

AVALIAÇÃO METABÓLICA DA REDUÇÃO DE FÓSFORO INORGÂNICO E SUPRESSÃO DE MICROMINERAIS E VITAMÍNAS EM DIETAS COM FITASE PARA SUÍNOS

MOEMA PACHECO CHEDIAK MATOS,¹ ROMÃO DA CUNHA NUNES,³ JURIJ SOBESTIANSKY,²
EURÍPEDES LAURINDO LOPES,² MARIA CLORINDA SOARES FIORAVANTI,³ ANDRÉA CINTRA BASTOS TORRES,⁴
GIORGIA TOMITÃO MÁRIO⁵ E LUIZ AUGUSTO BATISTA BRITO²

1. Doutoranda em Ciência Animal da EV/UFG, Departamento de Medicina Veterinária da EV/UFG, CP 131, Goiânia, GO, CEP: 74001-930.

E-mail: mpcmatos@vet.ufg.br

2. Professor titular da EV/UFG / 3. Professor adjunto da EV/UFG / 4. Mestranda da EV/UFG / 5. Residente da EV/UFG

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da restrição micromineral-vitamínica com redução gradativa do fósforo inorgânico em rações contendo fitase sobre o metabolismo ósseo, função hepática e renal de suínos em terminação. Alojaram-se 48 fêmeas suínas com idade inicial de 105 dias ($66,15 \pm 0,14$ kg), recebendo dietas experimentais à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo. Os animais foram divididos aleatoriamente em seis tratamentos: dieta completa (T1), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico (T2), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico e com fitase (T3), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 1/3 de fósforo inorgânico e com fitase (T4), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 2/3 de fósforo inorgânico e com fitase (T5), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem fósforo inorgânico e com fitase (T6). Dividiu-se o experimento em duas etapas, sendo a primeira composta por 24 animais que foram abatidos aos 150 dias (106,65 kg) e a segunda

composta por 24 animais que foram abatidos aos 175 dias (123,87 kg). Avaliaram-se os seguintes itens: cálcio total, cálcio iônico, fósforo, relação cálcio-fósforo, proteínas totais, albumina, AST, GGT, ALP, uréia e creatinina no soro. Para isso, fez-se uso de um analisador bioquímico automático e de reagentes comerciais. Os resultados obtidos das análises do cálcio total, cálcio iônico, fósforo, relação Ca: P proteínas totais, albumina, AST, GGT, ALP, uréia e creatinina mostraram-se dentro do intervalo de normalidade. A redução do fósforo inorgânico, em dietas suplementadas com fitase, não interferiram no metabolismo ósseo. A retirada do suplemento micromineral-vitamínico e a redução progressiva do fósforo inorgânico em dietas suplementadas com fitase não provocaram alterações nas provas de função hepática e renal. A restrição de microminerais e de vitaminas por sessenta dias na fase de terminação não provocou alterações clínicas nos animais.

PALAVRAS-CHAVES: Função hepática, função renal e metabolismo ósseo.

ABSTRACT

METABOLIC EVALUATIONS IN PIGS WITH MICRO MINERAL AND VITAMINS WITHDRAWAL, INORGANIC PHOSPHORUS REDUCTION AND PHYTASE SUPPLEMENTATION

The experiment aimed to evaluate the effects of diets without micro minerals and vitamins, reduced inorganic phosphorus levels and phytase addition in bone metabolism

and renal and hepatic functions in finishing pigs. Forty eight 105-day old females were randomly allotted in six groups: standard diets (T1), composed of corn, soybean meal and

wheat meal; standard ration without micro mineral and vitamin supplement (T2); T2 ration with phytase (T3) T2 ration reducing 1/3 of inorganic P with phytase (T4), T2 ration reduced 2/3 of inorganic P with phytase (T5) and T2 ration with complete reduction of inorganic P with phytase (T6). The experiment was carried out in two phases: phase 1: 24 animals slaughtered at 150 days of age (106.65 kg); and phase 2: 24 animals slaughtered at 175 days of age (123.87 kg). The serum parameters evaluated were: total and ionic calcium, phosphorus, calcium/phosphorus ratio, total protein, albumin, AST, GGT, alkaline phosphatase,

urea and creatinine. All biochemical parameters were analyzed using commercial kits in an automatic analyzer. The levels obtained for all analyzed parameters ranged within normal established values for this species and age. Inorganic phosphorus decrease in phytase-added diets did not interfere in bone metabolism. Vitamin and mineral supplements withdrawal and progressive decrease of inorganic phosphorus and phytase addition in diets of finishing pigs did not change hepatic or renal function. Micro minerals and vitamin restriction for 60 days during finishing phase in pigs did not lead to clinical changes.

KEY WORDS: Bone metabolism, hepatic function, renal function.

