; o primeiro correspondendo ao trato digestivo, o segundo à corrente sanguínea e o terceiro ao osso e tecidos moles, estudados juntos. O trato digestivo e o osso mais os tecidos moles estão em intercâmbio bi-direcional com o compartimento do sangue, que funciona como compartimento central das trocas do mineral. Este modelo tem a vantagem de não exigir o sacrifício dos animais experimentais para análises de P nos ossos e tecidos, entretanto sua precisão é limitada.

Para a elaboração deste modelo, são necessários dados de ingestão, excreção (P total nas fezes, P endógeno nas fezes e P na urina) e das atividades específicas do plasma para obtenção da curva das trocas rápidas (0-48hs) e da curva das trocas lentas (72-144hs). Essas curvas são representadas por equações, que fornecem os dados necessários para o cálculo da massa (Ca ou P em g) no “pool” trocável. Obtendo-se esses dados, é possível calcular a incorporação do Ca ou P nos ossos e tecidos moles.

Fernandez em 1995 propôs um modelo matemático com a finalidade de esclarecer a absorção e utilização do Ca e do P em suínos em crescimento, estabelecer métodos padronizados para a avaliação da suplementação de Ca e P e simultaneamente, as exigências desses minerais para o melhor desempenho dos suínos. Segundo esse autor (Fernandez, 1995b), o balanço de minerais não reflete o nível metabólico, pois, diferentes grupos de dados de ingestão e excreção nas fezes e urina podem levar a um mesmo resultado, mascarando importantes informações fisiológicas. Assim, para Fernandez, como o crescimento ósseo é o resultado da deposição e reabsorção óssea, é então possível que as estimativas quantitativas

dessas variáveis possam contribuir para uma definição mais precisa das exigências ou para um critério de resposta mais adequado do que o balanço de minerais.

Vitti et al. (2000) fizeram a proposta de um modelo matemático que separa ossos e tecidos moles em dois compartimentos distintos. Modelos como o proposto por Braithwaite (1983) e Aubert e Milhaud (1960), que não fazem distinção entre os ossos e tecidos moles, usam valores combinados para o cálculo de P absorvido ou reabsorvido para esses órgãos, gerando erros.

O modelo Vitti exige o sacrifício dos animais experimentais para coletas de tecidos, no entanto, os dados são mais precisos.

A entrada de fósforo no sistema se dá via ingestão, e a saída pelas fezes e urina, e é assumido que não há re-entrada de fósforo marcado a partir de fontes externas.

De acordo com esse modelo, a entrada de fósforo no “pool” central se dá pela absorção das frações de origem dietética e endógena, a partir do trato digestivo, bem como do fósforo reabsorvido do osso e dos tecidos moles. A saída envolve as secreções dos sucos digestivos, o fósforo excretado nas fezes e na urina, e o fósforo incorporado nos ossos e nos tecidos moles.

No estado estável, as trocas no sistema permanecem constantes e a taxa de entrada é igual à taxa de saída, permitindo o cálculo dos fluxos entre os compartimentos.

Atualmente os modelos utilizados para o estudo do metabolismo do P fornecem informações importantes que podem ser utilizadas para obter valores referentes às exigências nutricionais por exemplo, no entanto a precisão destes pode ser aprimorada. A adição de dados inéditos aos modelos é uma das formas pelas quais eles podem se tornar mais acurados.

3. REVISÃO DO MODELO PARA ESTUDO DA CINÉTICA DO FÓSFORO E DO CÁLCIO EM OVINOS EM CRESCIMENTO

Resumo

O objetivo desse estudo foi revisar o modelo da cinética do fósforo (P) proposto por Vitti e ampliar o seu uso para estudar os fluxos de cálcio (Ca) em ovinos em crescimento. Doze ovinos da raça Santa Inês, com 8 meses de idade e peso médio de 31,6 kg receberam uma injeção de ^{32}P e ^{45}Ca para marcar o movimento do P e do Ca no organismo. O modelo original tinha 4 compartimentos representando o trato gastrointestinal, plasma, tecidos moles, e ossos. No modelo revisado, valores instantâneos ao invés de médias derivadas do compartimento foram incorporados, e o modelo foi ampliado para representar a absorção e excreção do P do fitato. As correções aperfeiçoaram o modelo, resultando em maiores fluxos entre o plasma e ossos do que entre o plasma e os tecidos resultando assim em uma representação mais acurada do metabolismo do fósforo. O metabolismo do fósforo e do cálcio foi avaliado conjuntamente usando o modelo revisado. Os resultados mostraram que o metabolismo desses minerais possui uma estreita relação como foi evidenciada pela razão desses minerais nos fluxos bi-direcionais entre o plasma e os ossos e entre o plasma e os tecidos. A digestibilidade do P do fitato foi 47,3%, e a retenção do P foi negativa (-1,4 g/d) sugerindo que alguma característica da dieta prejudicou a utilização do P levando à deficiência do mesmo. O modelo revisado fornece uma predição mais acurada do metabolismo do P e do Ca a qual pode ser usada para avaliar a exigência desses minerais e estimar perdas no ambiente.

Abstract

The objective of the study was to revise a model of phosphorus (P) kinetics proposed by Vitti and extend its use to study calcium (Ca) flows in growing sheep. Twelve Santa Inês male sheep, 8 mo of age with average weight of 31,6 kg were injected with ^{32}P and ^{45}Ca to trace the movement of P and Ca in the body. The original model had 4 pools representing the gut, plasma, soft tissues, and bone. In the revised model, instantaneous values rather than averages for pools derivatives were incorporated, and the model was extended to represent absorption and excretion of phytate P explicitly. The amendments improved the model, resulting in higher flows between plasma and bone than between plasma and tissue and, therefore, a more accurate representation of P metabolism. Phosphorus and Ca metabolism were then assessed conjointly using the revised model. The results showed that P and Ca metabolism are closely related as evidenced by the ratio of these minerals in the bi-directional flows between plasma and bone and between plasma and tissue. Phytate P digestibility was 47 %, and P retention was negative ($-1,4$ g/d) suggesting a feed characteristic impaired P utilization leading to P deficiency. The revised model provides an improved prediction of P and Ca metabolism which can be used to assess mineral requirements and to estimate losses to the environment.

3.1 INTRODUÇÃO

O metabolismo do fósforo (P) tem sido estudado por muitos anos, mas o atual foco no ambiente tem aumentado o interesse nesse mineral (Valk et al., 2000). Além disso, o excesso de P excretado nas fezes representa um custo desnecessário para os produtores. O conhecimento sobre o conteúdo do mineral disponível nos ingredientes e a qualidade do P, assim como a compreensão da cinética do P, começa a ter impacto na suplementação do P (Bravo et al., 2003).

O cálcio (Ca) pode influenciar a utilização do P devido a forte correlação metabólica desses minerais (Tamim e Angel, 2003) que estão presentes principalmente nos ossos como sal de hidroxiapatita e são mobilizados quando as exigências do animal não são atendidas pela dieta. Como exemplo da relação existente entre esses minerais, Chapuis-Lardy et al. (2004) reportaram que o calcário usado como suplemento de Ca na dieta poderia ter afetado a excreção de Ca e P nas fezes devido à formação do complexo Ca-P ao longo do trato digestivo, reduzindo a disponibilidade dos dois minerais.

Rações baseadas em grãos de cereais são usadas para promover o rápido crescimento dos ruminantes. No entanto, a incorporação de cereais nas dietas acarreta no aumento da quantidade do P na forma de fitato, fato que torna importante a avaliação da digestibilidade do fitato nos ruminantes alimentados com dietas baseadas em cereais. O P do fitato é hidrolizado pela fitase produzida pelos microorganismos do rúmen, no entanto a eficiência das enzimas pode ser alterada por diferentes fatores como o tratamento do alimento (Bravo et al., 2002), presença do cálcio e magnésio (Dutton e Fontenot, 1967), pH do rúmen, e a quantidade do P do fitato presente na dieta (Ellis e Tillman, 1961).

O uso da técnica da diluição isotópica fornece informação sobre o P endógeno, o qual representa uma grande parte do P excretado nas fezes. Além disso, é possível estudar a

cinética do P e melhorar os modelos para estudo do metabolismo do P. Um modelo com 4 compartimentos foi proposto por Vitti et al. (2000) para avaliar o metabolismo desse mineral em caprinos em crescimento. O metabolismo do P e do Ca estão relacionados e são similares. Assim, o objetivo desse estudo foi revisar o modelo Vitti e aplicá-lo no estudo dos fluxos de P e Ca em ovinos em crescimento, resultando no melhor entendimento do metabolismo desses minerais nos ruminantes.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Procedimento experimental

Animais e dietas.

Doze ovinos machos da raça Santa Inês, com 8 meses de idade e pesando em média 31,6 kg, foram inicialmente alocados no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Universidade de São Paulo durante 21 dias. A dieta basal foi composta de bagaço de cana hidrolizado, milho, farelo de soja, mistura mineral, e uréia, e foi suplementada com uma das 3 diferentes fontes de Ca: calcário, polpa cítrica e farinha de conchas de ostras. A dieta basal sem o farelo de soja foi suplementada com feno de alfafa como fonte de Ca (Tabela 3.1).

Foram estudados 4 tratamentos com diferentes fontes de Ca, onde havia 3 animais para cada tratamento. As dietas foram formuladas para atender às exigências nutricionais dos ovinos de acordo com NRC (1985) e para fornecer níveis iguais de Ca e P (Tabela 3.2). As dietas foram fornecidas duas vezes ao dia as 8 e 17 h.

Tabela 3.2 - Ingredientes da dieta e composição das dietas fornecidas aos ovinos contendo diferentes fontes de cálcio

Ingredientes, g/kg MS	Calcário	Feno de alfafa	Polpa cítrica	Farinha de conchas de ostras
Calcário	13	-	-	-
Feno de alfafa	-	450	-	-
Polpa cítrica	-	-	300	-
Farinha de conchas de ostras	-	-	-	12
Milho	400	400	140	395
Bagaço de cana hidrolizado	420	138	394	436
Farelo de soja	150	-	150	140
Uréia	7	5	6	7
Fosfato monoamônio	5	2	5	5
Suplemento mineral ¹	5	5	5	5

¹Composição: Cl, 219 mg/g; Na, 145 mg/g; S, 70 mg/g; Mg, 10 mg/g; Zn, 4,6 mg/g; Mn, 1,1 mg/g; Fe, 0,50 mg/g; Ca, 0,30 mg/g; Cu, 0,30 mg/g; I, 80 mg/kg; Co, 40 mg/kg; Se, 15 mg/kg.

Após o período de adaptação, os animais foram alojados em gaiolas de metabolismo designadas para estudos com isótopos e cada animal recebeu uma única dose de 7,4 MBq de ³²P e 7,4 MBq de ⁴⁵Ca em 1 ml de solução salina, injetada através da veia jugular antes de terem sido alimentados. O fósforo radioativo (Na₂H³²PO₄) foi adquirido no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN, São Paulo, Brasil. Amostras de sangue foram coletadas da jugular aos 5 min, 1, 2, 4, 6, e 24 h depois da injeção e depois a cada 24 h, com a última coleta às 144 h. Os balanços de P e Ca foram registrados diariamente durante 7 d através da coleta das sobras de alimentos, fezes e urina, e as amostras (10% da coleta) foram armazenadas para subsequente análise. Depois do término do período de coletas, os animais foram sacrificados utilizando-se injeção intravenosa. O experimento foi executado após a aprovação da Comissão de Ética em Experimentação com Animais do CENA.

Tabela 3.1 - Composição química dos ingredientes da dieta (g/kg MS)

Ingredientes	MS	P	P ^b	Ca	FDA	FDN	PB
Farelo de soja	872	7,3	4,72	2,8	12,2	19,1	51,2
Milho	876	2,5	1,90	0,3	4,6	47,7	9,0
Feno de alfafa	829	3,9	0,82	11,5	29,5	40,9	23,1
Bagaco de cana	735	0,5	0,32	0,9	54,4	58,9	2,0
Polpa cítrica	917	1,2	0,54	15,5	28,9	23,8	7,5
Farinha de conchas	990	0,5	-	411,0	-	-	-
Calcário	999	0,1	-	386,0	-	-	-
MAP ^a	982	250	-	4,5	-	-	-
Mistura mineral	992	0,5	-	1,3	-	-	-

^aFosfato monoamônio

^bP do fitato

Análise das amostras.

As amostras dos alimentos e das sobras dos alimentos foram analisados para determinação da MS, PB, P, Ca, FDN, e FDA. A proteína bruta foi determinada através do método de Kjeldahl, FDA segundo as recomendações da AOAC (1995) e FDN de acordo com Mertens (2002). A determinação do P do fitato das amostras foi feita de acordo com Latta e Eskin (1980).

No final do período de 7 dias de coletas, as amostras das coletas diárias das dietas, sobras dos alimentos, fezes, e urina foram reunidas, totalmente misturadas, e sub-amostras foram retiradas. As sub-amostras do alimento fornecido, sobras, e fezes foram secas em estufas a 40°C durante 48 h, e moídas para passar em peneiras de 1 mm, sendo posteriormente armazenadas para análise.

O P foi determinado por colorimetria (Sarruge e Haag, 1974) e o Ca através de espectrometria de absorção atômica (Zagatto et al., 1979). As amostras de sangue foram centrifugadas e o plasma foi separado. Após precipitação da proteína (1 ml plasma e 9 ml de

100 g/L de ácido tricloroacético) o P inorgânico foi determinado pelo método de Fiske e Subbarow (1925). Amostras diárias de urina (30 ml) foram coletadas e acidificadas com gotas de HCl 12 N para evitar a volatilização da amônia, e depois foram secas (55°C) e queimadas em mufla para obtenção das cinzas (500°C).

As amostras de fezes foram secas a 105°C, queimadas a 500°C, e as cinzas foram dissolvidas em 5 ml de HCl concentrado. O P total foi determinado usando-se reagentes vanadato-molibdato no método de colorimetria (Sarruge e Haag, 1974).

Modelo Revisado

A revisão do modelo Vitti é mostrada na figura 1. Como o original, o modelo contém 4 compartimentos: P em 1) trato gastrointestinal, 2) plasma, 3) ossos, e 4) tecidos moles. Os fluxos do P entre os compartimentos e os fluxos de entrada e saída do sistema são representados pelas setas. Os compartimentos que representam o trato gastro intestinal, ossos e tecidos moles sofrem trocas em duas direções com o compartimento do plasma, representadas pelos fluxos F_{21} e F_{12} , F_{23} e F_{32} , F_{24} e F_{42} respectivamente. A entrada do P no sistema ocorre através da ingestão, F_{10} , e a saída através das fezes, F_{01} , e urina, F_{02} . Adicionalmente, F_{10} é dividido em P do fitato e P de origem diferente do fitato (P não-fitato origem), e F_{01} e F_{21} são divididos em P do fitato da dieta, P endógeno reciclável, e P não-fitato origem presente na dieta (Fig. 3.1).

O fósforo marcado foi administrado intravenosamente como dose única (D) no tempo zero, e os tamanhos e atividades específicas dos compartimentos dos ossos e tecidos moles foram medidos após 7 dias. O esquema assume que não existe reentrada de P marcado de fontes externas. A repetição das amostras de sangue permite que a inclinação da curva de decaimento da atividade específica seja determinada.

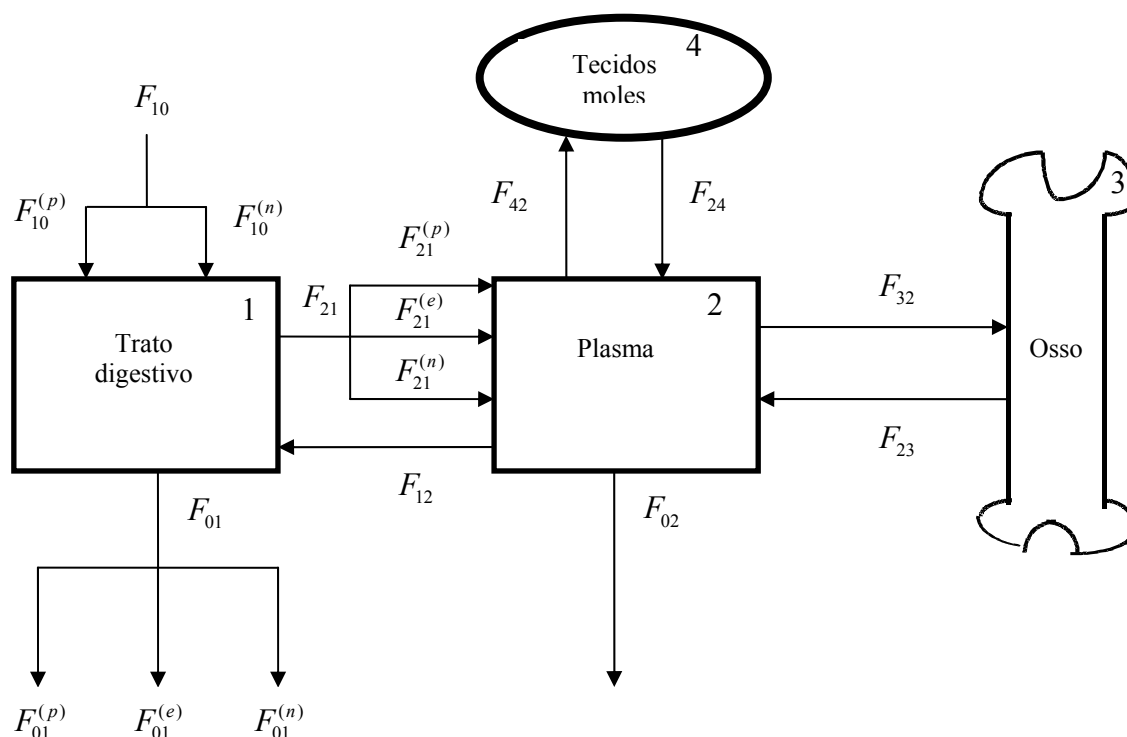


Figura 3.1 - Representação esquemática do modelo revisado do metabolismo do fósforo em ovinos em crescimento mostrando o P do fitato. F_{ij} representam o fluxo total do compartimento i para j , F_{10} denota ingestão de P, F_{01} excreção de P nas fezes, F_{02} excreção de P na urina. Os fluxos F_{10} , F_{01} , e F_{21} são divididos como indicados, com sobrescritos (p) , (e) , e (n) representando o P do fitato da dieta, P endógeno reciclável, e P não-fitato de origem da dieta, respectivamente.