INTRODUÇÃO

Em dietas para suínos, compostas principalmente por milho e farelo de soja, o fósforo (P) encontra-se, na sua maior parte, na forma de ácido fítico, indisponível para monogástricos (TEJEDOR et al., 2001). Para promover a disponibilização do fósforo, a enzima fitase libera, além do fósforo, outros nutrientes que formam complexos com o fitato (ADEOLA et al., 1995; PETERSSON, 2001; LUDKE et al., 2002).

Diante da evidência clínica sugestiva de distúrbios metabólicos, devem ser determinados tanto os níveis séricos de cálcio e fósforo, bem como a concentração de proteínas totais (COLES, 1986). A determinação da atividade da fosfatase alcalina (ALP) no soro é de particular interesse na investigação da doença hepatobiliar e óssea, mostrando elevações moderadas na osteomalácia e bastante elevadas no raquitismo (MOSS & HENDERSON, 1998).

O nível de aspartato aminotransferase (AST) é indicador não específico de lesão hepática, apesar de ocorrer em alta concentração nos hepatócitos. Já a determinação da atividade enzimática da gama glutamiltransferase (GGT) é o melhor indicador, especialmente para lesão aguda do fígado e dos ductos biliares (RADOS-TITIS et al., 1994).

Podem-se observar drásticas alterações nos valores das proteínas plasmáticas em hepatopatas e nefropatas (COLES, 1986; SILVERMAN & CHRISTENSON, 1998). Nas lesões severas, especialmente as parenquimatosas, a formação

das proteínas plasmáticas é retardada e qualquer fator que afete a síntese de albumina pode causar diminuição na relação albumina-proteína (MULLEN, 1976).

Para WELTHON et al. (1998), a determinação de uréia sérica em conjunto com a creatinina se fundamenta na determinação da localização da origem da azotemia.

Neste trabalho, avaliaram-se os efeitos da restrição micromineral-vitamínica na dieta com redução gradativa do P inorgânico e adição de fitase no metabolismo ósseo, função hepática e renal de suínos em terminação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Setor de Suinocultura do Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás de agosto a outubro de 2004. Dividiu-se o período experimental em duas etapas, uma composta por 24 fêmeas abatidas aos 150 dias com 106,65 kg de peso médio (35 dias de experimento) e outra por 24 fêmeas abatidas aos 175 dias com 123,87 kg de peso médio (60 dias de experimento).

Alojaram-se os animais em galpão de terminação com 24 baias em alvenaria, piso compacto, as quais foram dispostas em fila dupla com corredor central. Na primeira fase, aos pares, alojaram-se 48 fêmeas suínas hípidas de linhagem comercial, com 105 dias de idade e 66,15 kg de peso médio, permanecendo, pelo período de sete dias, em adaptação às novas condições experi-

mentais. Aos 150 dias de vida, realizou-se o abate de 24 animais e as fêmeas restantes foram alojadas individualmente até os 175 dias de idade.

As marrãs foram divididas em seis tratamentos: dieta completa (grupo-controle); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico (T2); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico com fitase (T3); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 1/3 de fósforo inorgânico com fitase (T4); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 2/3 de fósforo inorgânico com fitase (T5) e dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 3/3 de fósforo inorgânico com fitase (T6).

Formularam-se as dietas experimentais à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com 16,7% de proteína bruta, 3.270kcal/kg de energia metabolizável, 0,82% de cálcio, e para fósforo, 0,320, 0,320, 0,320, 0,254, 0,184, 0,115 para fósforo disponível (%) e 0,513, 0,520, 0,520, 0,455, 0,387, 0,320 para fósforo total (%) para os seis tratamentos, respectivamente. A mistura ocorreu na fábrica de ração da Escola de Veterinária da UFG seguindo as exigências propostas por ROSTAGNO et al. (2000). O fornecimento de água e das dietas foi à vontade e o arraçoamento efetuado duas vezes ao dia, às 8h e às 17h.

Incorporou-se a enzima fitase obtida por fermentação com fungos do grupo *Aspergillus niger* (Natuphos 5000®, Basf Nutrição Animal) às dietas experimentais na quantidade de 500 UF (unidades de fitase)/kg, conforme proposto por LUDKE et al. (2000).

Efetuararam-se as colheitas de sangue imediatamente antes do abate nas duas etapas experimentais. Coletaram-se as amostras de sangue por punção da veia cava cranial, sendo processadas para obtenção do soro conforme MORENO et al. (1997). Para a quantificação dos metabólitos, utilizaram-se reagentes comerciais Labtest® e para as leituras empregou-se o analisador bioquímico automático Bioplus® modelo BIO-2000IL-A. A atividade enzimática foi determinada com valor corrigido para 37°C.

Para metabolismo ósseo, avaliaram-se cálcio sérico total, cálcio livre, fósforo inorgânico e proteínas totais. O cálcio livre foi calculado uti-

lizando-se fórmula derivada da equação original retirada do monograma de McLean-Hastings, de acordo com WEISSMAN & PILEGGI (1980).

$$\text{mg Ca}^{++} \text{ Livre}/100\text{mL} = \frac{6 (\text{Ca Total}) - (\text{Pt} / 3)}{\text{Pt} + 6},$$

em que:

Ca Total = mg de cálcio total /100mL

Pt = g de proteína total /100mL

Ca⁺⁺ = mg de cálcio livre/ 100mL

Para avaliação das funções hepática e renal, determinaram-se as concentrações séricas das proteínas totais, da albumina, assim como as atividades enzimáticas da aspartato aminotransferase (AST), da gama glutamiltransferase (GGT), da fosfatase alcalina (ALP), além das concentrações séricas da uréia e da creatinina.

Todos os animais eram semanalmente submetidos à avaliação clínica conforme metodologia descrita por PLONAIT et al. (1997).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6x2, testando-se os efeitos de seis tipos de dieta em duas idades distintas, com quatro repetições por tratamento e/ou idade.

As variáveis cálcio (Ca), cálcio livre (Ca⁺⁺), fósforo (P), relação cálcio-fósforo (Ca:P), proteínas totais (PT), albumina (ALB), uréia e creatinina foram submetidas ao teste para a avaliação de normalidade (teste de Lilliefors) e avaliação da homogeneidade de variâncias (testes de Cochran e Bartlett). Procedeu-se então à análise de variância (ANOVA), comparando-se as médias pelo teste Student Newman Keuls. Submeteram-se as variáveis AST, GGT, ALP aos testes de normalidade e homogeneidade, constatando-se ausência de linearidade dos dados, e também à análise de variância não paramétrica. Compararam-se os resultados pelo teste Kruskal-Wallis, considerando p<0,05.

Para avaliação do conteúdo dos diferentes analitos séricos, utilizaram-se os valores de normalidade disponíveis na literatura para suínos, considerando-se as condições de manejo e a fase de terminação (Quadro 1).

QUADRO 1. Intervalo de variação dos valores bioquímicos séricos compilados na literatura utilizados como parâmetros de normalidade para avaliação dos animais deste estudo

Analito / Autores	Ca total mmol/L	Ca livre mmol/L	Ca:P mmol/L	P mmol/L	Pt.total g/L	Albumina g/L	Uréia mmol/L	Creatinina mmol/L	AST UI/L	GGT UI/L	ALP UI/L
FRIENDSHIP et al. (1984)	2,16 a 2,92	1,02	0,85 a 0,96	2,25 a 3,44	52 a 83	19 a 42	2,57 a 8,57	77 a 165	16 a 67	–	180 a 813
PRIKO-SZOVITS & SCHUH (1995)	2,80 ± 0,20	–	0,94 ± 0,16	3,08 ± 0,67	–	–	–	–	–	–	–
MAKINDE et al. (1996)	3,10± 0,20	1,24	1,29	2,40 ± 0,4	71±5	46 ± 5	–	156 ± 3	–	–	257± 116
RICO et al. (1977)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	35 ±14	–
Intervalo de normalidade	2,16 a 3,30	1,02 a 1,24	0,78 a 1,29	2,25 a 3,44	52 a 83	19 a 51	2,57 a 8,57	77 a 165	16 a 67	21 a 49	141 a 813

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi verificada interação significativa entre tratamento e idade. Para os valores médios obtidos para os diferentes analitos dosados relacionados ao metabolismo ósseo (Tabela 1),

constatou-se que a concentração sérica média do cálcio total aos 150 dia esteve entre 2,46 e 2,92 mmol/L. Aos 175 dias de idade, variou de 1,99 a 2,53 mmol /L, valores esses considerados dentro da normalidade (Quadro 1).

TABELA 1. Cálcio (Ca) total (mmol/L), cálcio livre (mmol/L), fósforo (P)(mmol/L), relação cálcio/fósforo (mmol/L) séricos de suínos aos 150 e 175 dias submetidos a dietas restritivas em suplemento micromineral-vitamínico e com níveis decrescentes de fósforo, com adição de fitase. Médias e desvios-padrão por idade (Goiânia, 2006)