Após 7 dias, assume-se que o compartimento 1 (trato digestivo) está em completo equilíbrio (equilíbrio isotópico e não isotópico) e o compartimento 2 (plasma) em equilíbrio não isotópico. A solução algébrica do modelo (segundo Vitti et al., 2000; ver Tabela 3.3 para as principais equações matemáticas) então será:

Tabela 3.3 - Principais símbolos usados no modelo

F_{ij}	Fluxo total de P (Ca) para o compartimento i de j ; F_{i0} indica um fluxo externo no compartimento I e F_{0j} um fluxo do compartimento j para fora do sistema; parâmetro em negrito indica um fluxo que pode ser medido experimentalmente: g/d.
D	Dose de ^{32}P (^{45}Ca) administrado no sangue no tempo zero: dpm
Q_i	Quantidade de P ou Ca no compartimento i : g
q_i	Quantidade de ^{32}P e (^{45}Ca) no compartimento i : dpm
R_i	Taxa de troca da atividade específica do compartimento i : dpm/d
s_i	Atividade específica do compartimento i ($= q_i/Q_i$): dpm/g
t	Tempo: d

$$F_{12} = s_1 \mathbf{F}_{10} / (s_2 - s_1) \quad (1)$$

$$F_{21} = \mathbf{F}_{10} + F_{12} - \mathbf{F}_{01} \quad (2)$$

$$F_{32} = s_3 R_2 Q_3 / [s_2 (s_2 - s_3)] \quad (3)$$

$$F_{42} = s_4 R_2 Q_4 / [s_2 (s_2 - s_4)] \quad (4)$$

$$|F_{23} + F_{24}| = \mathbf{F}_{02} + F_{12} + F_{32} + F_{42} - F_{21} \quad (5)$$

$$F_{24} = (s^* - s_3) \times |F_{23} + F_{24}| / (s_4 - s^*) \quad (6)$$

$$F_{23} = |F_{23} + F_{24}| - F_{24} \quad (7)$$

onde o **negrito** indica os fluxos determinados experimentalmente, e onde a atividade específica do compartimento formado pela combinação dos compartimentos 3 e 4 será:

$$s^* = \frac{s_3 Q_3 + s_4 Q_4}{Q_3 + Q_4} \quad (8)$$

e a taxa de troca da atividade específica do compartimento 2 será:

$$R_2 = \frac{ds_2}{dt} \quad (9)$$

Os valores de s_2 e R_2 para os 7 dias foram obtidos após o ajuste na equação da curva de decaimento da atividade específica do plasma, onde t (d) é o tempo desde a administração da dose, e a (dpm/g) e b (/d) são parâmetros:

$$s_2(t) = ae^{-bt} \quad (10)$$

A taxa instantânea de troca resultante quando se diferencia a equação em relação ao tempo é igual a:

$$\frac{ds_2(t)}{dt} = -abe^{-bt} \quad (11)$$

a qual permite o cálculo de R_2 para o sétimo dia.

As equações para calcular F_{32} e F_{42} (eq. 3 e 4 acima) diferem das equações apresentadas por Vitti et al. (2000) (eq. 20 e 21 do trabalho original). Para resolver o modelo Vitti original, foram utilizadas as médias ao invés dos valores instantâneos de ds_3/dt e ds_4 para derivar as equações (20) e (21). Equações 20 e 21 apresentadas no trabalho Vitti et al. (2000):

$$F_{32} = s_3Q_3/[8(s_2 - s_3)] \quad (20)$$

$$F_{42} = s_4Q_4/[8(s_2 - s_4)] \quad (21)$$

Os valores instantâneos para ds_3/dt e ds_4/dt foram usados no presente estudo para derivarem as eq. (3) e (4), obtidas através do pressuposto que as taxas relativas de troca das atividades específicas dos compartimentos 2, 3 e 4 são as mesmas após 7 dias, i.d.

$$\frac{1}{s_2} \frac{ds_2}{dt} = \frac{1}{s_3} \frac{ds_3}{dt} = \frac{1}{s_4} \frac{ds_4}{dt}$$

Se a ingestão de fitato P ($F_{10}^{(p)}$) é medida então a excreção de P nas fezes, F_{01} , e absorção, F_{21} , podem ser divididas entre fontes de P usando as seguintes equações:

$$F_{01}^{(p)} = z_p F_{01} \quad (12)$$

$$F_{01}^{(e)} = z_e F_{01} \quad (13)$$

$$F_{01}^{(n)} = F_{01} - F_{01}^{(p)} - F_{01}^{(e)} \quad (14)$$

$$F_{21}^{(p)} = z_p F_{21} \quad (15)$$

$$F_{21}^{(e)} = z_e F_{21} \quad (16)$$

$$F_{21}^{(n)} = F_{21} - F_{21}^{(p)} - F_{21}^{(e)} \quad (17)$$

onde

$$z_p = F_{10}^{(p)} / F_{10} + F_{12} \quad (18)$$

$$z_e = F_{12} / F_{10} + F_{12} \quad (19)$$

O sobrescrito (p) denota o P de origem do fitato da dieta, (e) P endógeno reciclável, e (n) P não-fítico de origem na dieta. O modelo é resolvido computando eq. (1)-(19).

3.2.2 Análise estatística

Os dados experimentais da ingestão e excreção de P, P total nos ossos e tecidos, e atividades específicas foram avaliados como delineamento inteiramente casualizado, assim como os fluxos calculados no modelo. As variáveis foram submetidas à análise de variância usando-se o procedimento General Linear Model, GLM (SAS, 1999) e o procedimento LSMEANS foi usado para calcular as médias e erros padrões. A análise de regressão foi realizada através do procedimento PROC REG.

A comparação entre os valores observados e preditos das atividades específicas do P e do Ca no plasma, fitato ($F_{01}^{(p)}$) e demais P ($F_{01}^{(e)} + F_{01}^{(n)}$) excretado nas fezes foi feita usando-se o quadrado médio do erro da predição (QMEP), calculado como:

$$QMEP = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (O_i - P_i)^2 \quad (20)$$

onde n é o número de observações, O_i e o valor observado, e P_i e o valor predito. A raiz QMEP, expressa em proporção à média observada, fornece a estimativa do erro geral da predição. O QMEP foi decomposto em erro devido à variação na casualização (EC), erro devido ao desvio do coeficiente de inclinação da regressão (“slope” ou regressor) em relação à unidade (ER), e erro devido ao viés médio (EV) (Bibby e Toutenburg, 1977).

3.3 RESULTADOS

Fósforo

Os fluxos de P são representados pela letra F . A ingestão de P F_{10} (Tabela 3.4) foi adequada para ovinos em crescimento de acordo com NRC (1985). A excreção total de P nas fezes F_{01} (Tabela 3.4) foi maior do que a ingestão levando à retenção negativa do P (-1.40 g/d). As atividades específicas e o P presente na urina, plasma, ossos e tecidos moles também estão representados na tabela 3.4.

Tabela 3.4 – Ingestão e excreção de fósforo e cálcio, atividades específicas, e outras medidas experimentais

Ítem	P			Ca		
	Símbolo ^{ab}	g/d	SEM	Símbolo ^{ab}	g/d	SEM
Fluxos						
Ingestão	F_{10}	3,19	0,25	G_{10}	5,26	0,40
Fitato	$F_{10}^{(p)}$	1,29	0,09	-	-	-
Não-fitato	$F_{10}^{(n)}$	1,89	0,17	-	-	-
Fezes	F_{01}	4,47	0,53	G_{01}	5,10	0,51
Fitato	$F_{01}^{(p)}$	0,68	0,08	-	-	-
Não-fitato	$F_{01}^{(n)} + F_{01}^{(e)}$	3,79	0,49	-	-	-
Urina	F_{02}	0,12	0,03	G_{02}	0,07	0,02
AE						
		dpm/g			dpm/g	
Fezes	$s_{1,P}$	0,0074	0,0006	$s_{1,Ca}$	0,0010	0,0002
Plasma ^c	$s_{2,P}$	0,0132	0,0008	$s_{2,Ca}$	0,0034	0,0003
Ossos	$s_{3,P}$	22,5	3,3	$s_{3,Ca}$	44,2	3,6
Tecidos moles	$s_{4,P}$	60,8	8,2	$s_{4,Ca}$	107,8	38,9
Oso + tecidos moles	s^*_{P}	26,6	2,9	s^*_{Ca}	44,8	3,6
Tamanho dos compartimentos						
		g			g	
Plasma	$Q_{2,P}$	0,123	0,08	$Q_{2,Ca}$	0,139	0,010
Ossos	$Q_{3,P}$	129,5	9,0	$Q_{3,Ca}$	255	20,5
Tecidos moles	$Q_{4,P}$	16,1	1,31	$Q_{4,Ca}$	2,69	0,40

^a Maioria dos símbolos de acordo com a Figura 3.1 e Tabela 3.3, demais ver no texto.

^b s^* = AE combinada dos ossos e tecidos. ^c Valores projetados para 168 h.

A excreção total de P nas fezes foi separada em P do fitato da dieta ($F_{01}^{(p)}$), P não-fitato da dieta ($F_{01}^{(n)}$) e P endógeno ($F_{01}^{(e)}$) (Figura 1). Os valores medidos e preditos de $F_{01}^{(p)}$ e $F_{01}^{(n)} + F_{01}^{(e)}$ assim como os valores preditos e medidos da atividade específica do P no plasma às 144 h estão representados na Tabela 3.5.

Tabela 3.5 – Valores observados e preditos da atividade específica do Ca e P no plasma (AE-144 hs), e excreção fecal do P do fitato P e demais P

	Média observada	Média predita	Total MSPE ¹	QMEP ¹			Raiz QMEP ⁵
				EV ²	ER ³	EC ⁴	
AE, dpm/g							
P Plasma	0,0149	0,0152	$3,2 \times 10^{-6}$	$7,9 \times 10^{-8}$	$5,7 \times 10^{-7}$	$2,5 \times 10^{-6}$	0,0017
Ca Plasma	0,0045	0,0044	$1,9 \times 10^{-7}$	$8,4 \times 10^{-9}$	$3,9 \times 10^{-8}$	$1,4 \times 10^{-7}$	0,0004
Excreção nas fezes, g/d							
$F_{01}^{(p)}$	0,68	0,80	0,11	0,014	0,026	0,068	0,318
$F_{01}^{(e)} + F_{01}^{(n)}$	3,79	3,67	0,11	0,014	0,000	0,094	0,318

¹quadrado médio do erro da predição;

²erro devido ao viés médio;

³erro devido ao desvio da inclinação da regressão da unidade;

⁴erro devido à variação pela casualização;

⁵raiz do quadrado médio do erro da predição expressa como proporção da média observada.

Os resultados das análises do P nas fezes foram: P endógeno das fezes 2,50 g/d, P fecal de origem do fitato da dieta 0,68 g/d, e P das fezes de origem do P não-fitato da dieta 1,29 g/d, onde essas frações representam 56; 15,2 e 28,9 % do F_{01} , respectivamente. Os resultados foram obtidos a partir das seguintes fórmulas:

$$\text{P endógeno (P}_e\text{)} = (\text{AE fezes}^*/ \text{AE plasma}^*) \times \text{P fezes (Lofgreen e Kleiber, 1953)} \quad (21)$$

$$\text{P não fitato da dieta} = \text{P total nas fezes} - (\text{P endógeno} + \text{P fitato}) \quad (22)$$

O P total excretado nas fezes foi positivamente relacionado com o P ingerido, onde:

$$F_{01} = 0,45(\pm 0,10)F_{10} + 1,25(\pm 0,47) \quad (n = 12, R^2 = 0,65) \quad (23)$$

*AE referente às 168hs.

O fósforo absorvido F_{21} foi também separado nas mesmas três frações (ver equações 15, 16 e 17). Os valores médios para as frações de P absorvido $F_{21}^{(p)}$ e $F_{21}^{(n)} + F_{21}^{(e)}$ foram 0,49 e 2,59 g/d, respectivamente.

Os fluxos de P entre os compartimentos estão representados na Tabela 3.6.

Tabela 3.6 – Fluxos de P e Ca calculados usando o modelo revisado ¹

Fluxo	P			Ca		
	Símbolo	Fluxo, g/d	SEM	Símbolo	Fluxo, g/d	SEM
TGI para plasma	F_{21}	3,08	0,62	G_{21}	2,72	0,91
Plasma para TGI	F_{12}	4,37	0,8	G_{12}	2,56	0,7
Plasma para osso	F_{32}	22,9	2,3	G_{32}	59,2	5,95
Osso para plasma	F_{23}	23,8	2,38	G_{23}	59,1	5,92
Plasma para tecido	F_{42}	2,83	0,28	G_{42}	0,64	0,12
Tecido para plasma	F_{24}	3,35	0,33	G_{24}	0,65	0,13

¹ Valores mostrados são médias de 12 animais.

Cálcio

Os fluxos de Ca estão representados pela letra G . O Ca ingerido (G_{10}), excretado nas fezes (G_{01}) e na urina (G_{02}) estão representados na Tabela 2.4. A ingestão de Ca atendeu às necessidades estabelecidas pelo NRC (1985) para ovinos em crescimento. O valor obtido para retenção de Ca foi 0,09 g/d e apresentou relação linear com a absorção de Ca (G_{21}) como mostra a equação:

$$\text{Ca retido} = 0,24(\pm 0,23)G_{21} - 0,65(\pm 0,05) \quad (n = 12, R^2 = 0,65) \quad (24)$$

O valor do Ca total excretado nas fezes aumentou diretamente com o Ca ingerido, como está apresentado na equação:

$$G_{01} = 1,0(\pm 0,21)G_{10} - 0,36(\pm 1,18) \quad (n = 12, R^2 = 0,69) \quad (25)$$

As atividades específicas e os demais valores de Ca estão resumidos na Tabela 2.4. Os valores preditos e medidos da atividade específica do Ca no plasma as 144 h estão representados na Tabela 3.5.

Cálcio e fósforo

As quantidades de P e Ca ingeridas (F_{10} e G_{10}) foram as mesmas para todas as dietas, justificando a reunião dos dados dentro de um único grupo de dados. As dietas representaram 4 tratamentos, cada uma suplementada com diferentes fontes de Ca, sendo estas: polpa cítrica, calcário, feno de alfafa, e farinha de conchas de ostras. O procedimento GLM do SAS (1999) foi usado para avaliar os efeitos de diferentes fontes de Ca sobre a cinética do Ca e do P. No entanto, utilizando-se o modelo Vitti original, não foi observado efeito significativo (dados não apresentados).

A razão Ca:P presente nos ossos determinada experimentalmente foi 1,97 (Tabela 3.4) e a presente nos tecidos foi 0,17. A razão Ca:P para a mobilização dos ossos (G_{23}/F_{23}) foi 2,50 e para a incorporação (G_{32}/F_{32}) foi 2,58. Essas razões foram correlacionadas entre si como mostram as equações:

$$G_{23}/F_{23} = 0,91(\pm 0,029) G_{32}/F_{32} + 0,13(\pm 0,08) \quad (n = 12, R^2 = 0,99) \quad (26)$$

A razão Ca:P mobilizada do tecido para o plasma (G_{24}/F_{24}) foi 0,20 e a incorporada nos tecidos (G_{42}/F_{42}) foi 0,23 e ambas foram correlacionadas:

$$G_{24}/F_{24} = 0,81(\pm 0,020) G_{42}/F_{42} + 0,007(\pm 0,005) \quad (n = 12, R^2 = 0,99) \quad (27)$$

O Ca excretado nas fezes aumentou com a excreção de P nas fezes:

$$G_{01} = 0,70(\pm 0,20)F_{01} + 1,93(\pm 0,98) \quad (n = 12, R^2 = 0,54) \quad (28)$$

Os fluxos de Ca entre os compartimentos estão resumidos na Tabela 3.6.

3.4. DISCUSSÃO

O P do fitato presente nos ingredientes foi similar àqueles reportados por outros pesquisadores para o milho moído (Eeckhout e De Paepe, 1994; Viveros et al., 2000) e farinha de soja (Morse et al., 1992b; Ravindran et al., 1994). Para o feno de alfafa, o P do fitato foi maior do que o citado por Morse et al. (1992b), embora seja comparável ao valor citado por Ravindran et al. (1994) para dietas folhosas. Diferenças nos valores do P do fitato presente no feno de alfafa podem estar relacionadas com fatores como a idade da planta, cultivar, condições de processamento, altura do corte, número de observações por ingrediente, assim como os métodos analíticos utilizados (Eeckhout e De Paepe, 1994).

O valor do P do fitato digerido foi 0,61 g/d ($F_{10}^{(P)} - F_{01}^{(P)}$), resultando na digestibilidade de 47% ($((F_{10}^{(P)} - F_{01}^{(P)}) \times 100 / F_{10}^{(P)})$). Esse resultado é menor do que alguns resultados relatados na literatura (Skrivanova et al., 2004; Kebreab et al., 2005).

Os valores preditos para $F_{01}^{(p)}$ e $F_{01}^{(e)} + F_{01}^{(n)}$ foram relacionados com os valores medidos como mostra a análise QMEP na Tabela 3.5. As porcentagens de EC foram iguais a 60% para $F_{01}^{(p)}$ e 85% para $F_{01}^{(e)} + F_{01}^{(n)}$. Para ambas as predições, a maior proporção do QMEP foi devido à variação na casualização do grupo de dados. A utilização do P pelos animais apresenta grande variação entre os mesmos (Field et al., 1983; Rapp et al., 2001), sendo então razoável afirmar que as porcentagens de EC indicam uma predição satisfatória. Houve uma pequena super-predição para $F_{01}^{(p)}$, e uma pequena sub-predição para $F_{01}^{(e)} + F_{01}^{(n)}$ com a média do viés contribuindo com 13% do QMEP para ambos. O ER foi igual a 26 e 0% para $F_{01}^{(p)}$ e $F_{01}^{(e)} + F_{01}^{(n)}$, respectivamente.

Os fluxos F_{21} e G_{21} representam o fluxo total de P e Ca do trato digestivo para o plasma sendo que esse fluxo foi maior para o P (Tabela 3.6). No entanto, os valores digeridos

do P e do Ca de origem da dieta foram iguais a 1,22 e 1,48 g/d respectivamente, resultando nas digestibilidades 39 e 28%, respectivamente para o P e para o Ca. Os baixos valores de absorção e digestibilidade do P estão relacionados com a baixa digestibilidade do P do fitato, a qual provavelmente afetou a absorção do Ca assim como sua disponibilidade.

A digestibilidade do P do fitato foi maior do que a digestibilidade do P de origem diferente do fitato. Tal fato pode ser explicado se a hidrólise do P do fitato ocorreu no intestino grosso, levando a super estimativa da absorção do P do fitato, pois o P do fitato hidrolisado pode ter sido medido como P inorgânico nas fezes (Godoy and Meschy, 2001; Matsui, 2002; Shen et al., 2005). Além disso, é improvável que o P do fitato digerido no intestino grosso tenha algum significado nutricional para os ruminantes (Park et al., 2002) pois a absorção do P ocorre no intestino delgado (Pfeffer et al., 1970; Grace et al., 1974; Care, 1994). Por outro lado, o P de não-fitato origem pode ter tido sua digestibilidade diminuída.

Os valores preditos para as atividades específicas do P e Ca no plasma 144 h após a injeção do radioisótopo foram muito próximos dos valores observados como mostra a análise QMEP. As porcentagens do total QMEP representadas pela EV, ER, e EC foram 3, 18 e 79%, respectivamente para o P e 4, 21 e 74%, respectivamente para o Ca. Essas porcentagens mostram que os valores projetados para as atividades específicas instâneas do P e do Ca no plasma relativos às 168 h depois da injeção do radioisótopo são comparáveis aos valores medidos e, portanto podem ser utilizados nos cálculos para determinação dos fluxos entre os compartimentos do modelo.

O uso de valores instantâneos para as derivações dos compartimentos baseados nas atividades específicas projetadas do plasma, substituindo os valores médios para as derivações, aumentou a credibilidade do modelo Vitti et al. (2000), que ficou mais condizente com a realidade. Essa afirmativa é confirmada pelo fato de que os fluxos entre o plasma e os ossos foram maiores do que os fluxos entre os tecidos e o plasma (Tabela 3.6), pois se sabe

que 80 a 85% do P total presente no organismo animal está presente nos ossos, os quais representam uma importante reserva de Ca e P que pode ser mobilizada para atender as funções do animal. Por outro lado, o P presente nos tecidos moles também pode ser mobilizado, mas em menores proporções. Assim, o modelo revisado reflete com maior acurácia a presença de maiores quantidades de P e Ca depositados e reabsorvidos dos ossos.