Trat.*	Idade/dias	Ca total	Ca livre	P	Ca: P
T1	150	2,72 ^a	0,97	3,04 ^A	0,90 ^{aB}
	175	1,99 ^b	0,85	3,08	0,65 ^b
T2	150	2,69	0,97	2,79 ^{aA}	0,97 ^{aB}
	175	2,27	0,86	3,19 ^b	0,71 ^b
T3	150	2,51	0,91	2,62 ^{aAB}	0,95 ^B
	175	2,28	0,85	3,24 ^b	0,71
T4	150	2,48	0,92	2,76 ^A	0,91 ^B
	175	2,00	0,80	2,78	0,72
T5	150	2,46	0,82	2,70 ^{aAB}	0,92 ^B
	175	2,53	0,90	3,29 ^b	0,78
T6	150	2,92 ^a	1,10 ^a	2,28 ^B	1,28 ^{aA}
	175	2,43 ^b	0,94 ^b	2,70	0,91 ^b
Média/DP	150	2,63 ±0,41	0,95 ±0,20	2,70 ±0,31	0,99 ±0,20
Média /DP	175	2,25 ±0,33	0,87 ±0,12	3,05 ±0,37	0,75 ±0,13

* T1 (dieta completa), T2 (dieta sem microminerais e vitaminas), T3 (dieta T2 + fitase), T4 (dieta T2, sem 1/3 fósforo inorgânico + fitase), T5 (dieta T2, sem 2/3 de fósforo inorgânico + fitase), T6 (dieta T2, sem fósforo inorgânico + fitase)

Letras maiúsculas (entre tratamentos) e minúsculas (entre idades) na mesma coluna diferem (p<0,05) entre si (Student Newman Keuls)

No tratamento controle (T1), o cálcio total e a relação Ca:P apresentaram diferença ($p < 0,05$) entre as idades, mas estiveram dentro dos limites de normalidade. Atribui-se este fato ao pequeno número de repetições por grupo (quatro animais), uma vez que variações orgânicas individuais não são diluídas em amostragem reduzida. O mesmo achado se repetiu quando 100% de fósforo inorgânico foram retirados (T6). A diferença igual ocorreu para cálcio livre e relação Ca:P, variáveis dependentes do valor do cálcio sérico.

A concentração sérica do fósforo aos 150 dias variou de 2,28 a 3,04 mmol/L, dentro do intervalo de normalidade (Quadro 1). A dieta com restrição total de fósforo inorgânico foi a que apresentou o menor teor de P sérico em relação aos demais tratamentos. Essa diferença, no entanto, foi significativa apenas para os tratamentos que correspondem, respectivamente, à dieta controle (T1), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico (T2) e dieta sem suplemento micromineral-vitamínico sem 1/3 de fósforo inorgânico com fitase (T4).

A relação Ca:P na dieta foi de 1,6:1 para a dieta completa (T1), para dieta sem suplemento micromineral-vitamínico (T2) e para dieta sem suplemento micromineral-vitamínico e com fitase (T3). Para os animais que receberam dieta sem 1/3 de fósforo inorgânico com adição de fitase (T4) a relação foi de 1,8:1. Já para os animais que receberam dieta sem 2/3 de fósforo inorgânico e adicionado fitase (T5), a relação Ca :P foi de 2,1:1 e, finalmente, para os animais em que se retiraram 100% do fósforo da dieta e adicionou-se fitase (T6) esta relação aumentou para 2,5:1. Trata-se de proporções que estão de acordo com o NRC (1998) e KATAREN et al. (1993), entre 1,5:1 a 2,5:1 para crescimento e mineralização óssea. Entretanto, BEERS & JONGBLOED (1992) sugerem manter a relação Ca:P total entre 1,7:1 e 3:1 para garantir a melhor ação da fitase. Neste estudo, a maior relação Ca:P (2,5:1) foi observada na dieta completa sem suplemento micromineral-vitamínico, sem fósforo inorgânico com fitase (T6), em que se verificou o menor valor para fósforo sérico. Resultados semelhantes foram descritos por KOCH et al. (1985), LEI et al. (1993) e QIAN et al. (1996).

KOCH & MAHAN (1986) observaram que o aumento da relação Ca:P na dieta resultou em declínio linear na concentração sérica de P aos 21 e 35 dias de tratamento, enquanto a concentração sérica de Ca aumentou, particularmente aos 21 dias. Situação semelhante foi encontrada quando 100% do fósforo foram retirados da dieta com fitase (T6). Com 35 dias restrição, verificou-se maior valor para Ca (2,92mmol/L) e menor valor (2,43mmol/L). Com 60 dias de restrição, a concentração sérica do P foi de 2,28 e 2,70mmol/L para as duas etapas, respectivamente. De forma similar, SOMMERVILLE et al. (1985) demonstraram que dietas pobres em fósforo provocam aumento do cálcio sérico em suínos. Para FOX et al. (1978), este efeito é explicado pelo aumento na eficiência de absorção de cálcio intestinal, induzido pela deficiência de fósforo, que resulta em decréscimo na formação óssea, com aumento da reabsorção de cálcio ósseo e renal.

LEI et al. (1993) constataram grande redução na habilidade da fitase em disponibilizar o fósforo fítico em dietas com teores normais comparadas com dietas com teores reduzidos de cálcio em leitões desmamados. Níveis de cálcio acima de 0,70% em pH 6,0 viabilizam a formação do fitato de cálcio, complexo inacessível a fitase, por causa da competição do cálcio pelos sítios ativos da enzima (MCKNIGHT, 1977; WISE, 1983; SELLE et al., 2000). Neste estudo, os níveis de cálcio na dieta foram de 0,82%, mas a concentração sérica de P esteve dentro dos padrões de normalidade para a faixa etária, indicando que esse fenômeno não deve ter ocorrido. BÜHLER et al. (1998) afirmam que dietas suplementadas com fitase não devem conter mais que 0,9% de cálcio para suínos em terminação. Esses autores sugerem que a relação Ca :P em tais dietas deve situar-se entre 2,7:1 a 3,5:1.

Para 60 dias de experimento, o fósforo sérico variou de 2,70 a 3,29 mmol/L, dentro dos limites de normalidade (Quadro 1). Não foi observada diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos. ENGSTRON et al. (1985) ressaltaram que a hipofosfatemia manifesta-se progressivamente em dietas deficientes em fósforo, sendo que a média mínima de P inorgânico no plasma foi atingida

entre 34 e 41 dias. Neste experimento, após 35 e 60 dias de restrição com suplementação da fitase, as concentrações séricas de P estiveram dentro dos valores normais, confirmando sua eficiência em disponibilizar o P fítico (MURRY et al., 1985; ADEOLA et al., 1998; MATSUI et al., 2000).

Há contínuo intercâmbio de cálcio e fósforo entre o sangue e os ossos, sendo mais ativo nos ossos esponjosos. Quando a absorção intestinal é baixa, os níveis de fósforo na urina são reduzidos, ocorrendo aumento na reabsorção de fósforo nos túbulos renais, com índice próximo a 99%, para manter a sua concentração no sangue (MAYNARD & LOOSLI, 1974; CHURCH & POND, 1977; MOREIRA et al., 2004). Pode-se inferir neste estudo que os mecanismos homeostáticos associados à ação da fitase contribuíram para que os valores do P séricos se mantivessem dentro dos parâmetros de normalidade.

Considerando ainda o fósforo sérico, a dieta sem suplementação micromineral-vitamina sem a adição de fitase (T2), a dieta sem suplementação micromineral-vitamina, com a adição de fitase (T3), e a dieta sem 2/3 de fósforo inorgânico mais fitase (T5) apresentaram diferença ($p < 0,05$) entre as duas idades estudadas. Na dieta sem suplementação micromineral-vitamina sem a adição de fitase (T2), esta diferença manifestou-se também na relação Ca:P.

Os valores da relação Ca:P no soro variaram de 0,90 a 1,28mmol/L para os animais abatidos aos 150 dias no tratamento que receberam dietas sem fósforo inorgânico (T6) e, conseqüentemente, com maior relação cálcio-fósforo na dieta (2,5:1), apresentaram, quando comparados aos outros tratamentos, valores maiores ($p < 0,05$), embora dentro da amplitude de normalidade citada na literatura (Quadro 1). Essa alteração era esperada, por se tratar de tratamento que apresenta menor teor de P sérico em relação aos demais tratamentos. Para os animais com 175 dias de idade, os valores da relação Ca:P variaram de 0,65 a 0,91mmol/L.

LOPES (1998) avaliou a cinética e fluxo biológico do fósforo em suínos e verificou que nos animais submetidos à dieta com menor nível de P ocorreu maior mobilização do P de origem

óssea para o sangue, sugerindo tratar-se de mecanismo para manutenção do nível sérico de P. O autor afirma ainda que ocorre aumento da saída do P dos tecidos moles (fígado e rins) para contribuir com a manutenção dos níveis séricos desse mineral, bem como para o desempenho de funções normais no organismo animal.

MOSS & HENDERSON (1998) relataram que as determinações da fosfatase alcalina (ALP) no soro são de particular interesse na investigação da doença hepatobiliar e doença óssea. Os níveis séricos dessa enzima mostram elevações moderadas na osteomalácia, sendo que no raquitismo podem ser observados níveis crescentes de duas a quatro vezes aos dos valores observados em animais hígidos. BOYD et al. (1984) observaram que dietas com baixos níveis de fósforo resultam em aumento da atividade da ALP. Neste experimento, os valores séricos da atividade enzimática da ALP permaneceram dentro do intervalo de normalidade (Quadro 1). Apenas os animais que receberam ração sem suplementação micromineral-vitamina sem adição de fitase (T2) apresentaram diferença ($p < 0,05$) entre as duas idades. Diante desses resultados, pode-se inferir que a enzima fitase foi eficiente em disponibilizar o P, uma vez que, apesar da restrição progressiva desse mineral nos tratamentos T4, T5 e T6, a atividade sérica da enzima permaneceu dentro dos parâmetros de normalidade.