Embora os animais tenham ingerido as quantidades exigidas de Ca e P, a alta excreção de P (F_{01}) e Ca (G_{01}) causou a baixa retenção dos dois minerais. A relação entre F_{01} e G_{01} sugere a formação de um complexo Ca-P nas fezes, a qual está de acordo com as observações de Chapuis-Lardy et al. (2004), que sugeriram que o Ca nas fezes tem importante impacto na proporção do P solúvel em água do P total excretado nas fezes das vacas em lactação.

O P mobilizado dos ossos (F_{23}) foi maior do que o P absorvido (F_{32}) (Tabela 3.6). Esses dados estão de acordo com Vitti et al. (2000) que, estudando o metabolismo de caprinos em crescimento alimentados com diferentes níveis de P, sugeriram que a mobilização do P ósseo ocorre para manutenção do metabolismo em animais em crescimento, devido à alta demanda de P do organismo. No entanto, os valores de reabsorção dos tecidos (F_{24}) maiores que a absorção nos tecidos (F_{42}) sugerem que, assim como a mobilização do P ósseo, os animais estavam mobilizando P dos tecidos para atender suas demandas. É bem sabido que os animais são capazes de mobilizar o Ca e o P de acordo com suas necessidades. De acordo com Valk et al. (2002), as vacas em lactação mobilizam P das reservas corporais para compensarem a excreção do P no leite e nas fezes. No presente trabalho, a baixa digestão do P provavelmente prejudicou a utilização do P da dieta, levando à deficiência e a conseqüente mobilização do P ósseo e dos tecidos.

A razão Ca:P nos ossos foi 1,97, mas a razão desses minerais mobilizada e incorporada nos ossos foi 2,49 e 2,59, respectivamente. A proporção encontrada nos ossos se aproxima da estequiometria da hidroxiapatita (Ca:P razão 2,15:1,0), que é a fonte de P

disponível nos ossos para regulação do P no plasma. As maiores razões de Ca:P mobilizadas e incorporadas em relação a razão presente na hidroxiapatita sugerem que, como o G_{32} foi um pouco maior que o G_{23} , o mineral presente nos ossos poderia ser diferente da hidroxiapatita. Shapiro e Heaney (2003) relataram que ratos suplementados com Ca mostraram maiores razões de Ca:P nos ossos, possivelmente devido à presença de cristais amorfos contendo grande quantidade de carbonato de cálcio.

Ovinos jovens na fase de crescimento foram usados nesse estudo, e assume-se que esses animais têm grande habilidade de adaptação à deficiência de Ca e P, e que reabsorção e formação óssea podem acontecer simultaneamente.

As relações obtidas entre as razões de Ca:P mobilizadas e incorporadas nos ossos e tecidos moles confirmam a afirmação de que esses minerais estão estreitamente relacionados e, por isso, pode-se supor que a baixa digestibilidade do P resultou na menor digestibilidade do Ca. No entanto, os mecanismos envolvidos não são claros e mais pesquisas são necessárias para avaliar esse assunto. A concentração de P no plasma (9,5 mg/dl) foi mais elevada que os valores normais. Como o P do plasma é influenciado pela mobilização do P ósseo e os animais diminuem suas reservas ósseas para atender às funções metabólicas (Wu et al., 2001), o P provavelmente foi mobilizado dos ossos para manter o nível de P do plasma. Pode-se também especular que valores elevados do P no plasma acarretaram em elevadas concentrações de P salivar. De acordo com Valk et al. (2002), existe uma relação direta e positiva entre o P presente no plasma e as concentrações do P da saliva. Como o P endógeno presente nas fezes ($F_{01}^{(e)}$) tem origem principalmente na secreção salivar, pode-se supor que a secreção de P através da saliva reflete a tentativa de manter o metabolismo do P, ocasionando a elevada proporção do P endógeno presente no P total excretado nas fezes ($F_{01}^{(e)} / F_{01}$). A absorção das demais formas de P ($F_{21}^{(n)} + F_{21}^{(e)}$) maior do que a absorção do P do fitato ($F_{21}^{(p)}$) confirma essa suposição.

A excreção de P através da urina é considerada insignificante nos ruminantes, e está relacionada com a eficiência da absorção e a concentração do P no plasma em relação ao limiar renal (6,5 a 9,5 mg/dl) (Challa e Braithwaite 1988; Challa et al., 1989). No presente estudo, o P presente no plasma estava mais elevado do que o normal (9,5 mg/dl) apesar da retenção negativa de P. Assim, é provável que tal fato tenha favorecido a excreção de P na urina (F_{02}).

3.5 CONCLUSÕES

O uso de valores instantâneos substituindo as médias para as derivações dos compartimentos melhorou o modelo Vitti, resultando em saídas do modelo mais realistas. Apesar das diferenças individuais, os valores preditos para os fluxos do P do fitato se correlacionaram com àqueles observados, servindo como ponto inicial para futuras pesquisas. Os resultados obtidos do modelo revisado sugerem que os animais estavam deficientes em P e que tal fato afetou o metabolismo do Ca. O modelo Vitti revisado é apropriado para avaliar o metabolismo do P e do Ca, e é uma ferramenta útil para os estudos com P relacionados às exigências nutricionais e ao impacto ambiental.

4. APLICAÇÃO E COMPARAÇÃO DE DOIS MODELOS PARA ESTUDO DOS EFEITOS DE FONTES DE CÁLCIO EM OVINOS

Resumo

O objetivo dessa pesquisa foi avaliar e comparar dois modelos compartimentais através do estudo do efeito de diferentes fontes de Ca no metabolismo do Ca e do P. Vinte ovinos machos receberam uma dieta basal suplementada com diferentes fontes de Ca: calcário (C), feno de alfafa (FA), farinha de concha de ostra (FCO) e polpa cítrica (PC). Após 21 d, cada animal recebeu uma única dose de 7,4 MBq de Ca radioativo (^{45}Ca) e 7,4 MBq de fósforo radioativo (^{32}P) via jugular direita. O metabolismo do Ca e do P foi avaliado comparando-se os modelos Vitti-Dias (VD) e Fernandez-Lopes (FL). A avaliação foi feita através do contraste dos fluxos entre o trato gastrintestinal e o plasma, plasma e ossos, e plasma e tecidos. Não houve diferença entre a ingestão de Ca e P para os tratamentos. Os fluxos de Ca dos tecidos e ossos para o plasma e vice-versa foram similares para todos os tratamentos, embora a retenção líquida de Ca nos ossos e tecidos tenha sido maior para os tratamentos C e FCO e menor e também negativa para FA e PC ($P < 0,05$). Os resultados referentes à presença de Ca líquido nos ossos foram similares entre os modelos VD e FL, no entanto a retenção líquida de Ca nos tecidos foi um pouco maior para o modelo VD apesar de ambos mostrarem as mesmas tendências. A presença da pectina na PC e do oxalato no FA pode ter afetado o balanço de Ca nesses tratamentos. A absorção total de Ca foi maior para C ($P < 0,05$) nos dois modelos. A forma química do Ca presente nas diferentes fontes de Ca afetou o metabolismo do Ca, mas não o do fósforo. As fontes inorgânicas de Ca foram mais bem utilizadas. Ambos os modelos mostraram maior mobilização de P em relação à absorção nos ossos, sugerindo que os animais estavam retirando P dos ossos. Pode-se inferir que a

digestibilidade foi prejudicada e conseqüentemente a mobilização do P dos ossos ocorreu para suprir o P destinado para as funções metabólicas do animal. Ambos os modelos VD e FL mostraram o mesmo padrão para os fluxos de P, assim como para as retenções líquidas de P nos ossos e nos tecidos.

Abstract

The aim of this research was to assess and compare two compartmental models by studying the effect of different Ca sources on Ca and P metabolism. Twenty Brazilian male sheep received a basal diet supplemented with different sources of Ca: limestone (L), alfalfa hay (AH), shell meal (OSM) and citrus pulp (CTP). After 21 d, each animal was given, as a single dose via the right jugular vein, 7,4 MBq of radio-calcium (^{45}Ca) and 7,4 MBq of radio-phosphorus (^{32}P). Calcium and P metabolism were evaluated by comparing the Vitti-Dias (VD) and Fernández-Lopes (FL) models. The evaluation was done by contrasting flows between gut and plasma, plasma and bone, and plasma and tissue. There were no differences in Ca and P intakes for the treatments. Ca flows from tissue and bone to plasma and vice versa were similar for all treatments, though the net bone and net tissue Ca retentions were higher for treatments L and OSM and lower as well as negative for AH and CTP ($P < 0,05$). Net bone Ca results were similar between the VD and FL models, however net tissue Ca retention was slightly higher for VD model despite showing the same trends. The presence of pectin in CTP and oxalate in AH could have affected Ca balance in these treatments. Total Ca absorption was higher for L ($P < 0,05$) with both models. The chemical form of Ca present in the different sources affected its metabolism but did not affect P metabolism. The inorganic sources of Ca were better utilized. Both models showed higher P resorption than P absorption in bone, suggesting that the animals were mobilizing P. It could be inferred that impaired digestion induced P mobilization from bone to supply P for metabolic animal function. Both the VD and FL models showed the same pattern for the P flows, likewise for net bone and tissue P retentions.

4.1 INTRODUÇÃO

O cálcio e o fósforo são considerados os minerais mais importantes na nutrição dos ruminantes devido a sua presença em grandes quantidades no corpo do animal, principalmente na forma do sal de hidroxiapatita. Assim, os animais em crescimento precisam ser suplementados com quantidades adequadas desses minerais para alcançarem um desempenho satisfatório e uma mineralização adequada dos ossos. Diferentes alimentos são fornecidos como fontes de Ca para ruminantes, no entanto, existe pouca informação em relação à disponibilidade de Ca presente nessas fontes, prejudicando a precisão na formulação das rações.

As técnicas que utilizam radioisótopos permitem a obtenção de dados relativos à excreção endógena, assim como dados referentes à distribuição do mineral no corpo do animal. Especialmente para os ruminantes, onde a excreção endógena representa grande parte da excreção do P, essa informação é crucial para avaliar a absorção verdadeira assim como a digestibilidade verdadeira. Além disso, os traçadores radioativos permitem que a relação entre o Ca e o P seja estudada nos ossos onde a mobilização do Ca parece ser acompanhada pela mobilização do P (Braithwaite, 1983). O desenvolvimento de modelos compartimentais baseados nos dados de balanços e dados relativos aos radioisótopos facilitam a quantificação dos fluxos de Ca e P (Schneider et al., 1985).

O modelo Vitti-Dias (Vitti et al., 2000; Dias et al., 2006) foi utilizado para descrever o metabolismo do P em ruminantes em crescimento, enquanto que o modelo de Fernandez (1995) foi construído para estudar o metabolismo do Ca e do P em suínos em crescimento. No entanto, os dois modelos são baseados em princípios similares. Lopes et al. (2001) adaptou o modelo de Fernandez para avaliar o fluxo biológico de P em suínos alimentados com diferentes fontes de fosfato adicionando um novo compartimento para representar os tecidos.

O objetivo desse estudo foi comparar os modelos Vitti-Dias (VD) e Fernandez-Lopes (FL) através da avaliação dos efeitos de diferentes fontes de Ca no metabolismo do Ca e do P em cordeiros.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Procedimento experimental

Animais e dietas

Vinte ovinos machos da raça Santa Inês, com 8 meses de idade, pesando em média 31,6 kg foram alocados em gaiolas metabólicas, destinadas para estudos com isótopos, localizadas no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Universidade de São Paulo. Os animais receberam uma dieta basal suplementada com calcário (C), feno de alfafa (FA), polpa cítrica (PC) e farinha de conchas de ostras (FCO) (Tabela 4.1).

Todas as dietas foram compostas de quantidades adequadas de Ca e P de acordo com o NRC (1985). O alimento foi oferecido duas vezes por dia, as 8:00 e 17:00 hs.

Após o período de adaptação de 21 dias, uma dose combinada de 7,4 MBq de ^{45}Ca e 7,4 MBq de ^{32}P foi injetada na veia jugular direita de cada animal. Amostras de sangue foram coletadas aos 5 minutos, 1, 2, 4, 6 e 24 horas após a injeção e depois a cada 24 horas, com a última amostra sendo coletada às 144 h.

Tabela 4.1 – Ingredientes da dieta e composição das dietas fornecidas aos ovinos contendo diferentes fontes de cálcio

Ingredientes, g/kg MS	Calcário	Feno de alfafa	Polpa cítrica	Farinha de conchas
Calcário	13	-	-	-
Feno de alfafa	-	450	-	-
Polpa cítrica	-	-	300	-
Farinha de conchas de ostras	-	-	-	12
Milho	400	400	140	395
Bagaço de cana hidrolizado	420	138	394	436
Farelo de soja	150	-	150	140
Uréia	7	5	6	7
Fosfato monoamonio	5	2	5	5
Suplemento mineral ¹	5	5	5	5

¹Composição: Cl, 219 mg/g; Na, 145 mg/g; S, 70 mg/g; Mg, 10 mg/g; Zn, 4,6 mg/g; Mn, 1,1 mg/g; Fe, 0,50 mg/g; Ca, 0,30 mg/g; Cu, 0,30 mg/g; I, 80 mg/kg; Co, 40 mg/kg; Se, 15 mg/kg,

A partir da injeção, os dados de balanços de Ca e P foram calculados diariamente durante 7 dias. Amostras de urina e fezes foram coletadas as 7:00 hs e a excreção total de fezes foi pesada e moída para análises posteriores.

Análise das amostras

As amostras dos alimentos e das sobras foram quimicamente caracterizadas (Tabela 4.2) de acordo com AOAC (1995) e Mertens (2002).

Tabela 4.2 – Composição química dos ingredientes da dieta (g/kg DM)

Ingredientes	MS	P	Ca	FDA	FDN	PB
Farelo de soja	872	7,3	2,8	12,2	19,1	51,2
Milho	876	2,5	0,3	4,6	47,7	9,0
Feno de alfafa	829	3,9	11,5	29,5	40,9	23,1
Bagaco de cana	735	0,5	0,9	54,4	58,9	2,0
Polpa cítrica	917	1,2	15,5	28,9	23,8	7,5
Farinha de conchas	990	0,5	411,0	-	-	-
Calcário	999	0,1	386,0	-	-	-
MAP ^a	982	250	4,5	-	-	-
Mistura mineral	992	0,5	1,3	-	-	-

^aFosfato monoamonio.

O P total presente na dieta foi determinado por colorimetria (Sarruge e Haag, 1974) e o Ca através da espectrometria de absorção atômica (Zagatto et al., 1979).

As amostras de sangue foram centrifugadas para a separação do plasma e o sobrenadante foi usado para a análise de Ca através da espectrometria de absorção atômica (Zagatto et al., 1979) e para a análise de P através do método de Fiske e Subbarow (1925). As amostras de urina (30 ml) foram coletadas todos os dias e dissolvidas em 12 N HCL, secas (55 °C) e queimadas para obtenção das cinzas (500°C), e posterior determinação do Ca e do P (Sarruge e Haag, 1974) inorgânicos. As amostras de fezes foram secas a 100°C, queimadas a 500°C e as cinzas foram dissolvidas em 5 ml de 2 N HCl e depois o P foi determinado usando-se o método colorimétrico (Sarruge e Haag, 1974). O Ca total nas fezes foi determinado pela espectrometria de absorção atômica (Zagatto et al., 1979).

A radioatividade foi medida no contador de cintilação líquida e a correção para o *quen*ch (Horrocks e Peng, 1971) e o decaimento foram feitos através da técnica de padrões externos (método da razão de canais de fontes externas) (Nascimento Filho, 1977). As

amostras de fezes (1 g) foram secas (105°C) e queimadas (500°C) e logo após serem dissolvidas em ácido sulfúrico concentrado 18 N durante 1 h e as fezes solubilizadas foram usadas para contagem. As amostras das cinzas dos tecidos foram tratadas inicialmente com 10 ml de H₂SO₄ (1:1) e depois com 5 ml de H₂SO₄ (1 N) para completar a digestão.

A detecção da radioatividade nas amostras (1 ml) de plasma, urina, solução de tecidos e solução de fezes foi feita em 10 ml de solução cintiladora usando-se um espectrômetro de cintilação líquida (Beckman modelo ls 5000 TA).

Modelo Vitti-Dias

O modelo Vitti é mostrado na Figura 3.1 para Ca. Este contém 4 compartimentos: 1) trato gastrointestinal, 2) plasma, 3) ossos, e 4) tecidos moles, onde os fluxos entre os compartimentos e para dentro e fora do sistema são representados pelas flechas. O Ca marcado foi administrado intravenosamente como dose única de tamanho D no tempo zero, e o tamanho e atividades específicas (AE) dos compartimentos dos ossos e tecidos moles foram medidos após 7 d. O esquema assume que não há re-entrada de Ca marcado através de fontes externas. Um esquema idêntico é assumido para o P.

Após 7 dias, o compartimento 1 (trato digestivo) foi assumido como em completo equilíbrio (equilíbrio isotópico e não-isotópico) e o compartimento 2 (plasma) em equilíbrio não-isotópico (Dias et al., 2006; Vitti et al., 2000; ver Tabela 4.3 e Figura 4.1 para as principais notações matemáticas).

Tabela 4.3 – Principais símbolos usados no modelo

F_{ij}	Fluxo total de P (Ca) para o Compartimento i de j ; F_{i0} indica um fluxo externo no compartimento i e F_{0j} um fluxo do compartimento j para fora do sistema; parâmetro em negrito indica um fluxo que pode ser medido experimentalmente: g/d.
D	Dose de ^{32}P (^{45}Ca) administrado no sangue no tempo zero: dpm
Q_i	Quantidade de P no compartimento i : g
q_i	Quantidade de ^{32}P e (^{45}Ca) no compartimento i : dpm
R_i	Taxa de troca da atividade específica do compartimento i : dpm/d
s_i	Atividade específica do compartimento i ($= q_i/Q_i$): dpm/g
t	Tempo: d

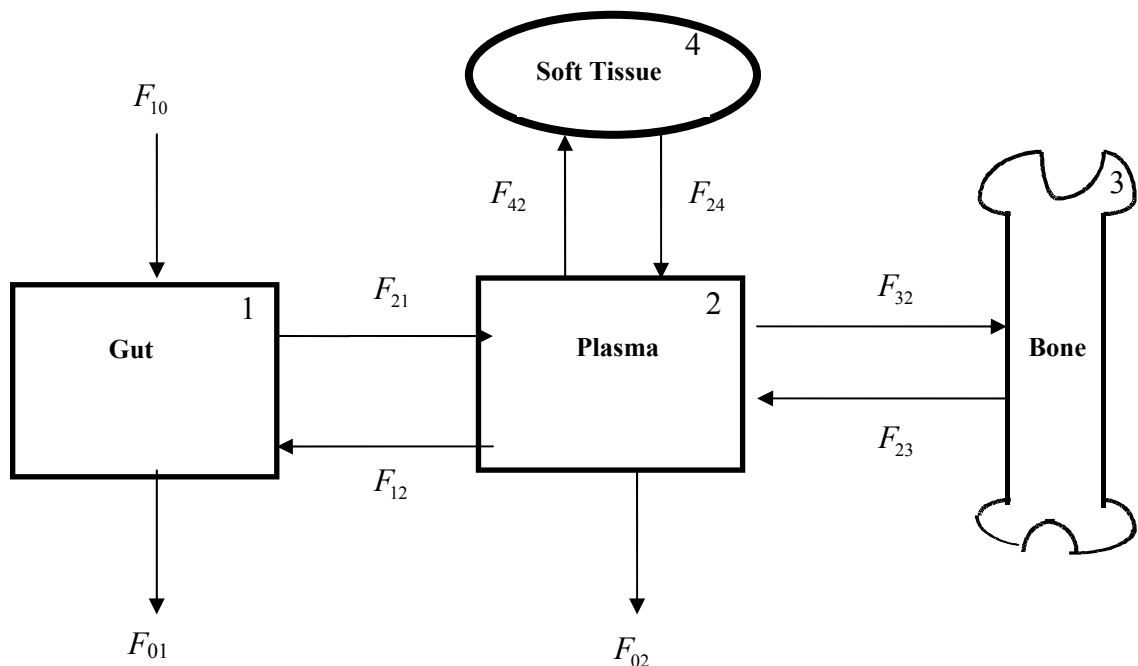


Figura 4.1 – Representação esquemática do modelo Vitti-Dias usada para o metabolismo do Ca em cordeiros (Vitti et al., 2000). F_{ij} representa o fluxo total de Ca para o compartimento i vindo do compartimento j , F_{10} representa a ingestão de Ca, F_{01} excreção de Ca nas fezes, F_{02} excreção de Ca na urina.