Entretanto, em outros trabalhos utilizando fitase e determinação de atividade sérica de ALP, os resultados descritos foram diferentes. YOUNG et al. (1993) observaram diminuição da atividade da ALP com adição da fitase à dieta de suínos jovens. LEI et al. (1993) e QIAN et al. (1996) observaram redução da atividade dessa enzima e aumento da concentração de P sérico com suplementação de fitase.

A retirada da suplementação micromineral-vitamina não desencadeou sinais clínicos de deficiências. McGLONE (2000), em avaliação da retirada do suplemento micromineral-vitamina da dieta de suínos 30 dias antes do abate, também não encontrou efeitos negativos sobre a saúde dos animais. Esse autor sugeriu que as reservas orgânicas desses nutrientes fo-

ram capazes de suprir as exigências durante o experimento. No presente estudo, não se pode atribuir este fato à capacidade da fitase em disponibilizar, além do fósforo, outros nutrientes que formam complexos com o fitato, já que, no tratamento em que se retirou esta suplementação e não se adicionou a fitase (T2), os sinais de deficiência também não foram observados nem aos 60 dias de restrição. Esses resultados são semelhantes aos descritos por PETER et al. (2001), ao afirmarem que a suplementação de Zn, Cu e Mn pode ser reduzida, ou mesmo eliminada, sem causar alterações deletérias aos suínos na fase final de terminação (80 a 120 kg). Por outro lado, SHELTON et al. (2005), em estudo da adição de fitase em dietas para suínos com e sem suplementação nas fases de creche, crescimento e terminação, relataram haver somente sinais de deficiência nos animais na fase de creche que receberam dietas sem suplementação e sem fitase.

Os animais de todos os tratamentos, ao longo do período de estudo, não manifestaram sinais de claudicação ou aumento de volume das epífises ósseas, paraqueratose, alterações no sistema respiratório que pudessem ser creditados à supressão micromineral/vitamínica, ou ainda à redução progressiva do fósforo inorgânico. Essas observações são semelhantes a resultados de estudos anteriores de SOBESTIANSKY et al. (1991) e NUNES et al. (2002). Segundo McGLONE (2000), deficiências de minerais e vitaminas levam semanas ou até meses para produzir manifestações clínicas. Adicionalmente, deve-se ressaltar que a unidade experimental deste estudo foi de dois animais para os 150 dias e de um animal para os 175 dias. Nesta situação, os animais foram menos expostos à condição normal de uma granja, onde os quadros de estresse são mais acentuados.

O resultado da determinação da atividade enzimática da AST para os animais com 150 dias variou de 24 a 51 UI/L e entre 23 e 34 UI/L para 175 dias de idade (Tabela 2). Os valores obtidos também estiveram dentro dos valores de normalidade (Quadro 1). A avaliação da concentração de AST no soro é utilizada como indicador de lesão hepática e/ou muscular (DUNCAN & PRASSE, 1982; MEYER et al., 1995). No entanto, por não

ser específica para o tecido hepático, a determinação de outros parâmetros séricos que reflitam a integridade morfológica e funcional do fígado se faz necessária para verificar a presença de hepatopatia. Por essa razão determinaram-se concomitantemente outras enzimas séricas.

Para os animais com 150 dias de idade, a determinação da atividade enzimática da gama glutamiltransferase (GGT) variou de 35 a 43UI/L e entre 39 e 51UI/L para os animais com 175 dias (Tabela 2). Esta enzima é detectada principalmente nas células dos ductos biliares. Dessa forma, lesões no epitélio biliar e desordens colestáticas resultam no aumento da sua atividade no soro sanguíneo em todas as espécies estudadas (PEARSON, 1993). Apesar de ser encontrado em outros tecidos, o aumento da atividade dessa enzima no soro é sempre de origem hepática e/ou biliar (HOFFMANN et al., 1989; FRENCH et al., 1999). Os valores médios observados neste experimento estão dentro da normalidade (Quadro 1), confirmando a ausência de lesão hepática crônica ou doença biliar ativa.

O resultado da determinação da atividade enzimática da ALP aos 150 dias de idade variou de 28 a 50 UI/L e entre 19 e 51UI/L aos 175 dias (Tabela 2). Esses valores médios estiveram dentro da amplitude de variação dos valores de normalidade (Quadro 1) e confirmam a ausência de lesões hepáticas. É oportuno salientar que as dosagens da GGT e ALP são empregadas no diagnóstico diferencial entre doenças hepatobiliares e óssea.