A solução algébrica para o modelo resulta:

$$F_{12} = s_1 F_{10} / (s_2 - s_1) \quad (1)$$

$$F_{21} = \mathbf{F}_{10} + F_{12} - \mathbf{F}_{01} \quad (2)$$

$$F_{32} = s_3 R_2 Q_3 / [s_2 (s_2 - s_3)] \quad (3)$$

$$F_{42} = s_4 R_4 Q_4 / [s_2 (s_2 - s_4)] \quad (4)$$

$$|F_{23} + F_{24}| = \mathbf{F}_{02} + F_{12} + F_{32} + F_{42} - F_{21} \quad (5)$$

$$F_{24} = (s^* - s_3) \times |F_{23} + F_{24}| / (s_4 - s^*) \quad (6)$$

$$F_{23} = |F_{23} + F_{24}| - F_{24} \quad (7)$$

onde o negrito indica os fluxos determinados experimentalmente, e a atividade específica do compartimento formado pela combinação dos compartimentos 3 e 4 será:

$$s^* = \frac{s_3 Q_3 + s_4 Q_4}{Q_3 + Q_4} \quad (8)$$

e a taxa de troca da atividade específica do compartimento 2 será:

$$R_2 = \frac{ds_2}{dt} \quad (9)$$

Os valores de s_2 e R_2 para os 7 dias foram obtidos após o ajuste na equação:

$$s_2(t) = ae^{-bt} \quad (10)$$

da curva de decaimento da atividade específica do plasma, onde t (d) é o tempo desde a administração da dose, e a (dpm/ g) e b (/d) são parâmetros. A taxa instantânea de troca resultante quando se diferencia a equação em relação ao tempo é igual a:

$$\frac{ds_2(t)}{dt} = -abe^{-bt} \quad (11)$$

a qual permite o cálculo de R_2 para o sétimo dia.

Modelo Fernandez-Lopes

Fernandez (1995b) construiu um modelo para estudar o metabolismo do Ca e do P em suínos em crescimento no qual o osso é o único compartimento considerado na mobilização desses minerais. Lopes et al. (2001), em estudo do metabolismo do P em suínos alimentados com diferentes fontes de fosfato, adaptou o modelo de Fernandez através da adição dos

tecidos moles como novo compartimento. Assim, esse modelo tem os mesmos 4 compartimentos presentes no modelo VD, os quais são: 1) trato gastrointestinal, 2) plasma, 3) ossos, e 4) tecidos moles. Os fluxos considerados no modelo FL são mostrados e definidos na Figura 4.2.

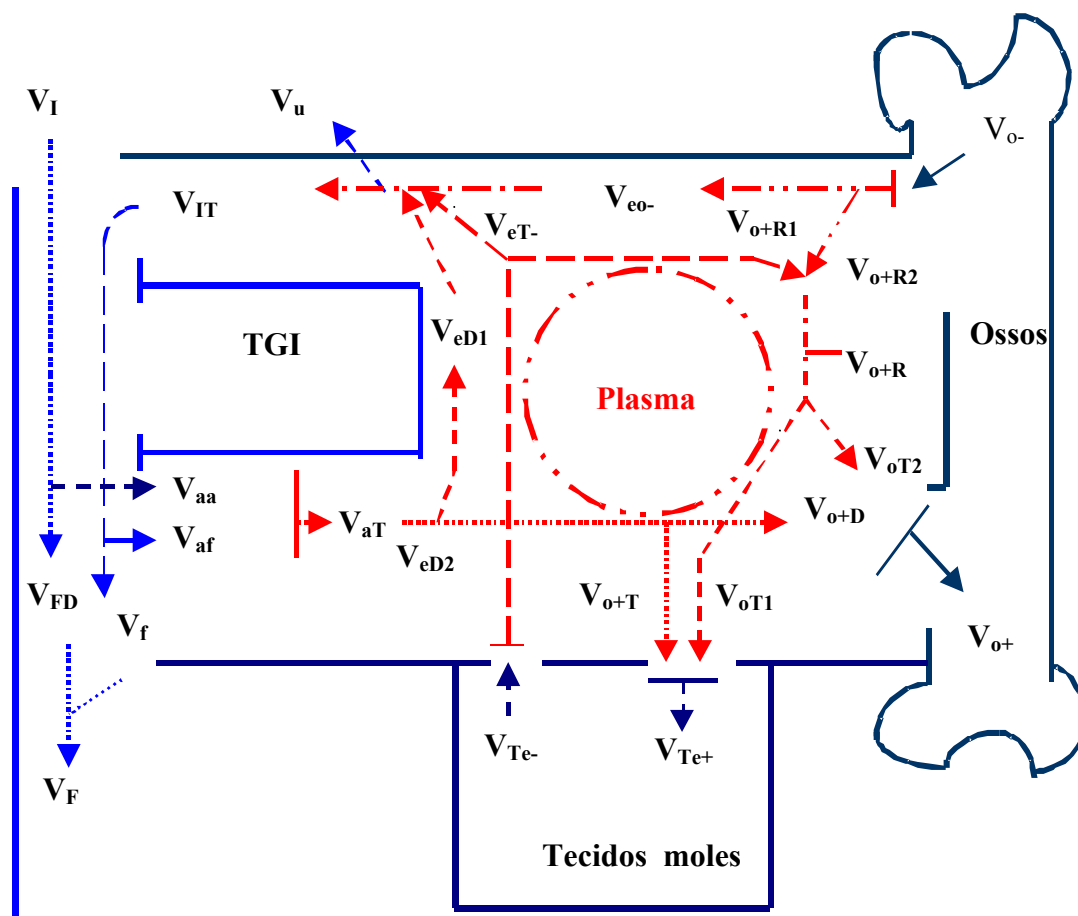


Figura 4.2 – Representação esquemática do modelo Fernandez-Lopes usada aqui para o metabolismo do Ca em cordeiros (Lopes et al., 2001). Ca ingerido (V_I); Ca total nas fezes (V_F); Ca endógeno fecal (V_f); Ca nas fezes de origem dietética (V_{FD}); Ca na urina (V_u); Ca absorvido de origem alimentar (V_{aa}); Ca de origem endógena que chega ao trato gastrointestinal (V_{IT}); Ca endógeno reabsorvido no TGI (V_{af}); Ca total absorvido (V_{aT}); Ca incorporado no osso (V_{o+}); Ca reabsorvido do osso (V_{o-}); Ca do osso reciclado para o osso e tecidos moles (V_{o+R2}); Ca reabsorvido do osso que retorna ao TGI (V_{eo-}); Ca do V_{aT} incorporado no osso (V_{o+D}); Ca incorporado nos tecidos moles (V_{te+}); Ca reabsorvido dos tecidos moles (V_{te-}); Ca dos tecidos moles reciclado para osso e tecidos moles (V_{o+R1}); Ca total reciclado para o osso e tecidos moles (V_{o+R}); Ca reabsorvido dos tecidos moles que retorna ao TGI (V_{eT-}); Ca do V_{aT} incorporado nos tecidos moles (V_{o+T}); Ca do V_{aT} que retorna para o TGI (V_{eD1}); Ca do V_{aT} distribuído para o osso e tecidos moles (V_{eD2}); Ca do V_{o+R} reincorporado nos tecidos moles (V_{To1}); Ca do V_{o+R} reincorporado no osso (V_{To2}).

Para comparação entre os modelos VD e FL foram avaliadas as trocas bidirecionais entre o plasma e os demais compartimentos, representadas pelas variáveis V_{aT} , V_{IT} , V_{o+} , V_{o-} , V_{te+} e V_{te-} .

Os fluxos foram computados (V_F , V_f , V_I e V_u medidos experimentalmente) usando as seguintes equações:

$$V_{aa} = V_I - (V_F - V_f) \quad (12)$$

$$V_{IT} = V_f / 1 - (V_{aa}/V_f) \quad (13)$$

$$V_{aT} = V_{aa} + V_{IT} - V_f \quad (14)$$

$$Ba = V_I - V_F - V_u \quad (15)$$

V_{o+} = atividade acumulada nos ossos/ atividade específica no plasma

$$V_{o-} = V_{o+} - Ba \quad (16)$$

V_{te+} = atividade acumulada nos tecidos/ atividade específica no plasma

$$V_{te-} = V_{te+} - Ba \quad (17)$$

4.2.2. Análise estatística

A análise estatística dos fluxos foi feita usando o procedimento GLM do SAS (SAS, 1999) e o procedimento LSMEANS foi usado para calcular as médias e os erros padrões. As análises de regressão foram feitas usando-se o procedimento PROC REG.

4.3. RESULTADOS

Cálcio

Os dados de Ca ingerido, excretado nas fezes e urina, atividades específicas e valores de Ca presentes nos ossos, plasma e tecidos estão apresentados na Tabela 4.4.

O coeficiente de absorção verdadeiro (CAV) foi determinado utilizando-se a fórmula:

$$\text{CAV} = (\text{Ca ingerido} - \text{Ca da dieta nas fezes}) / \text{Ca ingerido} \quad (18)$$

Os resultados obtidos foram 0,68; 0,14; 0,16 e 0,22 respectivamente, para C, FA, PC e FCO ($P < 0,05$).

Tabela 4.4 – Fluxos de Ca, atividades específicas (AE) e outras entradas usadas no modelo Vitti-Dias e Fernandez-Lopes (médias dos tratamentos)

	Símbolo	Tratamentos				EPM
		C	FA	PC	FCO	
Fluxos (g Ca/d)						
Ingestão	F_{10}, V_I	4,17	6,09	5,44	5,34	0,82
Fezes: total	F_{01}, V_F	2,87 ^a	6,24 ^b	6,26 ^b	5,03 ^{ab}	0,69
Fezes: dieta	$F_{01}^{(d)}, V_{FD}$	1,34 ^a	5,23 ^b	4,55 ^b	4,14 ^b	0,51
Fezes: endógeno	$F_{01}^{(e)}, V_f$	1,53	1,01	1,71	1,26	0,39
Urina	F_{02}, V_u	0,05	0,03	0,12	0,08	0,045
AE (cpm/g Ca)						
Fezes	s_1	0,0019 ^b	0,0005 ^a	0,0008 ^a	0,0008 ^a	0,0003
Plasma	s_2	0,0031	0,0035	0,0030	0,0036	0,0006
Ossos	s_3	47,89	38,16	37,13	49,30	7,11
Tecidos moles	s_4	44,10	70,00	110,30	188,70	74,58
Outras entradas (g Ca)						
Plasma	Q_2	0,120	0,146	0,156	0,130	0,022
Ossos	Q_3	223,74	304,50	252,76	238,92	43,06
Tecidos moles	Q_4	1,85	3,79	3,16	1,97	0,75

Dentro das linhas, médias com diferentes sobrescritos diferem entre si ($P < 0,05$)

Os fluxos de Ca entre o plasma e o trato gastrointestinal, ossos e tecidos calculados usando-se os modelos VD e FL são representados na Tabela 4.5. A retenção total de Ca (Ca ret) foi determinada usando-se a fórmula:

$$\text{Ca ret} = \text{Ca ingerido} - (\text{Ca fezes} + \text{Ca urina}) \quad (19)$$

Os resultados obtidos foram 1,24; -0,18; -0,94 e 0,23 g/d para C, FA, PC e FCO, respectivamente ($P < 0,05$).

Tabela 4.5 - Fluxos de Ca calculados dos modelos Vitti-Dias e Fernandez-Lopes para as diferentes fontes de Ca

	Símbolo	Tratamentos				EPM
		C	FA	PC	FCO	
Saídas do modelo Vitti-Dias (g Ca/d)						
TGI para plasma	F_{21}	6,73 ^b	1,06 ^a	1,26 ^a	1,85 ^a	1,35
Plasma para TGI	F_{12}	5,43 ^b	1,21 ^a	2,08 ^{ab}	1,54 ^{ab}	1,15
Plasma para osso	F_{32}	55,18	70,94	63,36	47,29	12,49
Osso para plasma	F_{23}	53,95	71,10	64,29	47,05	12,25
Plasma para tecido	F_{42}	0,45	0,93	0,81	0,39	0,25
Tecido para plasma	F_{24}	0,45	0,95	0,83	0,39	0,26
Retenção nos ossos	$F_{32}-F_{23}$	1,23 ^a	-0,18 ^b	-0,93 ^b	0,24 ^{ab}	0,37
Retenção nos tecidos	$F_{42}-F_{24}$	0 ^a	-0,02 ^b	-0,02 ^b	0 ^a	0,004
Saídas do modelo Fernandez-Lopes (g Ca/d)						
TGI para plasma	V_{aT}	6,73 ^b	1,06 ^a	1,26 ^a	1,85 ^a	1,35
Plasma para TGI	V_{IT}	5,43 ^b	1,21 ^a	2,08 ^{ab}	1,54 ^{ab}	1,15
Plasma para osso	V_{o+}	25,40	34,57	28,70	23,18	5,58
Osso para plasma	V_{o-}	24,17	34,75	29,63	22,95	5,40
Plasma para tecido	V_{Te+}	0,26	0,79	0,25	0,28	0,19
Tecido para plasma	V_{Te-}	0,25	0,80	0,26	0,27	0,20
Retenção nos ossos	$V_{o+}-V_{o-}$	1,23 ^a	-0,17 ^b	-0,93 ^b	0,23 ^{ab}	0,38
Retenção nos tecidos	$V_{Te+}-V_{Te-}$	0,01 ^a	-0,006 ^{ab}	-0,013 ^b	0,003 ^{ab}	0,0060

Dentro das linhas, médias com diferentes sobrescritos diferem entre si ($P < 0,05$)

Fósforo

Os resultados referentes ao P ingerido e excretado nas fezes e urina são mostrados na Tabela 4.6, assim como as atividades específicas, P presente no plasma, ossos e tecidos. Os valores de CAV obtidos foram 0,31; 0,44; 0,37 e 0,39 para C, FA, PC e FCO respectivamente ($P > 0,05$).

Tabela 4.6 – Fluxos de P, atividades específicas (AE) e outras entradas usadas no modelo Vitti-Dias e Fernandez-Lopes (médias dos tratamentos)

	Símbolo	Tratamentos				EPM
		C	FA	PC	FCO	
Fluxos (g P/d)						
Ingestão	F_{10}, V_I	2,50	3,73	3,33	3,19	0,50
Fezes: total	F_{01}, V_F	3,57	5,23	5,35	3,74	1,10
Fezes: dieta	$F_{01}^{(d)}, V_{FD}$	1,57	2,26	1,85	2,18	0,50
Feze: endógeno	$F_{01}^{(e)}, V_f$	2,00	2,96	3,50	1,56	0,81
Urina	F_{02}, V_u	0,18 ^{ab}	0,02 ^a	0,04 ^a	0,23 ^b	0,05
AE (cpm/g P)						
Fezes	s_1	0,009	0,007	0,008	0,004	0,0011
Plasma	s_2	0,0150	0,0130	0,0133	0,0116	0,0018
Ossos	s_3	17,22	23,70	28,74	20,50	7,08
Tecidos moles	s_4	52,45	48,49	63,37	79,11	17,24
Outras entradas (g P)						
Plasma	Q_2	0,116	0,143	0,110	0,123	0,016
Ossos	Q_3	123,17	145,64	132,96	116,39	19,55
Tecidos moles	Q_4	15,83	19,92	16,33	12,14	2,37

Dentro das linhas, as médias com diferente sobrescritos diferem ($P < 0,05$)

Os fluxos entre os compartimentos do modelo VD e FL são mostrados na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 - Fluxos de P calculados dos modelos Vitti-Dias e Fernandez-Lopes para diferentes fontes de Ca

	Símbolo	Tratamentos				SEM
		C	FA	PC	FCO	
Saídas do modelo Vitti-Dias (g P/d)						
TGI para plasma	F_{21}	2,21	3,80	4,35	1,96	1,27
Plasma para TGI	F_{12}	3,28	5,29	6,37	2,51	1,54
Plasma para osso	F_{32}	12,93	26,29	23,44	24,56	4,85
Osso para plasma	F_{23}	14,10	27,10	24,90	24,98	5,03
Plasma para tecido	F_{42}	2,22	3,60	2,87	2,59	0,57
Tecido para plasma	F_{24}	2,67	4,31	3,47	2,97	0,66
Retenção nos ossos	$F_{32}-F_{23}$	-0,81	-0,81	-1,46	-0,42	0,78
Retenção nos tecidos	$F_{42}-F_{24}$	-0,45	-0,71	-0,60	-0,36	0,15
Saídas do modelo Fernandez-Lopes (g P/d)						
TGI para plasma	V_{aT}	2,21	3,80	4,35	1,96	1,27
Plasma para TGI	V_{IT}	3,28	5,29	6,37	2,51	1,54
Plasma para osso	V_{o+}	10,66	29,38	22,86	10,07	8,80
Osso para plasma	V_{o-}	11,83	30,86	24,84	10,79	9,32
Plasma para tecido	V_{Te+}	0,73	0,73	0,65	0,56	0,21
Tecido para plasma	V_{Te-}	0,81	0,76	0,71	0,61	0,24
Retenção nos ossos	$V_{o+}-V_{o-}$	-1,17	-1,48	-1,98	-0,72	1,06
Retenção nos tecidos	$V_{Te+}-V_{Te-}$	-0,08	-0,03	-0,06	-0,05	0,03

Dentro das linhas, as médias com diferente sobrescritos diferem ($P < 0,05$)

Os resultados obtidos para a retenção de P (P ret) foram: -1,25; -1,51; -2,07 e -0,77 g/d para C, FA, PC e FCO respectivamente ($P > 0,05$).

4.4 - DISCUSSÃO

Cálcio

Não houve diferenças ($P > 0,05$) para a ingestão de Ca (F_{10}) no modelo VD, V_1 no modelo FL e para o Ca excretado na urina (F_{02} , V_u). O consumo de Ca foi adequado para os animais em todos os tratamentos segundo o NRC (1985).

Embora o consumo de Ca tenha sido o mesmo para todos os tratamentos, a excreção de Ca da dieta nas fezes foi menor para o tratamento calcário (C), correspondendo a 32% do Ca ingerido. Para as outras fontes de Ca, o valor médio foi igual a 82%. Os valores elevados de Ca excretado nas fezes sugerem que essas fontes têm baixa disponibilidade, acarretando na passagem de grandes quantidades não absorvidas através do trato gastrintestinal (TGI). Além da excreção de menores quantidades de Ca nas fezes, notou-se que a atividade específica nas fezes, s_1 , apresentou o maior valor ($P < 0,05$) para os animais do tratamento C, refletindo a menor concentração do Ca da dieta nas fezes.

A digestibilidade verdadeira foi maior para o tratamento C, enquanto que FCO apresentou menor valor que C, embora maior do que o FA e PC ($P < 0,05$). Avaliando-se esses dados pode-se afirmar que os tratamentos com fontes orgânicas de Ca (FA e PC) apresentaram os menores níveis de absorção. De acordo com McDowell (1982), diferenças na forma química, fonte ou interações entre os nutrientes afetam a absorção de minerais e, além disso, sabe-se que a forma orgânica é menos disponível.

Em relação ao tratamento PC, um dos fatores que pode ter afetado a absorção de Ca foi a presença de pectina, que representa 10% na polpa cítrica (MS) (Giraldo, 1999). A pectina se liga a cátions prejudicando a absorção de minerais como o Ca, Mg, Cu e Zn. O balanço negativo observado para o FA, provavelmente ocorreu devido à presença do oxalato. O oxalato, que é um componente presente nas fontes orgânicas de Ca, diminui a

disponibilidade do Ca. No feno de alfafa, 20 a 30 % do Ca estão presentes na forma de oxalato de Ca e, aparentemente estão indisponíveis para o animal (Ward et al., 1979). A baixa disponibilidade do Ca na alfafa está de acordo com Martz et al. (1990) que também observaram baixa disponibilidade (25,6%) para esse volumoso, embora maior do que no presente estudo (14%). Esses autores também relataram que o Ca endógeno excretado nas fezes representou 16% do Ca ingerido, sendo esse valor muito próximo ao observado nesse estudo (16,6%). A diferença na disponibilidade desses dois trabalhos sugere que possivelmente outro fator além da forma química pode ter prejudicado a absorção de Ca.

A baixa disponibilidade do Ca levou a baixa retenção de Ca (43, -7, -31 e 7 mg/kg PV/d ou 1,24; -0,18; -0,94 e 0,23 g/d para C, FA, PC e FCO, respectivamente), sendo esses valores menores do que o valor 71 mg/kg PV/d encontrado por Braithwaite (1975) como sendo a taxa máxima de retenção para animais jovens, indicando que, exceto para o tratamento C, os animais do presente estudo estavam deficientes em Ca.

O fluxo do trato gastrintestinal para o plasma (F_{21} , V_{aT}), que representa a absorção de Ca, foi maior para C ($P < 0,05$) e similar para os tratamentos FA, PC e FCO, enquanto que o fluxo oposto (F_{12} , V_{IT}), o qual representa o Ca endógeno reciclado, apresentou o maior valor para C e o menor para o FA ($P < 0,05$). O fluxo F_{12} foi maior do que F_{21} para FA e PC, sugerindo que o Ca reciclável foi maior do que o Ca absorvido para esses tratamentos. Esses resultados indicam que os animais dos tratamentos FA e PC reciclaram maiores quantidades de Ca endógeno, embora o Ca endógeno total excretado nas fezes ($F_{01}^{(e)}$, Vf) tenha sido similar para todos os tratamentos. Esses resultados são explicados pelo fato de que o feno de alfafa e a polpa cítrica são alimentos que estimulam a secreção salivar (Scott et al., 1984; Welch e Smith, 1971). O valor médio do $F_{01}^{(e)}$ para o Ca (44,5 mg/ kg PV por dia) foi um pouco maior do que os valores do NRC, os quais variam entre 11,6 e 43,2 mg/ kg PV, mas estava dentro da variação 35 e 50 mg/kg PV por dia, relatada por Chrisp et al. (1989).

Os fluxos entre o plasma e os ossos (F_{32} e F_{23} , V_{o+} e V_{o-}) e entre o plasma e os tecidos (F_{42} e F_{24} , V_{te+} e V_{te-}) calculados para o modelo VD foram similares para todos os tratamentos (Tabela 4.4). No entanto, a retenção líquida de Ca nos ossos foi maior para o tratamento C, seguido pelo FCO, mas negativo para o FA e PC ($P > 0,05$). Braithwaite (1975) relatou que a taxa de reabsorção do Ca dos ossos foi maior do que a absorção nos ossos em cordeiros alimentados com dietas deficientes em Ca. No modelo VD, a retenção líquida de Ca nos ossos foi fortemente relacionada com o Ca total retido (Ca ret), como mostra a equação:

$$\text{Retenção líquida de Ca nos ossos} = 0,98 \text{ Ca ret} + 0,0009 \quad (n = 12, R^2 = 0,99)$$

(20)

Uma relação similar também foi observada usando-se o modelo FL. Essa relação enfatiza que, como os animais eram jovens, o Ca foi principalmente destinado para os ossos.

A retenção líquida de Ca nos tecidos foi maior para os tratamentos C e FCO do que para os tratamentos FA e PC ($P < 0,05$). A retenção líquida de Ca nos tecidos foi correlacionada com o Ca total retido para o modelo VD ($R^2 = 0,50$), mas essa correlação foi mais evidente para o modelo FL, como mostra a equação:

$$\text{Retenção líquida de Ca nos tecidos} = 0,016 \text{ Ca ret} - 0,0019 \quad (n = 12, R^2 = 0,88)$$

(21)

A relação mais evidente entre a retenção de Ca nos tecidos e a retenção de Ca total pode ser uma consequência do modelo original de Fernandez (1995c) que foi construído para estudar o metabolismo do Ca.

É interessante notar que apesar da baixa disponibilidade, o Ca do tratamento FCO foi mais bem utilizado do que o Ca do FA e PC, provavelmente devido à forma do Ca (Takasugi et al., 2005).

A retenção negativa do Ca nos ossos e nos tecidos para o FA e PC apoia a afirmação que os animais estavam deficientes em Ca e por isso o Ca foi mobilizado dos ossos e tecidos

para manter os níveis de Ca no plasma, garantindo as funções normais do animal. Apesar da retenção líquida de Ca nos ossos e tecidos ter sido maior para o FCO do que para o FA e PC, é provável que o Ca desse tratamento não tenha sido suficiente para atender às exigências do mesmo. Isso porque a retenção líquida nos ossos assim como a retenção total desse mineral apresentou valores considerados muito baixos. Por outro lado, os animais do C absorveram quantidades adequadas de Ca para atender às necessidades do organismo.

Em relação aos fluxos entre os ossos e o plasma, os valores obtidos para o modelo VD foram maiores do que os valores obtidos para o modelo FL ($P < 0,05$), no entanto, as médias da retenção líquida de Ca nos ossos foram similares para os dois modelos ($P > 0,05$). Em relação aos tecidos, os valores dos fluxos de Ca entre os tecidos e o plasma foram similares para os dois modelos ($P > 0,05$).

Os fluxos F_{32} , F_{23} , F_{42} e F_{24} foram correlacionados no modelo VD. No entanto, para o modelo FL, a correlação somente foi observada entre V_{o+} e V_{o-} e entre V_{te+} e V_{te-} . As diferenças observadas nos fluxos entre os dois modelos são provavelmente devido às diferenças na construção dos modelos (Shulin-Zeuthen et al. 2005). Enquanto o modelo VD usa os fluxos dos tecidos para o plasma para calcular os fluxos entre o plasma e os ossos, o modelo FL usa a retenção líquida dos dados de balanço.

Fósforo

O fósforo excretado na urina foi maior para os tratamentos C e FCO do que para os tratamentos FA e PC. Provavelmente o P excretado na urina foi diferente entre os tratamentos devido às diferenças no tipo do alimento. Sabe-se que alimentos que estimulam a salivação devido à presença de fibra ou ao tamanho da mesma alteram a rota de excreção de P (Tomas, 1974; Scott e Buchan, 1985, 1987 e 1988). Por isso, quando existe um excesso de P e a salivação é estimulada, o P é excretado através da saliva e quando não existe estímulo para a

salivação, o P é excretado na urina para compensar a falta de outras rotas de excreção. O feno de alfafa e a polpa cítrica estimulam a salivação, e por isso alteram a rota de excreção de P, enquanto que para os tratamentos C e FCO parte do P que não foi absorvido foi excretado na urina. Scott e Buchan (1985, 1988) também observaram que o tipo e a forma da dieta alteraram a rota de excreção de P entre a urina e a saliva. Embora não tenha sido observada diferença significativa na excreção de P endógeno ($F_{01}^{(e)}$, V_f), os valores para $F_{01}^{(e)}$ e F_{12} (V_{IT}) dos animais dos tratamentos FA e PC foram maiores, reafirmando a sugestão de que esses tratamentos estimulam a salivação, pois F_{12} representa o P reciclado. O P endógeno nas fezes (média = 79,3 mg/kg PV) foi consideravelmente maior do que o valor estabelecido pelo NRC (20 mg/kg PV). Braithwaite (1983) observou uma relação negativa entre a excreção de P endógeno e a exigência líquida de P, no entanto essa relação não foi observada no presente estudo, o qual sugere que o P endógeno foi excretado pela mesma razão pela qual o P foi excretado na urina. Braithwaite (1975) observou que a excreção de P na urina estava relacionada com a retenção de Ca, sendo maior quando a dieta deficiente em Ca foi fornecida. A baixa disponibilidade do Ca no presente estudo pode ter influenciado a excreção de P na urina embora os dados não mostrem isto claramente.

Os coeficientes de disponibilidade verdadeira foram considerados baixos, pois, a digestibilidade do P é geralmente considerada ao redor de 0,64 para forragem e 0,70 para concentrados oferecidos para ruminantes (Ekelud et al., 2003; NRC, 1985), por isso sugere-se que algumas características da dieta podem ter prejudicado a digestão do P.

Comparando os fluxos entre os ossos e o plasma do modelo VD com aqueles do modelo FL, foi observada similaridade entre eles. No entanto, para os fluxos entre os tecidos e o plasma, foram observados valores maiores para o modelo VD ($P < 0,05$), embora os balanços líquidos de P nos ossos e tecidos do modelo VD estivessem de acordo com o modelo FL, sendo negativo para ambos e enfatizando assim que os animais de todos os tratamentos

estavam deficientes em P. É bem provável que a mobilização de P dos ossos e tecidos tenha sido uma resposta à baixa disponibilidade do P; no entanto, também é possível que a mobilização do P tenha ocorrido devido à baixa absorção do Ca. A mesma hipótese foi apresentada por Braithwaite (1983), que observou mobilização de P dos ossos e tecidos moles nos animais que receberam dietas restritas em Ca e P. No entanto, não é possível chegar a essa conclusão devido à falta de correlação entre os fluxos de Ca e P. O fato de que o P foi destinado aos ossos é confirmado pela relação observada entre a retenção líquida de P nos ossos e a retenção total de P para ambos os modelos.

$$\text{Modelo VD: retenção líquida de P nos ossos} = 0,86 P_{\text{ret}} + 0,34 \quad (n = 12, R^2 = 0,98) \quad (22)$$

$$\text{Modelo FL: retenção líquida de P nos ossos} = 0,97 P_{\text{ret}} + 0,02 \quad (n = 12, R^2 = 0,99) \quad (23)$$

A retenção líquida de P nos tecidos apresentou maior correlação com o P total retido para o modelo VD ($R^2 = 0,63$) do que para o modelo FL ($R^2 = 0,40$). Tal fato pode ter ocorrido porque o modelo VD foi construído para estudar o metabolismo do P, o qual difere do Ca em relação aos tecidos, pois, o P está presente em maiores quantidades nos tecidos do que o Ca.

A correlação observada entre os fluxos F_{32} , F_{23} , F_{42} e F_{24} para o Ca no modelo VD e FL também foi observada para o P.

4.5 CONCLUSÕES

Os modelos Vitti-Dias e Fernandez-Lopes podem ser usados para o estudo do metabolismo do Ca e do P em ovinos. Com relação ao presente estudo, os resultados de ambos os modelos levam à conclusão de que as fontes inorgânicas de Ca são melhor utilizadas pelos ovinos do que as fontes orgânicas. Além disso, avaliando os fluxos dos dois modelos pode-se afirmar que exceto para o tratamento Calcário, as dietas não forneceram

quantidades adequadas de Ca enquanto que para o P todos os tratamentos foram inadequados quanto ao fornecimento desse mineral. Por isso, exceto para o tratamento Calcário, os resultados mostram que os animais estavam deficientes em Ca e P.

5. CINÉTICA DO P EM CORDEIROS ALIMENTADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE P

Resumo

O objetivo desse trabalho foi estudar o metabolismo do P em ovinos em crescimento suplementados com diferentes níveis de fosfato bicálcico usando um modelo matemático. Doze ovinos machos castrados da raça Santa Inês, pesando $22,6 \pm 2,21$ kg, receberam uma dieta basal suplementada com fosfato bicálcico que forneceu 0; 1,5; 3,0; 4,5 g de P/animal/d, tratamentos T1 a T4, respectivamente. Após 3 semanas de adaptação, 7,4 MBq de ^{32}P foram injetados na veia jugular de cada animal. Amostras de sangue, fezes e urina foram coletadas todos os dias durante um período de 7 dias e após esse período os animais foram sacrificados. Amostras do fígado, rins, coração, músculo e ossos foram coletadas para determinação das atividades específicas e do P inorgânico. Os fluxos entre o trato gastrintestinal e plasma foram similares para cada tratamento exceto para T1, que apresentou o menor valor para ambos os fluxos ($P < 0,05$). A quantidade de P mobilizada do sangue para os tecidos (F_{42}) foi diferente entre os tratamentos, no entanto a retenção líquida de P nos tecidos foi similar. O P total retido foi maior para o tratamento T4 e menor e negativo para os tratamentos T1 e T2. O P mobilizado do sangue para os ossos (F_{32}) foi diferente entre tratamentos e contribuiu para as diferentes retenções líquidas de P nos ossos. O maior valor de F_{32} foi alcançado pelos animais do tratamento T4, enquanto que os menores valores foram observados para os animais do tratamento T1. Embora os animais do tratamento T4 tenham atingido o maior valor de F_{32} , é importante notar que os animais desse tratamento foram os que excretaram maiores níveis P nas fezes. Considerando as questões de poluição ambiental relativas ao P, é importante estar consciente de que o tratamento que resultou no maior valor de retenção líquida de P nos ossos e no maior valor de F_{42} também proporcionou o maior valor de excreção de P nas fezes.

Por isso, os resultados deste trabalho sugerem que T3 forneceu o melhor nível de P para essa categoria de animal, pois o P absorvido nos ossos e tecidos indicou que a absorção de P foi adequada para atender às exigências de P, calculada como sendo igual a 3,18 g/d nesse trabalho.

Palavras chave: metabolismo, modelo, fósforo, cinética, ovinos

Abstract

The aim of this work was to study P metabolism in growing sheep supplemented with different levels of dicalcium phosphate using a mathematical model. Twelve male non-castrated Santa Inês sheep, weighing $22,6 \pm 2,21$ kg, received a basal diet supplemented with dicalcium phosphate to provide 0; 1,5; 3,0; 4,5 g of P/animal/d, treatments T1 to T4, respectively. After 3 weeks adaptation, 7,4 MBq of ^{32}P was injected into the jugular vein of each animal. Samples of blood, feces and urine were collected every day during a 7 d period and thereafter the animals were sacrificed. Samples from liver, kidney, heart, muscle and bone were collected for specific activity and inorganic P determinations. The flows between gut and plasma were similar for each treatment except for T1, which showed the lowest values for both flows ($P < 0,05$). The amount of P mobilized from plasma to tissue (F_{42}) was different among treatments, however net tissue retention was similar for all treatments. Total P retained was highest for T4 and lowest as well as negative for T1 and T2. Phosphorus mobilized from plasma to bone (F_{32}) was different among treatments and contributed to the different net bone retentions. The highest value of F_{32} was reached by animals on T4, whilst the lowest values were found for animals on T1. Despite having the highest value of F_{32} , it is important to note that animals on T4 excreted the most P in feces. Considering concerns about environmental P pollution, it is important to be aware that the treatment which provided the highest value for net bone P retention and for F_{42} also led to the highest value of P excreted in feces. Therefore, this work suggests that T3 provided the best P level for this category of animal since P accreted to bone and tissue indicated that P absorption was adequate to attend P requirements, calculated as being 3,18 g/d in this work.

Key words: metabolism, model, phosphorus, kinectic, sheep

5.1 - INTRODUÇÃO

O P, além de sua importância na nutrição animal, pode causar problemas ambientais (Knowlton e Herbein, 2002), especialmente em locais de alta densidade de animais, como na União Européia e EUA. Isto ocorre, pois o P excretado, quando acumulado no solo, pode resultar na sua lixiviação, causando eutrofização de corpos d'água (Terence, 2001). Além disso, o P representa mais da metade do custo das misturas minerais fornecidas para o gado de leite, enfatizando a importância do seu fornecimento adequado, tanto em termos de quantidade, quanto de qualidade (Wu et al., 2000).

Diminuir a ingestão de P para, conseqüentemente, diminuir a excreção de P nas fezes, é uma das maneiras consideradas para reduzir a poluição ambiental (Valk e Beynen, 2003). No entanto, essa alternativa deve ser executada com cuidado, pois a deficiência de P pode prejudicar o desempenho e a saúde do animal. Ruminantes alimentados com dietas pobres em P diminuem a ingestão de alimento e com isso diminuem o ganho de peso vivo (Ternouth e Sevilla, 1984). A quantidade ideal de P necessária para satisfazer as funções do animal e dos microorganismos e gerar o melhor desempenho deve ser suplementada sem prejudicar o ambiente. Assim, é crucial entender como o P é utilizado pelos ruminantes, encontrando o equilíbrio entre a necessidade de melhorar o desempenho animal e a necessidade de diminuir a excreção de P.

O modelo matemático revisado por Dias et al. (2006) proporciona uma visão compreensiva da distribuição do P direcionada para atender às exigências desse mineral. Esse modelo descreve a cinética do P entre osso, trato gastrintestinal, plasma e tecidos como mecanismos do metabolismo do P. O P ósseo pode ser mobilizado até 30% durante o início da lactação, fornecendo P necessário para a produção de leite (Ternouth, 1990). Em animais em crescimento, o P é mobilizado das reservas corpóreas para ser destinado à formação óssea,

embora a reabsorção ocorra simultaneamente (Wu et al., 2001). As quantidades de P que os animais mobilizam e reabsorvem não são bem estabelecidas, embora se saiba que em condições de deficiência essas quantidades podem ser elevadas (Wu et al., 2000).

O objetivo desse trabalho foi avaliar a cinética do P em cordeiros e determinar a exigência desse mineral para os animais.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Período experimental

Animais e dietas

O experimento foi conduzido usando protocolo aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação com Animais do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA). Doze ovinos machos, da raça Santa Inês, com peso vivo inicial de $22,6 \pm 2,21$ kg, 5 meses de idade, foram inicialmente colocados em baias no CENA, Universidade de São Paulo, onde eles receberam as dietas experimentais durante duas semanas. Após esse período, os animais foram colocados em gaiolas de metabolismo elaboradas para estudos com isótopos onde amostras representativas das fezes e urina foram coletadas (10%) durante 3 dias para análise do P. Seguindo esse período de coletas, uma dose de 7,4 MBq de ^{32}P em 0,5 ml de solução salina estéril (9 g NaCl/ L) foi injetada na veia jugular. Amostras de sangue foram retiradas da veia jugular aos 5 min, 1,2, 4 e 6 h após injeção e depois a cada 24 h, sendo a última amostra coletada às 144 h após a injeção. Após o último dia de coleta, os animais foram sacrificados e amostras de tecidos moles foram coletadas dos rins, fígado, coração e músculos para determinação do P e contagem do ^{32}P . O mesmo procedimento foi seguido para os ossos que foram coletados da costela.