A concentração de proteínas totais apresentou variação para os 150 dias de idade de 75 a 81g/L e de 57 a 78g/L para os 175 dias. A concentração de albumina variou para os 150 dias de 28 a 41g/L e para os 175 dias entre 29 e 40g/L. Esses valores médios observados, tanto para proteínas totais quanto para a albumina, nas duas fases estudadas, estão dentro dos valores de normalidade (Quadro 1). Esses resultados associados às provas enzimáticas negativas reafirmam a ausência de hepatopatias, uma vez que, de acordo com COLES (1986), alterações nos valores das proteínas plasmáticas ocorrem em associação com hepatopatias e nefropatias.

TABELA 2. Proteínas totais (g/L), albumina (g/L), AST(UI/L),GGT(UI/L), ALP(UI/L) séricos de suínos aos 150 e 175 dias submetidos a dietas restritivas em suplemento micromineral-vitamínico e com níveis decrescentes de fósforo, com adição de fitase. Médias e desvios-padrão por idade (Goiânia, 2006)

Tratamento	Idade/dias	Prot. totais	Albumina	AST	GGT	ALP
T1	150	80 ^a	37	34	43	48
	175	57 ^{bc}	30	26	47	51
T2	150	79	34	51	40	28 ^a
	175	71	29	24	41	19 ^b
T3	150	75	28 ^a	31	35	45
	175	72 ^{AB}	40 ^b	24	45	35
T4	150	76	41	31	38	50
	175	63 ^{BC}	36	34	45	34
T5	150	81	30	37	38	49
	175	78 ^A	30	25	39	43
T6	150	76 ^a	37	24	38	47
	175	70 ^{baB}	36	23	51	42
Média/ DP	150	78±7	35 ±9	34 ± 15	39±10	44±12
Média/ DP	175	69±9	33±8	26±11	45±14	37±17

T1 (dieta completa), T2 (dieta sem microminerais e vitaminas), T3 (dieta T2 + fitase), T4 (dieta T2, sem 1/3 fósforo inorgânico + fitase), T5 (dieta T2, sem 2/3 de fósforo inorgânico + fitase), T6 (dieta T2, sem fósforo inorgânico + fitase)

AST GGT ALP - letras minúsculas diferentes (entre idades) na mesma coluna diferem ($p < 0,05$) entre si (Kruskal-Wallis)

Demais variáveis - letras maiúsculas diferentes (entre tratamentos) e minúsculas diferentes (entre idades) na mesma coluna diferem ($p < 0,05$) entre si (Student Newman Keuls)

Neste estudo a concentração sérica de proteínas totais aos 175 dias para a dieta completa (T1) apresentou menor valor ($p < 0,05$) em relação a todos os tratamentos, exceto para a dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 1/3 de fósforo inorgânico e com fitase (T4). No tratamento dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 2/3 de fósforo inorgânico e com fitase (T5) verificou-se a maior concentração sérica de proteínas totais, sendo que este valor diferiu ($p < 0,05$) dos tratamentos T1 e T4.

Na dieta completa (T1), com a progressão da idade, observou-se redução ($p < 0,05$) na concentração de proteínas totais. Esta observação também se repetiu na dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem fósforo inorgânico e com fitase (T6).

Considerando ainda a progressão da idade, constatou-se aumento ($p < 0,05$) da concentração sérica de albumina na dieta sem suplemento micromineral-vitamínico e com fitase (T3) entre as duas idades.

O valor médio da globulina sérica apresentou variação de 35 ± 11 a 56 ± 9 g/L aos 150 dias de idade e entre 27 a 48 g/L para 175 dias. Trata-se de amplitude que está dentro da variação considerada normal encontrada na literatura. FRIENDSHIP et al. (1984) encontraram valores entre 25 a 35 g/L em suínos de terminação e o CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE (1993) cita valores entre 53 a 64 (59 ± 6 g/L).

A mensuração da uréia no soro é feita para avaliar função renal, no entanto, pode apresentar-se diminuída em associação à falência hepática e anomalias congênitas do sistema porta. O nível de uréia pode estar alto com um aumento no consumo dietético de proteína, colapso catabólico ou hemorragia no interior do trato gastrointestinal (MEYER & HARVEY, 1998).

Para os 150 dias de idade, o valor médio encontrado para concentração de uréia apresentou variação de 3,58 a 5,04 mmol/L e variou entre 4,08 e 5,45 mmol/L aos 175 dias (Tabela 3), estando, portanto, dentro dos padrões de normali-

dade (Quadro 1). Apenas no tratamento submetido à dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 2/3 de fósforo inorgânico e com fitase (T5) ocorreu diferença ($p<0,05$) entre as etapas, caracterizando um aumento dessa concentração sérica com a progressão da idade.

JOHNSTON et al. (2004) relataram aumento da concentração plasmática de uréia em suínos alimentados com dietas com baixos níveis de Ca e P e suplementadas com fitase. Os autores atribuíram este fato à maior disponibilização de proteínas pela fitase, gerando excesso de aminoácidos, aumentando a desaminação e, conseqüentemente, também a formação de uréia. No presente estudo não foi confirmada essa constatação.