A dieta básica foi composta de volumoso (600 g/d feno de *coast cross*), concentrado (200 g/d farelo de mandioca e 15 g/d de uréia) e 10 g/d de mistura mineral (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 - Dietas fornecidas aos cordeiros contendo diferentes níveis de P

Ingredientes	Níveis de P			
	0	1,5	3	4,5
Feno (g) ^a	600	600	600	600
Farelo de mandioca (g)	200	200	200	200
Uréia (g)	15	15	15	15
Mistura mineral (g) ^b	10	10	10	10
Fosfato bicálcico (g)	0	8,3	16,6	25

^aFeno *coast cross*;

^bMistura mineral: 0,009 KI; 0,0008 CoSO₄; 0,03 CuSO₄; 1,61 MgO; 3,0 NaCl; 0,32 ZnSO₄; 0,148 MnSO₄; 0,457 FeSO₄; 4,0 S g/d.

Os tratamentos consistiram da dieta básica suplementada com diferentes quantidades de fosfato bicálcico (0; 8,3; 16,6 e 25 g) que forneceu 0; 1,5; 3,0; 4,5 g P/animal/d, representando os tratamentos T1, T2, T3 e T4 respectivamente. As dietas foram fornecidas duas vezes ao dia após a coleta das amostras.

Análise das amostras

As amostras dos alimentos e das sobras foram analisadas para determinação de matéria seca (MS), PB, P, FDN e FDA. A proteína bruta foi determinada pelo método Kjeldahl, FDN seguindo as recomendações da AOAC (1995) (Association of Official Analytical Chemists) e FDA de acordo com Mertens (2002), sem usar amilase ou sulfito de sódio (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 - Composição química das dietas contendo diferentes níveis de P

Composição química (mg/kg DM)	Feno	Tratamentos			
		0	1,5	3,0	4,5
Matéria seca	899,6	880,1	887,1	888,5	894,0
Proteína bruta	61,7	232,0	237,2	238,0	231,6
Extrato etereo	28,0	11,1	10,9	14,8	21,4
FDN	733,6	142,7	147,6	143,5	142,4
FDA	380,8	32,6	32,9	31,5	32,0
Cinzas	63,4	28,6	66,6	84,1	122,3
Fósforo	1,9	0,9	8,1	16,4	25,8

O nível de P inorgânico no plasma foi determinado por análise colorimétrica (Fiske e Subbarow, 1925). Nove mililitros de ácido tricloacético (100 g/l) foram adicionados a 1 ml de plasma para precipitação da proteína e a mistura foi centrifugada (Sorval/ modelo RC2B) a 1100 g durante 10 min para a separação do plasma. A atividade do radioisótopo foi estimada colocando-se 1 ml do plasma em 19 ml de água destilada dentro de frascos de contagem. A radioatividade do ^{32}P foi medida no espectrômetro de cintilação líquida (Packard, modelo 2450B) usando a radiação Cerenkov.

As amostras de fezes (1 g) foram moídas, secas (105°C) e as cinzas foram obtidas (500 °C durante 8 h). O ácido clorídrico concentrado (HCl) foi adicionado às cinzas e o P foi determinado através de método colorimétrico. Para as medições de radioatividade, 1 g das cinzas das fezes foi dissolvida em 18 N H_2SO_4 e colocadas em frascos de contagem. A determinação do ^{32}P na urina foi feita com adição de 1 ml da amostra de urina em 19 ml de água destilada no frasco de contagem. O fósforo inorgânico foi determinado através do método de vanadato-molibdato (Sarruge e Haag, 1974). Trinta mililitros de urina foram

digeridos em HCl (12 N), e o material foi seco a 55°C e depois incinerado a 500°C. A matéria mineral foi diluída em HCl (3 N) e ajustada para 10 ml.

Modelo Vitti-Dias

Modelo Vitti-Dias. O modelo é mostrado na figura 1. Este contém 4 compartimentos: 1) trato gastrointestinal, 2) plasma, 3) osso, e 4) tecidos moles; os fluxos entre os compartimentos e para dentro e fora do sistema são representados pelas flechas. O P marcado foi administrado intravenosamente como dose única de tamanho D no tempo zero, e o tamanho e atividades específicas (AE) dos compartimentos dos ossos e tecidos moles foram medidos após 7 dias. O esquema assume que não há re-entrada de P marcado através de fontes externas.

Após 7 dias, o compartimento 1 (trato digestivo) foi assumido como em completo equilíbrio (equilíbrio isotópico e não-isotópico) e o compartimento 2 (plasma) em equilíbrio não-isotópico (Dias et al., 2006; Vitti et al., 2000; ver Tabela 5.3 e Figura 5.1 para as principais notações matemáticas).

Tabela 5.3 - Principais símbolos usados no modelo

F_{ij}	Fluxo total de P para o Compartimento i de j ; F_{i0} indica um fluxo externo no compartimento I e F_{0j} um fluxo do compartimento j para fora do sistema; parâmetro em negrito indica um fluxo que pode ser medido experimentalmente: g/d.
D	Dose de ^{32}P administrado no sangue no tempo zero: dpm
Q_i	Quantidade de P no compartimento i : g
q_i	Quantidade de ^{32}P no compartimento i : dpm
R_i	Taxa de troca da atividade específica do compartimento i : dpm/d
s_i	Atividade específica do compartimento i ($= q_i/Q_i$): dpm/g
t	Tempo: d

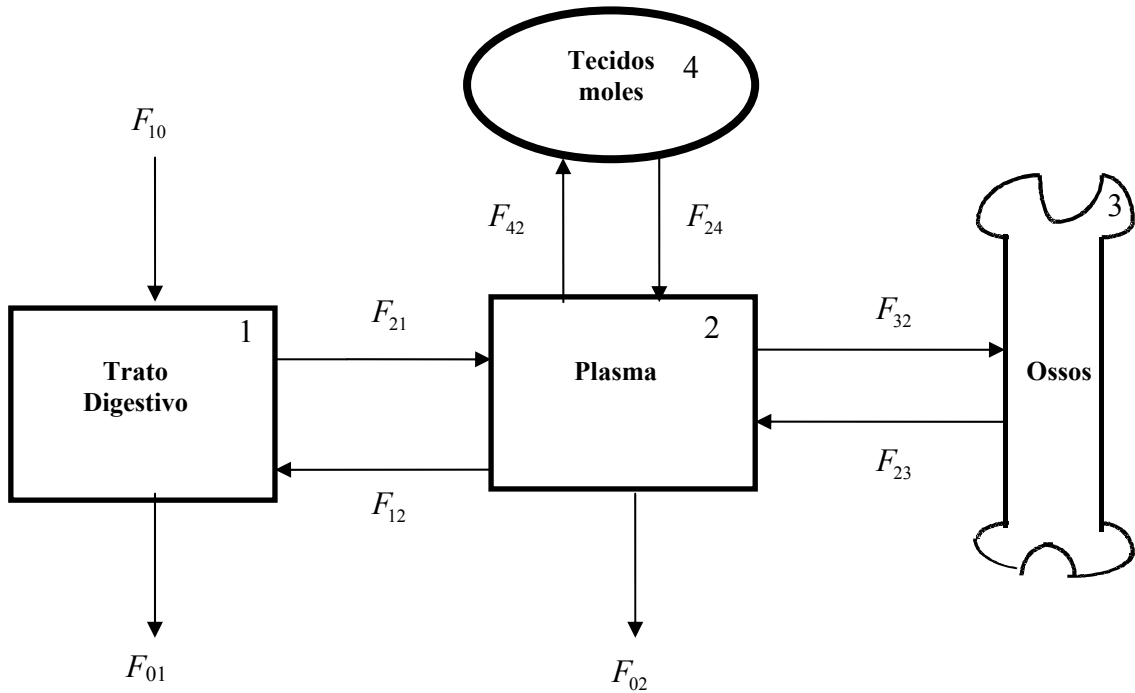


Figura 5.1 - Representação esquemática do modelo Vitti-Dias usada para o metabolismo do P em cordeiros (Vitti et al., 2000). F_{ij} representa o fluxo total de P para o compartimento i vindo do compartimento j , F_{10} representa a ingestão de P, F_{01} excreção de P nas fezes, F_{02} excreção de P na urina.

A solução algébrica para o modelo será:

$$F_{12} = s_1 \mathbf{F}_{10} / (s_2 - s_1) \quad (1)$$

$$F_{21} = \mathbf{F}_{10} + F_{12} - \mathbf{F}_{01} \quad (2)$$

$$F_{32} = s_3 R_2 Q_3 / [s_2 (s_2 - s_3)] \quad (3)$$

$$F_{42} = s_4 R_4 Q_4 / [s_2 (s_2 - s_4)] \quad (4)$$

$$|F_{23} + F_{24}| = \mathbf{F}_{02} + F_{12} + F_{32} + F_{42} - F_{21} \quad (5)$$

$$F_{24} = (s^* - s_3) \times |F_{23} + F_{24}| / (s_4 - s^*) \quad (6)$$

$$F_{23} = |F_{23} + F_{24}| - F_{24} \quad (7)$$

onde o negrito indica os fluxos determinados experimentalmente, e a atividade específica do compartimento formado pela combinação dos compartimentos 3 e 4 será:

$$s^* = \frac{s_3 Q_3 + s_4 Q_4}{Q_3 + Q_4} \quad (8)$$

e a taxa de troca da atividade específica do compartimento 2 será:

$$R_2 = \frac{ds_2}{dt} \quad (9)$$

Os valores de s_2 e R_2 para os 7 d foram obtidos após o ajuste na equação da curva de decaimento da atividade específica do plasma, onde t (d) é o tempo desde a administração da dose, e a (dpm/ g) e b (/d) são parâmetros:

$$s_2(t) = ae^{-bt} \quad (10)$$

A taxa instantânea de troca resultante quando se diferencia a equação em relação ao tempo é igual a:

$$\frac{ds_2(t)}{dt} = -abe^{-bt} \quad (11)$$

A qual permite o cálculo de R_2 para o sétimo dia. O modelo é resolvido calculando-se as equações de 1 a 7.

Outros cálculos:

Sendo AE = atividade específica:

$$P \text{ endógeno } (P_e) = (AE \text{ fezes} / AE \text{ plasma}) \times P \text{ fezes (Lofgreen e Kleiber, 1953)} \quad (12)$$

$$P \text{ retido } (P_r) = P \text{ ingerido} - (P \text{ fezes} + P \text{ urina}) \quad (13)$$

$$P \text{ absorvido da dieta } (P_d) = P \text{ ingerido} - (P \text{ fezes} - P \text{ endógeno}) \quad (14)$$

$$P \text{ disponível } (P_a) = P \text{ ingerido} - (P \text{ fezes} - P \text{ endógeno}) / P \text{ ingerido} \quad (15)$$

Ao calcular ambos P_d e P_a , o P endógeno é representado pelo fluxo do P do plasma para o trato gastrintestinal (F_{12}) obtido no modelo Vitti-Dias.

4.2.2 Análise estatística

Os animais foram distribuídos em 4 tratamentos por grupo (4 níveis de P) em um delineamento completamente casualizado. As variáveis foram submetidas à análise de variância usando-se o procedimento GLM (SAS, 1999). A análise de regressão foi executada usando-se o procedimento SAS PROC REG. Todos os fluxos assim como o P total presente

nos ossos e tecidos, e AEs foram comparados utilizando-se o teste de Duncan, e os erros padrões da média foram obtidos utilizando-se o procedimento LSMEANS, do SAS.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ingestão de P (F_{10}) foi diferente entre os tratamentos (Tabela 5.4) e apresentou correlação positiva com o P total excretado nas fezes (F_{01}).

A correlação é demonstrada através da seguinte equação:

$$F_{01} = 0,71 F_{10} + 0,88 \quad (R^2 = 0,88; n = 12, P < 0,0001) \quad (16)$$

Uma relação similar foi observada por Dias et al. (2006), Vitti et al. (2000) e Ekelund et al. (2005), trabalhando com cordeiros, caprinos e vacas de leite, respectivamente. A relação entre F_{10} e o P fecal de origem dietética foi também observada e é representada pela equação:

$$F_{01}^{(d)} = 0,34 F_{10} + 0,16 \quad (R^2 = 0,72; n = 12, P < 0,0005) \quad (17)$$

Essa equação sugere que a ingestão de 1 g de P da dieta resultaria na excreção de 0,50 g/d de P da dieta nas fezes. Poderia-se assumir através desse valor que aproximadamente 50% do P ingerido estavam disponíveis nesse estudo. Além disso, para a ingestão zero de P na Eq. (16), o P total excretado seria 0,88 g/animal/d. Esse valor provavelmente representa a excreção de P endógeno P ($F_{01}^{(e)}$) que é destinado para atender às necessidades dos microorganismos e do animal hospedeiro. No entanto, Wu (2005) aponta que deve-se tomar cuidado quando se extrapola a excreção de P para a ingestão igual a zero porque a relação pode não ser linear se a ingestão de P está abaixo da exigência. Por outro lado, a excreção de P endógeno dos animais do T1 (0,68 g/animal/d), que apresentou a menor ingestão de P, favorece a suposição de que a perda mínima de P endógeno é ~0,88 g/animal/d pois 0,68 está próximo desse valor. O valor 0,68 g/animal/d corresponde a 30 mg/kg PV/d de perda de P

Tabela 5.4 - Fluxos de P, atividades específicas (AE) e outras entradas do modelo Vitti-Dias

	Símbolo	Níveis de P				EPM
		T1	T2	T3	T4	
Fluxos (g P/d)						
Ingestão	F_{10}	0,91 ^a	2,55 ^b	4,43 ^c	6,59 ^d	0,075
Fezes: total	F_{01}	1,39 ^a	2,85 ^b	4,09 ^b	5,50 ^c	0,38
Fezes: dieta	$F_{01}^{(d)}$	0,71 ^a	0,84 ^a	1,41 ^a	2,64 ^b	0,27
Fezes: endógeno	$F_{01}^{(e)}$	0,68 ^a	2,01 ^b	2,68 ^b	2,86 ^b	0,31
Urina	F_{02}	0,003	0,004	0,006	0,005	0,002
P absorvido da dieta	P_d	0,20 ^a	1,71 ^b	3,02 ^c	3,94 ^c	0,28
P disponível (%)	P_a	22,7 ^a	66,8 ^b	68,2 ^b	59,8 ^b	5,85
P retido	P_r	-0,48 ^a	-0,30 ^a	0,33 ^{ab}	1,08 ^b	0,39
AE (dpm/g P)						
Fezes	s_1	0,015 ^a	0,011 ^b	0,008 ^{bc}	0,006 ^c	0,001
Plasma	s_2	0,031 ^a	0,015 ^b	0,012 ^b	0,012 ^b	0,002
Ossos	s_3	18,4	16,1	13,1	17,6	3,36
Tecidos moles	s_4	50,8	39,7	28,8	29,8	9,09
Outras entradas (g)						
P plasma	Q_2	0,06	0,09	0,08	0,07	0,01
P ossos	Q_3	106,1	117,1	100,4	104,8	9,92
P tecidos moles	Q_4	13,0	13,3	11,8	13,2	1,20

Dentro da linha, médias com diferentes sobrescritos são diferentes entre si ($P < 0,05$)

endógeno, o qual é maior do que 20 mg/kg PV/d, valor sugerido pelo NRC (1985) como o valor total de perda de P endógeno para a manutenção, início da gestação, e crescimento. No

entanto, existem outros fatores como a forma física da dieta, conteúdo da fibra bruta da dieta, ingestão de MS e P que devem ser considerados no cálculo da perda endógena de P (Bravo et al., 2003).

O P da dieta excretado nas fezes ($F_{01}^{(d)}$) foi similar entre os tratamentos com exceção do T4, que apresentou o maior valor (Tabela 5.4). As porcentagens de $F_{01}^{(d)}$ em relação a F_{10} foram 78; 32,9; 31,8 e 40% para T1, T2, T3 e T4 respectivamente, onde a menor digestibilidade do P foi obtida para o T1, e valores estatisticamente iguais foram obtidos para T2, T3 e T4 (Tabela 5.4).

O P total excretado nas fezes (F_{01}) apresentou o maior valor para T4, aumentando do T1 para o T4, embora o P endógeno nas fezes tenha sido similar para T2, T3 e T4 apresentando o menor valor para T1 (Tabela 5.4). Como F_{01} é a soma de $F_{01}^{(e)}$ e $F_{01}^{(d)}$, o maior valor de F_{01} para T4 é resultado dos maiores valores para $F_{01}^{(e)}$ e $F_{01}^{(d)}$ desse tratamento.

De acordo com Spiekers et al. (1993), o P excretado nas fezes pode ser dividido em três frações: (1) P indisponível da dieta, que não pode ser absorvido em qualquer condição, (2) perda inevitável de P que deve ser excretada sob condições fisiológicas e nutricionais normais, e (3) porção regulada que pode variar de zero até grandes proporções dependendo da ingestão de P. A contribuição de P das fezes proposta por Spiekers et al. (1993) foi considerada e os resultados estão representados na Tabela 5.5 com algumas adaptações em relação à perda inevitável de P que é representada no presente trabalho pela perda de P endógeno ($F_{01}^{(e)}$).

Baseado em Ekelund et al. (2006) e NRC (1985), o valor 70% para coeficiente de absorção verdadeiro foi utilizado para calcular o P indisponível e depois o P regulado. Todos os tratamentos apresentaram valores estatisticamente similares para o P regulado, provavelmente devido ao alto valor do EPM (0,27). No entanto, os animais do T4 apresentaram o valor mais alto para o P regulado, seguido por T1, enquanto que T2 e T3

apresentaram valores muito baixos. Se o P regulado representa o excesso de P excretado nas fezes quando o P ingerido atinge as necessidades dos animais, então poderia-se argumentar que os animais do T4 e T1 receberam uma quantidade de P que superou as exigências do mesmo. Essa afirmação pode ser válida para T4, onde os animais receberam os maiores níveis de P e possivelmente além do que o necessário, no entanto para o T1 essa suposição não parece ser real, pois o T1 forneceu o menor nível de P.

Tabela 5.5 - Distribuição do P de acordo com Spiekers et al. (1993)

P dieta (g/d)	Fezes (g P/d)			Total ⁴
	Inevitável	Indisponível ²	Regulado ³	
0,91 ^a	0,68 ^a	0,27 ^a	0,44 ^a	1,39 ^a
2,55 ^b	2,01 ^b	0,76 ^b	0,07 ^a	2,85 ^b
4,43 ^c	2,68 ^b	1,33 ^c	0,07 ^a	4,09 ^b
6,59 ^d	2,86 ^b	1,97 ^d	0,67 ^a	5,50 ^c

¹P endógeno total excretado nas fezes (P_e).

²P total indisponível (g/d) = P ingerido (g/d) x 0,30 indisponível.

³P regulado estimado como = P total nas fezes – P urina – P inevitável – P indisponível.

⁴P total excretado nas fezes (F_{01}) (g/d) = P endógeno + P indisponível + P regulado.

Pode-se no, entanto inferir que como o P do T1 estava principalmente na forma orgânica (dieta sem o suplemento fosfato bicálcico), o coeficiente de absorção verdadeiro usado para esse tratamento deveria ser menor. Assim, o P indisponível seria mais alto e

consequentemente o P regulado seria menor, gerando um resultado mais condizente com a realidade.

Embora o T3 tenha apresentado valor menor do que o T4, é difícil obter uma conclusão baseado no P regulado porque os animais do T4 apresentaram o maior valor de P retido e de P absorvido nos ossos (F_{32}), sugerindo que o excesso de P fornecido aos animais foi parcialmente utilizado para a formação dos ossos. Diferente de T3 e T4, os valores de P retido foram negativos para T1 e T2 (Tabela 5.6).

Com relação ao P absorvido, a absorção verdadeira do P ocorreu com 23% de eficiência para o T1, enquanto que para os demais tratamentos a eficiência foi estatisticamente similar e igual a 65%. Vitti et al. (2000) trabalhando com caprinos encontraram 10, 57 e 69% para as dietas baixas, intermediárias e altas em P, respectivamente. Apesar das diferenças entre as espécies estudadas, a comparação dos dois trabalhos sugere que os diferentes níveis de P fornecidos por T1, T2, T3 e T4 podem ser considerados altamente deficiente, deficiente, moderado e adequado, respectivamente.

A atividade específica nas fezes (Tabela 5.4) reflete a quantidade de P da dieta presente nas fezes ($F_{01}^{(d)}$), pois os altos valores de P da dieta diluem o P radioativo diminuindo o valor da atividade específica (Kleiber et al., 1951). A mesma idéia pode ser aplicada a atividade específica do plasma onde provavelmente a tendência dos altos valores de P presente no plasma (Tabela 5.4) levou à redução dos valores da atividade específica do plasma, no entanto, a correlação entre a atividade específica das fezes e do plasma e as respectivas quantidades de P inorgânico presente nas fezes e plasma não foi significativa provavelmente devido a erros experimentais. Vitti et al. (2000) observaram valores altos para as atividades específicas no plasma e tecidos para os animais que receberam o menor nível de P, o qual também gerou os menores valores de P presente no sangue e nos tecidos moles. Assim, o trabalho de Vitti e colaboradores como esse trabalho confirmam que os valores altos

de P não radioativo presente no plasma, ossos e tecidos reduzem a atividade específica e vice-versa.

O P total presente no plasma, ossos e tecidos moles foram similares para todos os tratamentos, possivelmente devido ao curto período experimental (Tabela 5.4). No entanto, os fluxos entre o plasma e os tecidos e entre o plasma e os ossos apresentaram diferenças entre os tratamentos. O P absorvido nos tecidos (F_{42}) aumentou com o aumento do nível de P na dieta (Tabela 5.6), no entanto, esse aumento não afetou a retenção líquida de P nos tecidos. Por outro lado, o P absorvido nos ossos (F_{32}) aumentou com o aumento dos níveis do P e provavelmente contribuiu para o aumento da retenção líquida de P nos ossos (Tabela 5.6). Apesar dos menores valores de F_{32} , F_{23} , F_{42} e F_{24} para o T1, quando esses valores foram avaliados em relação ao P total absorvido (F_{21}), os maiores valores foram obtidos para o T1 (Tabela 5.6) ($P < 0,005$). Tal fato sugere que os animais desse tratamento estavam deficientes em P, mobilizando-o para atender a demanda desse mineral pelo animal. De acordo com Wu et al. (2001), os animais utilizam as reservas de P presente nos ossos para atender as funções do organismo e o Ca e P dos ossos são repostos quando existem quantidades adequadas desses minerais.

Braithwaite (1975) relatou que ovinos jovens, alimentados com uma dieta deficiente em Ca, apresentaram maiores taxas de retirada do Ca ósseo resultando na liberação de altas quantidades de P como consequência da relação entre o metabolismo desses minerais. Como os animais utilizados nesse experimento estavam em fase de crescimento, pode-se assumir que o P foi mobilizado para atender às demandas para o desenvolvimento ósseo.

Essa hipótese é apoiada pelo fato de que a retenção líquida de P nos tecidos foi negativa para todos os tratamentos (Tabela 5.6), sugerindo que o P foi mobilizado dos tecidos moles para atender às necessidades de P para a formação óssea.

Tabelas 5.6 – Fluxos de P para o modelo Vitti-Dias para ovinos alimentados com diferentes níveis de P

		Níveis de P				
Símbolo		T1	T2	T3	T4	EPM
Saídas do modelo Vitti-Dias (g P/d)						
TGI para plasma	F_{21}	0,40 ^a	6,43 ^b	8,65 ^b	8,86 ^b	1,37
Plasma para TGI	F_{12}	0,88 ^a	6,73 ^b	8,31 ^b	7,77 ^b	1,26
Plasma para osso	F_{32}	14,0 ^a	20,0 ^{ab}	19,3 ^{ab}	20,8 ^b	1,90
Osso para plasma	F_{23}	14,3	20,1	18,7	19,6	2,19
Plasma para tecido	F_{42}	1,71 ^a	2,25 ^{ab}	2,26 ^{ab}	2,64 ^b	0,19
Tecido para plasma	F_{24}	1,99	2,54	2,47	2,84	0,25
Retenção nos ossos	$F_{32}-F_{23}$	-0,21 ^a	-0,02 ^a	0,56 ^{ab}	1,28 ^b	0,34
Retenção nos tecidos	$F_{42}-F_{24}$	-0,28	-0,29	-0,21	-0,20	-0,06
F_{32} / P absorvido	F_{32}/F_{21}	35,7 ^a	3,71 ^b	2,21 ^b	2,70 ^b	1,96
F_{23} / P absorvido	F_{23}/F_{21}	36,2 ^a	3,73 ^b	2,55 ^b	2,14 ^b	1,98
F_{42} / P absorvido	F_{42}/F_{21}	4,39 ^a	0,40 ^b	0,26 ^b	0,35 ^b	0,31
F_{24} / P absorvido	F_{24}/F_{21}	5,09 ^a	0,45 ^b	0,28 ^b	0,38 ^b	0,37

Dentro das linhas, as médias com sobrescritos diferem entre si ($P < 0,05$)

Tal fato está de acordo com Ternouth e Budhi (1996) que relataram um aumento notavelmente significativo da taxa de reabsorção do P ósseo e dos tecidos moles em ovelhas que ingeriram baixos níveis de P na gestação e lactação, apoiando a hipótese de que os animais são capazes de mobilizar o P até mesmo dos tecidos moles para atender às exigências metabólicas dos animais em relação a esse mineral. Braithwaite (1983) também observou uma alta taxa de reabsorção do P em relação à absorção do P ósseo e dos tecidos moles

mesmo quando ovelhas foram alimentadas com dietas contendo altos níveis de P no final da gestação e no início da lactação, com a retenção ficando negativa e depois positiva no meio para o final da lactação quando o P foi repostado nas reservas ósseas e nos tecidos moles. É válido notar que apesar da retenção negativa observada nos tecidos moles desse estudo, os valores do P total presente nesses tecidos (entre 11,8 e 13,3 g P, Tabela 5.4) estão próximos ao valor 13,6 g de P presente nos tecidos moles, relatado por Ternouth e Sevilla (1984) para cordeiros alimentados com quantidades adequadas de P.

Assim, pode-se sugerir que animais em crescimento mobilizam pequenas quantidades de P dos tecidos moles que são destinadas ao crescimento ósseo até o final da fase de crescimento, quando o P dos tecidos moles é repostado para atender às exigências relativas ao desenvolvimento destes. No entanto, como existem apenas poucos trabalhos que fornecem informações relativas aos fluxos de P provenientes dos tecidos moles em cordeiros, essa hipótese requer futuras investigações.

Knowlton e Herbein (2002), estudando a partição de P durante o início da lactação em vacas de leite, afirmaram que uma maneira para reduzir a excreção de P nesses animais é considerar o P liberado através do catabolismo normal dos tecidos moles que ocorre durante essa fase da lactação. Essa idéia poderia ser aplicada no presente trabalho. Como a retenção líquida de P nos tecidos foi negativa para todos os tratamentos, pode-se assumir que a mobilização do P dos tecidos ocorre independente da ingestão de P. No entanto, a retenção negativa de P nos ossos para T1 e T2 sugere que o P fornecido por esses tratamentos não foi adequado para atender à exigência de P para o crescimento dos animais.

O P absorvido nos ossos (F_{32}) foi correlacionado com o P mobilizado dos ossos (F_{23}) (Eq. 18), P absorvido nos tecidos (F_{42}) (Eq. 19), e P mobilizado dos tecidos (F_{24}) (Eq. 20), como mostrado:

$$F_{32} = 0,96F_{23} + 1,09 \quad (R^2 = 0,96, n = 12, P < 0,0001) \quad (18)$$

$$F_{32} = 7,45F_{42} + 2,05 \quad (R^2 = 0,72, n = 12, P < 0,0005) \quad (19)$$

$$F_{32} = 6,91F_{24} + 1,54 \quad (R^2 = 0,74, n = 12, P < 0,0003) \quad (20)$$

Essas correlações confirmam a troca de P entre os tecidos e ossos enfatizando a maneira como o P é acessado para atender às funções dos animais e ao crescimento.

Apesar das diferenças do F_{32} entre os tratamentos, F_{23} foi similar. Ekelund et al (2006) relataram que a redução da suplementação de P da dieta durante o início da lactação não induziu o aumento da mobilização de P dos ossos, embora os autores tenham observado redução na excreção de P nas fezes e aumento na digestibilidade aparente do P. Assim, no presente trabalho, apesar da mobilização de P dos ossos ter ocorrido para manter a concentração normal de P no plasma é provável que outros mecanismos fisiológicos, como a absorção de P no trato gastrointestinal, tenham ocorrido para fornecer P para a mesma finalidade.

Assim, se os maiores níveis de ingestão de P provocaram maiores valores de absorção de P nos ossos para os animais em crescimento, mas também causaram maiores valores de excreção de P, o limiar entre o fornecimento de P para gerar melhor performance sem resultar no aumento de excreção de P nas fezes deve ser alcançado com cautela.

Baseado na relação entre o P total retido (P_r) e o P ingerido (F_{10}) representado pela equação:

$$P_r = 0,28F_{10} - 0,89 \quad (R^2 = 0,54; n = 12; P < 0,006) \quad (21)$$

o valor de F_{10} obtido quando P_r é zero foi igual a 3,18 g/animal/d. Esse valor é considerado a exigência mínima de P para ovinos com peso 22,6 kg e está próximo do valor recomendado pelo AFRC (1991) de 3,1 g P/d no entanto é maior do que o valor 2,3 g P/d estabelecido pelo NRC (1985) para cordeiros de 20 kg. Além disso, extrapolando o valor da ingestão para zero na equação, a retenção fica negativa (-0,89 g/d). Esse valor está muito próximo do valor obtido na Eq. (16), na qual 0,88 g/d é a quantidade de P excretada nas fezes quando a ingestão

é zero. Assim, ambas as equações sugerem que 0,88 g/d é o valor da perda inevitável de P endógeno para cordeiros, que mobilizam P das reservas corpóreas para suprir suas demandas.

5.4 CONCLUSÃO

Avaliando os fluxos internos de P assim como as excreções de P, atividades específicas, retenções líquidas, e a exigência mínima de P, conclui-se que o T3 proporcionou a melhor utilização do P.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No primeiro trabalho, o modelo Vitti foi revisado através da utilização de dados referentes às atividades específicas inseridos na curva de decaimento, obtidos a partir de diferentes intervalos após a injeção do P e do Ca radioativos. Os fluxos bidirecionais entre o plasma e os ossos foram maiores que os fluxos entre o plasma e os tecidos moles, comprovando que a revisão feita no modelo Vitti melhorou a acurácia do mesmo em relação ao metabolismo do P.

A excreção de P nas fezes foi maior do que a ingestão, levando à retenção negativa do mineral. A baixa disponibilidade do P causou a baixa absorção. Embora o P do fitato não tenha sido completamente digerido, a digestibilidade dos demais tipos de P foi ainda menor. Especula-se que parte do P do fitato tenha sido digerido no intestino grosso, sendo posteriormente excretado como P inorgânico, levando a superestimativa no cálculo da digestibilidade do fitato. Os valores de absorção e excreção de P do fitato estimados no modelo fornecem informações importantes para futuros estudos relacionados à utilização do P do fitato pelos ruminantes.

A retenção negativa de P provocou a mobilização do P dos ossos e tecidos, e principalmente em relação aos ossos, a estreita relação metabólica entre o Ca e o P pode ter afetado a absorção do Ca, que apresentou valor considerado abaixo da média apresentada na literatura para animais ingerindo quantidades adequadas de Ca. Como consequência dos elevados fluxos de P entre o plasma e os ossos, a proporção de Ca:P mobilizada e absorvida nos ossos foi maior do que 2:1.

O P mobilizado dos ossos e tecidos para o plasma provavelmente foi a causa do aumento do P plasmático (123 mg/l), que foi considerado maior do que os valores normais da categoria animal (40 a 90 mg/l). O valor elevado do P plasmático pode ter influenciado a

excreção de P endógeno nas fezes, que foi bastante significativa. Além disso, o P plasmático acima do limiar renal (60 mg/l) pode ter afetado a excreção de P através da urina.

O valor negativo para retenção de P não é esperado para animais na fase de crescimento, por isso sugere-se que alguma característica da dieta tenha prejudicado a digestibilidade do P.

No segundo capítulo, os tratamentos foram analisados através da comparação do modelo Vitti revisado (Dias et al., 2006) com o modelo Fernandez (1995), que teve o compartimento representando os tecidos, adicionado por Lopes et al. (2001).

A fonte de Ca que apresentou melhores resultados de absorção e retenção foi o calcário. A farinha de conchas também apresentou resultados positivos quanto à retenção de Ca, no entanto os animais desse tratamento parecem não ter absorvido suficiente Ca para atender às exigências nutricionais de Ca para o crescimento. Assim, avaliando-se os fluxos dos modelos concluiu-se que as fontes inorgânicas apresentaram os melhores resultados quando comparados com as fontes orgânicas de Ca (FA e PC). O oxalato presente no feno de alfafa e a pectina presente na polpa cítrica podem ter acarretado nos baixos valores de digestibilidade para o Ca presente nessas fontes. Além disso, essas fontes de Ca resultaram em maiores valores para o Ca reciclável em relação ao Ca absorvido, sugerindo que a produção de Ca endógeno foi maior para esses tratamentos. Tal fato é apoiado pelo fato de que esses alimentos (feno de alfafa e polpa cítrica) estimulam a produção salivar, e por isso, a saliva contendo Ca pode ter levado à tendência de valores mais elevados do fluxo de Ca reciclável em relação ao Ca absorvido. Além disso, o P reciclável (F_{12}) apresentou tendência para valores maiores nesses tratamentos. Apesar do P endógeno presente nas fezes ter sido igual para todos os tratamentos, houve uma tendência para maiores excreções do P endógeno para os tratamentos FA e PC refletindo um controle homeostático desse mineral, pois o P excretado na urina foi menor para os tratamentos FA e PC e maior para os tratamentos C e

FCO, sugerindo uma alteração na rota de excreção devido ao fato do P do plasma ter ultrapassado o limiar renal (60 mg/l), acima do qual a excreção do P na urina se torna uma rota importante para eliminação do P quando a secreção de P salivar não é estimulada. Os valores elevados do P do plasma também podem ter influenciado os valores elevados do P endógeno que representaram 80, 79, 105 e 80% da ingestão de P para os tratamentos C, FA, PC e FCO respectivamente. Sabe-se que o P plasmático quando elevado afeta a secreção de P salivar devido ao controle homeostático do metabolismo do P.

Todos os tratamentos resultaram em fluxos de reabsorção de P maiores do que os fluxos de absorção nos ossos e tecidos em ambos os modelos, sugerindo que os animais apresentavam deficiência de P. Tal fato pode ter ocorrido devido à problemas de digestibilidade provocado por alguma característica da dieta, no entanto não há dados suficientes nesse trabalho para comprovar essa hipótese.

A baixa disponibilidade do P da dieta pode ter afetado o metabolismo do Ca. No entanto sugerem-se mais estudos referentes a essa questão.

Os dois modelos levaram à conclusão de que os animais estavam deficientes em P, no entanto o modelo Vitti revisado parece representar com maior evidência o metabolismo do P enquanto que o modelo FL parece representar melhor o metabolismo do Ca, provavelmente devido à construção desses modelos que foi baseada no metabolismo de cada mineral respectivamente.

Apesar das pequenas diferenças entre os modelos ambos apresentaram resultados que acarretaram nas mesmas conclusões, podendo-se afirmar então que ambos podem ser utilizados no estudo do metabolismo do Ca e do P.

No terceiro trabalho, o modelo Vitti revisado foi utilizado para avaliar os efeitos de diferentes níveis de P fornecido para cordeiros.

Os níveis de P oferecidos afetaram os fluxos de P entre o plasma e os tecidos, plasma e os ossos e o plasma e o TGI, uma vez que a absorção de P aumentou com a ingestão do mineral. A retenção de P nos tecidos foi negativa para todos os tratamentos confirmando a hipótese dos trabalhos anteriores de que os animais em crescimento mobilizam P dos tecidos para atenderem às exigências de P para o desenvolvimento ósseo. Também é interessante notar que a mobilização e absorção do P dos ossos e dos tecidos em relação à absorção total de P foi maior para o T1, tratamento com a menor quantidade de P (g/d), mostrando que os animais desse tratamento não consumiram quantidades adequadas de P e por isso mobilizaram maiores quantidades do P absorvido.

O P plasmático foi considerado dentro dos níveis normais para essa categoria animal e parece não ter afetado a excreção de P na urina, que foi irrelevante e a excreção de P endógeno, que provavelmente foi influenciada por outros fatores.

A excreção de P endógeno foi menor para o T1, no entanto as porcentagens em relação ao P ingerido foram 74,7; 78; 60,5 e 43,4% para T1, T2, T3 e T4 respectivamente. Embora não tenha sido observada correlação entre o P ingerido e o P endógeno nas fezes supõe-se que nesse trabalho, a secreção de P endógeno foi influenciada pela ingestão e absorção de P. Tal suposição é apoiada pelo segundo trabalho, no qual os animais excretaram elevados níveis de P endógeno nas fezes e absorveram baixos níveis de P, ou seja, quanto maiores os níveis de absorção de P menor a necessidade de secretar P. Pode-se sugerir que a secreção de P endógeno nesses trabalhos representa um mecanismo homeostático para fornecer o P necessário para a manutenção do ambiente ruminal e das atividades metabólicas das quais o P participa. No entanto, alguns trabalhos sugerem que a secreção de P endógeno está relacionada principalmente com a ingestão de P. Assim são necessárias mais pesquisas para esclarecer quais os mecanismos que atuam sobre a secreção de P endógeno, pois esse deve ser considerado no cálculo das exigências de P.

A excreção de P nas fezes aumentou com o aumento da ingestão desse mineral. Como a excreção de P nas fezes é uma questão importante considerada pelos pesquisadores que procuram meios para reduzi-la na tentativa de evitar problemas de poluição ambiental, é essencial avaliar o aproveitamento do P juntamente com outros fatores que possam afetar o desempenho animal e a excreção de P nas fezes.

Nesse contexto, concluiu-se que o T3 foi o tratamento que forneceu a quantidade mais adequada de P, pois a absorção de P foi destinada para o desenvolvimento ósseo e o valor da excreção de P da dieta nas fezes foi menor do que o T4. Além disso, a distribuição de P de acordo com Spiekers et al. (1993), mostrou que a quantidade de P indisponível aumentou com a ingestão de P e que o valor do P regulado apresentou tendência de ser mais elevado para o T4, apoiando a hipótese de que esse tratamento forneceu P além das exigências.

A exigência de P foi calculada através da relação entre o P retido e o P ingerido, e o valor 3,18 g P por dia foi obtido. Esse valor encontra-se entre a média do P fornecido pelo T2 e pelo T3. No entanto, os animais do T2 apresentaram retenção de P negativa nos ossos, apoiando a conclusão de que o T3 (3g P/d) forneceu a quantidade ideal de P para os animais estudados nesse trabalho.

Dentro do contexto apresentado nesse trabalho, o modelo Vitti revisado e utilizado para avaliar o metabolismo do P e do Ca, mostrou ser uma ferramenta importante nos estudos que visam obter o conhecimento relativo às demandas e interrelações desses minerais. No entanto futuros trabalhos são sugeridos para esclarecer as dúvidas surgidas durante esse estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. Technical Committee on Responses to Nutrients. A reappraisal of the calcium and phosphorus requirements of sheep and cattle. **Nutrition Abstracts and Reviews**. Series B: Livestock Feeds and Feeding, Wallingford, v. 61, p. 573-612, 1991.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the AOAC**. 16 ed, Arlington: AOAC International, 1995.

AUBERT, J. P.; MILHAUD, G. Méthod de mesure des principales voies du métabolisme calcique chez l'homme. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 39, p. 122-139, 1960.

BALDWIN, R.L. Modeling Ruminant Digestion and Metabolism. 1st ed. London, U.K: Chapman e Hall. 1995. 578 p.

BIBBY, J.; TOUTENBURG, H. **Prediction and improved estimation in linear models**. London: Wiley, 1977.

BRAITHWAITE, G. D. Studies on the absorption and retention of calcium and phosphorus by young and mature Ca-deficient sheep. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 34, p. 311-324, 1975.

BRAITHWAITE, G.D. Calcium and phosphorus requirements of the ewe during pregnancy and lactation.2. Phosphorus. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.50, p.723-736, 1983.

BRAVO, D.; MESCHY, F.; BOGAERT, C.; SAUVANT, D. Effects of fungal phytase addition, formaldehyde treatment and dietary concentrate content on ruminal phosphorus availability. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 99, p. 73-95, 2002.

BRAVO, D.; SAUVANT, D.; BOGAERT, C.; MESCHY, F. III. Quantitative aspects of phosphorus excretion in ruminants. **Reproduction, Nutrition, Development**, Paris, v. 43, p. 285-300, 2003.

CALL, J.W.; BUTCHER J.E., BLAKE, J.T., SMART, R.A., SHUPE, J.L. Phosphorus influence on growth and reproduction of beef cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v.47, n.1, p.216-225, 1978.

CALL, J.W.; BUTCHER J.E., BLAKE, R.A., SHUPE, J.L., LAMB, R.C. Clinical effects of low dietary phosphorus concentrations in feed given to lactating dairy cows. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.48, n.1, jan. 1987.

CARE, A. D. The absorption of phosphate from the digestive tract of ruminant animals. **British Veterinary Journal**, London, v. 150, p. 197-205, 1994.

CHALLA, J.; BRAITHWAITE, G. D. Phosphorus and calcium metabolism in growing calves with special emphasis on phosphorus homeostasis. 3. Studies of the effect of continuous intravenous infusion of different levels of phosphorus in ruminating calves receiving adequate dietary phosphorus. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 110, p. 591-595, 1988.

CHALLA J.; BRAITHWAITE, G. D.; DHANOA. M. S. Phosphorus homeostasis in growing calves. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 112, p. 217-226, 1989.

CHAPUIS-LARDY, L.; FIORINI, J.; TOTH, J. D.; DOU, Z. Phosphorus concentrations in dairy feces: variability and affecting factors. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 87, p. 4334-4341, 2004.

CHRISP, J. S.; SYKES, A. R.; GRACE, N. D. Faecal endogenous loss of calcium in young sheep. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 61, p. 59-96, 1989.

DIAS, R. S., KEBREAB, E., VITTI, D. M. S. S., ROQUE, A. P., BUENO, I. C. S., FRANCE, J. A revised model for studying phosphorus and calcium kinetics in growing sheep. **Journal of Animal Science** Albany, v.84, p. 2787-2794, 2006.

DUA K.; CARE D. The role of phosphate on the rates of mineral absorption from the forestomach of sheep. **The Veterinary Journal**, v.157, p.51-55. 1999.

DUTTON, J. E.; FONTENOT, J. P. Effect of dietary organic phosphorus on magnesium metabolism in sheep. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 26, p. 1409-1414, 1967.

EECKHOUT, W.; DE PAEPE, M. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 47, p. 19-29, 1994.

EKELUND, A.; SPORNDLY, R.; VALK, H.; MURPHY, M. Influence of feeding various phosphorus sources on apparent digestibility of phosphorus in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 109, p. 95-104, 2003.

EKELUND, A.; SPORNDLY, R.; VALK, H.; MURPHY, M. Effects of varying monosodium phosphate intake on phosphorus excretion in dairy cows. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 96, p. 301-306, 2005.

EKELUND, A.; SPORNDLY, R.; HOLTENIUS, K. Influence of low phosphorus intake during early lactation on apparent digestibility of phosphorus and bone metabolism in dairy cows. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 99, p. 227-236, 2006.

ELLIS, L. C.; TILLMAN, A. D. Utilization of phytin phosphorus in wheat bran by sheep. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 20, p. 606-607, 1961.

FERNANDEZ, J.A. Calcium and phosphours metabolism in growing pigs. III. A model resolution. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.41, p.255-261, 1995a.

FERNANDEZ, J. A. Calcium and phosphorus metabolism in growing pigs. I. Absorption and balance studies. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 41, p. 233-241, 1995b.

FERNANDEZ, J. A. Calcium and phosphorus metabolism in growing pigs. II. Simultaneous radio-calcium and radio-phosphorus kinetics. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 41, p. 243-254, 1995c.

FIELD, A. C.; KAMPHUES, J.; WOOLLIAMS, J. A. The effect of dietary intake of calcium and phosphorus on the absorption and excretion of phosphorus in chimaera-derived sheep. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 101, p. 597-602, 1983.

FISKE, C. H.; SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 66, p. 375-400, 1925.

FRANCE, J.; THORNLEY, J. H. M. **Mathematical models in agriculture**: A quantitative approach to problems in agriculture and related sciences. London: Butterworth, 1984. 335 p.

GIRALDO MEJIA, A. B. **Estratégias para a avaliação nutricional da polpa cítrica seca em suínos em terminação**. 1999. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1999.

GODOY, S.; MESCHY, F. Utilization of phytate phosphorus by rumen bacteria in a semi-continuous cultures system (Rusitec) in lactating goats fed on different forage to concentrate ratios. **Reproduction, Nutrition, Development**, Paris, v. 41, p. 259-265, 2001.

GRACE, N. D.; ULYATT, M. J.; MACRAE, J. C. Quantitative digestion of fresh herbage by sheep. III. The movement of Mg, Ca, P, K and Na in the digestive tract. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 82, p. 321-330, 1974.

GRACE, N.D. Phosphorus kinetics in the sheep. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.45, p.367-374, 1981.

HIGHFILL, B.D.; BOGS, D.L.; AMOS, H.E.; CRICKMAN, J.G. Effects of high fiber energy supplements on fermentation characteristics and in vivo and in situ digestibilities of low quality fescues hay. **Journal of Animal Science**, Albany, v.65, n.1, p.224-234, 1987.

HORROKS D. L.; PENG, C. T. **Organic scintillators and liquid scintillation counting**. New York: Academic Press, 1971. 1078 p.

HORST, R.L. Regulation of calcium and phosphorus homeostasis in dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.69, p.604-616, 1986.

KEBREAB, E.; SHAH, M. A.; BEEVER, D. E.; HUMPHRIES, D. J.; SUTTON, J. D.; FRANCE, J.; MUELLER-HARVEY, I. Effects of contrasting forage diets on phosphorus utilization in lactating dairy cows. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 93, p. 125-135, 2005.

KLEIBER, M.; SMITH, A. H.; RALSTON, N. P.; BLACK, A. L. Radiophosphorus (P^{32}) as tracer for measuring endogenous phosphorus in cow's feces. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 45, p. 253-256, 1951.

KNOWLTON, K. F.; HERBEIN, J. H. Phosphorus partitioning during early lactation in dairy cows fed diets varying in phosphorus content. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 85, p. 1227-1236, 2002.

LATTA, M.; ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 28, p. 1313-1315, 1980.

LOFGREEN, G.P.; KLEIBER, M. The availability of the phosphorus in alfafa hay. **Journal of Animal Science**, Albany, v.12, n.2, p.366-371, 1953.

LOPES, J. B.; VITTI, D. M. S. S.; ABDALLA, A. L.; HADDAD, M. L.; FIGUEREDO, A. V.; MORAES, R. C. B. Modelo do fluxo biológico do fósforo de fontes de fosfato em suínos,

usando o ^{32}P como marcador. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, p. 165-173, 2001.

LUCCI, C.S.; VELLOSO, L.; MASOTTI, N. Polpa seca de laranja versus milho desintegrado, em misturas concentradas para vacas em lactação. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.12, p.163-168, 1975.

MARTZ, F. A.; BELO, A. T.; WEISS, M. F.; BELYEA, R. L. True absorption of calcium and phosphorus from corn silage fed to nonlactating, pregnant dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 82, p. 618-622, 1990.

MATSUI, T. Relationship between mineral availabilities and dietary phytate in animals. **Animal Science Journal**, Taikoku, v. 73, p. 21-28, 2002.

MCDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. London: Academic Press, 1992. 524 p.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds using refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 82, p. 1217-1240, 2002.

MORSE, D.; HEAD, H.H.; WILCOX, C.J.; VAN HORN, H.H.; HISSEM, C.D.; HARRIS JUNIOR, B. Effects of concentration of dietary phosphorus on amount and route of excretion. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.75, p.3039-3049, 1992a.

MORSE, D.; HEAD, H. H.; WILCOX, C. J. Disappearance of phosphorus in phytate from concentrates in vitro and from rations fed to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 75, p. 1979-1986, 1992b.

NAGORCKA, B.; EVANS, E.; ROBINSON, P.H. Models in animal agriculture: preface to the special issue. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.112, p.1-4, 2004.

NASCIMENTO FILHO, V. F. **Utilização do efeito Cerenkov na detecção de radionuclídeos emissores de radiações beta.** Piracicaba: CENA, 1977. 67 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of sheep.** 6. rev. ed. Washington, DC.: National Academic Press, 1985.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requeriments of domestic animals: nutrient requeriments of beef cattle.** 7 ed. Washington, DC.: National Academic Press, 1996.

NELSON, T.S.; DANIELS, L.B.; HALL, L.B.; SHIELDS, L.G. Hydrolysis of natural phytate phosphorus in the digestive tract of calves. **Journal of Animal Science**, Albany, v.42, n.6, 1509-1512, 1976.

PARK, W. Y.; MATSUI, T.; YANO, H. Post-ruminal phytate degradation in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 101, p. 55-60, 2002.

PFEFFER, E.; MATSUI, T.; YANO, F.; YANO, H. Studies on intestinal digestion in the sheep. 3. Net movement of certain inorganic elements in the digestive tract on rations containing different proportions of hay and rolled barley. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 24, p. 197-204, 1970.

RAMBERG, C.F.; JR MAYER, G.P.; KRONFELD, D.S.; PHANG, J.M.; BERMAN, M. Calcium kinetics in cows during late pregnancy, parturition, and early lactation. **American Journal of Physiology**, v. 219, n.5, 1970.

RAPP, C.; LANTZSCH, H.-J.; DROCHNER, W. Hydrolysis of phytic acid by intrinsic plant and supplemented microbial phytase (*Aspergillus niger*) in the stomach and small intestine of minipigs fitted with re-entrant cannulas. 3. Hydrolysis of phytic acid (IP₆) and occurrence of hydrolysis products (IP₅, IP₄, IP₃ and IP₂). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 85, p. 420-430, 2001.

RAVINDRAN, V.; RAVINDRAN, G.; SIVALOGAN, S. Total and phytate phosphorus contents of various foods and feedstuffs of plant origin. **Food Chemistry**, Barking, v. 50, p. 133-136, 1994.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. Análises químicas em plantas. Piracicaba: ESALQ, Departamento de Química, 1974. p. 6-58: Determinação colorimétrica do fósforo.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT User's guide** (Release 8.00). Cary: SAS Institute, 1999.

SCHNEIDER, K. M.; BOSTON, R. C.; LEAVER, D. D. The metabolism of phosphorus and calcium in sheep during intravenous infusion of phosphorus. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 33, p. 827-842, 1983.

SCHNEIDER, K. M.; TERNOUTH, J. H.; SEVILLA, 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. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 36, p. 91-105, 1985.

SCHULIN-ZEUTHEN, M.; LOPES, J. B.; KEBREAB, E.; VITTI, D. M. S. S.; ABDALLA, A. L.; HADDAD, M. D.; CROMPTON, L. A.; FRANCE, J. Effects of phosphorus intake on phosphorus flow in growing pigs: application and comparison of two models. **Journal of Theoretical Biology**, London, v. 236, p. 115-125, 2005.

SCOTT, D.; MCLEAN, A. F.; BUCHAN, W. The effect of variation in phosphorus intake on net intestinal phosphorus absorption salivary phosphorus secretion and pathway of excretion in sheep fed roughage diets. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, London, v. 69, p. 439-452, 1984.

SCOTT, D.; BUCHAN, W. The effects of feeding either roughage or concentrate diets on salivary phosphorus secretion, net intestinal phosphorus absorption and urinary phosphorus

excretion in the sheep. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, London, v. 70, p. 365-375, 1985.

SCOTT, D.; BUCHAN, W. The effects of feeding hay or grass diets on saliva phosphorus secretion, net intestinally phosphorus absorption and on the partition of phosphorus excretion between urine and faeces in the sheep. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, London, v. 72, p. 331-338, 1987.

SCOTT, D.; BUCHAN, W. The effects of feeding pelleted diets made from either coarsely or finely ground hay on phosphorus balance and on the partition of phosphorus excretion between urine and faeces in the sheep. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, London, v. 73, p. 315-322, 1988.

SHAPIRO, R.; HEANEY, R. P. Co-dependence of calcium and phosphorus for growth and bone development under conditions of varying deficiency. **Bone**, Elmsford, v. 32, p. 532-540, 2003.

SHEN, Y.; YIN, Y.; CHAVEZ, E. R.; FAN, M. Z. Methodological aspects of measuring phytase activity and phytate phosphorus content in selected cereal grains and digesta and feces of pigs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, p. 853-859, 2005.

SKRIVANOVA, V.; MAROUNEK, M.; DVORAK, R. Digestibility of total and phytate phosphorus in young calves. **Veterinární Medicína – Czech**, Prague, v. 49, p. 191-196, 2004.

SPIEKERS, H.; BRINTUP, R.; BALMELLI, M.; PFEFFER, E. Influence of dry matter intake on faecal phosphorus losses in dairy cows fed rations low in phosphorus. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 69, p.37-43, 1993.

TAKASUGI, S.; MATSUI, T.; YANO, H. Effects of excess calcium as a different form on mineral metabolism in rats. **Animal Science Journal**, Taikoku, v. 76, p. 469-474, 2005.

TAMIM, N. M.; ANGEL, R. Phytate phosphorus hydrolysis as influenced by dietary calcium and micro-mineral source in broiler diets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 4687-4693, 2003.

TAMMINGA, S. A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. **Journal of Animal Science**, Albany, v.74, p.3112-3124, 1996.

TAMMINGA, S. Nutritional management of dairy cows as a contribution to pollution control. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.75, .345-357, 1992.

TEDESCHI, L. O.; FOX, D. G.; SAINZ, R. D.; BARIONI, L. G.; MEDEIROS, S. R.; BOIN, C. Mathematical models in ruminant nutrition. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, p. 79-91, 2005.

TERENCE, C. Evolving policies to regulate pollution from animal feeding operations. **Environmental Management**, New York, v. 28, p. 599-609, 2001.

TERNOUTH, J.H.; SEVILLA, C.C. Effects of phosphorus deficiency on food intake, growth and absorption of calcium and phosphorus by lambs. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.64, p.221-221, 1984. Supplement.

TERNOUTH, J.H. Phosphorus and beef production in northern Australia. 3. Phosphorus in cattle - a review. **Tropical Grassland**, v.24, p.159-169, 1990.

TERNOUTH, J. H.; BUDHI, S. P. S. Effects of dietary phosphorus deficiency in pregnant and lactating ewes. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 36, p. 137-144, 1996.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Deficiências minerais em animais de fazenda principalmente bovinos em regime de campo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 20, p. 127-138, 2000.

TOMAS, F. M. Phosphorus homeostasis in sheep. II. Influence of diet on pathway of excretion of phosphorus. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 25, p. 485-493, 1974.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, E. N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3. ed. Wallingford: CAB International, 1999.

VALK, H.; SEBEK, L.B.J. Influence of long-term feeding of limited amounts of phosphorus on dry matter intake, milk production, and body weight of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.82, p.2157-2163, 1999.

VALK, H.; METCALF, J. A.; WITHERS, P. J. A. Prospects for minimizing phosphorus excretion in ruminants by dietary manipulation. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 29, p. 28-36, 2000.

VALK, H.; SEBEK, L. B. J.; BEYNEN, A. C. Influence of phosphorus intake on excretion and blood plasma and saliva concentrations of phosphorus in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 85, p. 2642-2649, 2002.

VALK, H.; BEYNEN, A. C. Proposal for the assessment of phosphorus requirements of dairy cows. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 79, p. 267-272, 2003.

VAN HORN, H.H., WILKIE A.C., POWERS W.J., NORDSTEDT. Components of dairy manure management systems. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.77, n.7, 1994.

VITTI, D. M. S. S.; KEBREAB, E.; LOPES, J. B.; ABDALLA, A. L.; CARVALHOS, F. F. R. de; RESENDE, K. T. de; CROMPTON, L. A.; FRANCE, J. A kinetic model of

phosphorus metabolism in growing goats. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 78, p. 2706-2712, 2000.

VIVEROS, A.; CENTENO, C.; BRENES, A.; CANALES, R.; LOZANO, A. Phytase and acid phosphatase activities in plant feedstuffs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, p. 4009-4013, 2000.

WARD, G.; HARBERS, L. H.; BLAHA, J. J. Calcium containing crystals in alfalfa: their fate in cattle. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 62, p. 715-722, 1979.

WELCH, J. G.; SMITH, A. M. Effect of beet pulp and citrus pulp on rumination activity. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 33, p. 472-475, 1971.

WU, Z.; SATTER, L.D. Milk production and reproductive performance of dairy cows fed low or normal phosphorus diets. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 76, Suppl.1, 1998.

WU, Z.; SATTER, L. D.; SOJA, R. Milk production, reproductive performance, and fecal excretion of phosphorus by dairy cows fed three amounts of phosphorus. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 83, p. 1028-1041, 2000.

WU, Z.; SATTER, L. D.; BLOHOWIAK, A. J.; STAUFFACHER, R. H.; WILSON, J. H. Milk production, estimated phosphorus excretion, and bone characteristics of dairy cows fed different amounts of phosphorus for two or three years. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 84, p. 1738-1748, 2001.

WU. Utilization of phosphorus in lactating cows fed varying amounts of phosphorus and sources of fiber. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, 88:2850-2859, 2005.

ZAGATTO, E. A. G.; KRUG, F. J.; BERGAMIM FILHO, H.; JORGENSEN, S. S.; REIS, B. F. Margin zones in flow injection analysis. Part 2. Determination of calcium, magnesium and potassium in plant material by flow injection atomic and flame emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 104, p. 279-284, 1979.