Para a creatinina sérica, o valor médio encontrado apresentou variação de 150 ± 14 a 180 ± 21 mmol/L aos 150 dias e entre 164 ± 31 e 185 ± 18 mmol/L para os 175 dias (Tabela 3), dentro do intervalo de normalidade (Quadro 1). Apenas a dieta completa sem suplemento micromineral-vitamínico e com fitase (T3) apresentou diferen-

ça ($p<0,05$) com aumento da concentração da creatinina com a progressão da idade. De acordo com COLES (1986), a creatinina deve ser analisada em conjunto com a uréia, por não sofrer influência do metabolismo das proteínas.

Em todas as espécies mamíferas, a creatinina tem passagem livre pelos glomérulos e aparece no filtrado glomerular e no plasma com a mesma concentração (FINCO, 1998). Os níveis não se alteram acima do normal até que 60% a 75% dos néfrons estejam destruídos (RADOS-TITIS et al., 1994). A observação dos valores médios tanto da concentração sérica de uréia como da creatinina permite inferir que estes estão dentro da normalidade (Quadro 1) e indicam ausência de nefropatia. Dessa forma, pode ser observado que a retirada dos microelementos, a retirada progressiva do fósforo inorgânico e a adição de fitase não interferiram negativamente no funcionamento hepático e renal. Pode-se também considerar que a toxicidade da fitase é mínima, o que foi confirmado por MATSUI et al. (2000).

TABELA 3. Uréia (mmol/L) e creatinina (mmol/L) séricos de suínos aos 150 e 175 dias submetidos a dietas restritivas em suplemento micromineral-vitamínico e com níveis decrescentes de fósforo, com adição de fitase. Médias e desvios-padrão por idade (Goiânia, 2006)

Tratamento	Idade/dias	Uréia	Creatinina
T1	150	4,45	151
	175	4,25	174
T2	150	3,91	160
	175	5,45	164
T3	150	4,70	150 ^a
	175	4,62	185 ^b
T4	150	3,79	171
	175	4,08	185
T5	150	3,58 ^a	151
	175	5,04 ^b	178
T6	150	5,04	180
	175	5,37	170
Média/ DP	150	4,25 \pm 1,08	160 \pm 24
Média/ DP	175	4,80 \pm 0,96	176 \pm 22

T1 (dieta completa), T2 (dieta sem microminerais e vitaminas), T3 (dieta T2 + fitase), T4 (dieta T2, sem 1/3 fósforo inorgânico + fitase), T5 (dieta T2, sem 2/3 de fósforo inorgânico + fitase), T6 (dieta T2, sem fósforo inorgânico + fitase)

Letras minúsculas diferentes (entre idades) na mesma coluna diferem ($p<0,05$) entre si (Student Newman Keuls)

CONCLUSÃO

A suplementação com 500 FU/kg de fitase em dietas formuladas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo para suínos em terminação mostrou-se eficiente na disponibilização do P fítico com 35 e 60 dias de restrição total de fósforo inorgânico e de suplementos microminerais e vitamínicos, uma vez que não provocou alterações clínicas e nem interferiu quer no metabolismo ósseo quer nas provas de função hepática e renal nos animais.

REFERÊNCIAS

- ADEOLA, O.; LAWRENCE, B. V.; SUTTON, A. L.; CLINE, T. R. Phytase-induced changes in mineral utilization in zinc-supplemented diets for pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, p. 3384-3391, 1995.
- ADEOLA, O.; CLINE, T. R.; ORBAN, J. I.; RAGLAND, D.; SUTTON, A. L. Supplementation of low-calcium and phosphorus diets with phytase and cholecalciferol. **Swine Day**, Purdue, v. 3, p. 105-112, 1998.
- BEERS, S.; JONGBLOED, A. W. Effect *Aspergillus niger* phytase in diets for piglets on their performance and apparent digestibility of phosphorus. **Animal Production**, East Lothian, v. 55, n. 3, p. 425-430, 1992.
- BOYD, R. D.; HALL, D.; WU, J. F. Plasma alkanine phosphatase as a criterion for determining biologically available phosphorus for swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 55, n. 1, p. 263, 1984.
- BUHLER, M.G.; LIMPER, J.; MULLER, A.; SCHWARZ, G.; SIMON, O.; SOMMER, M.; SPRING, W.; Las enzimas en la nutrición animal. **Arbeitsgemeinschaft fur Wirkstoffe in der Tierernahrung**, Bonn, 1998. 47 p.
- CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE, APPENDIX D. Breeding, physiological and nutritional parameters by species [on line], 1993. Disponível em: <<http://www.unmc.edu/Education/Animal/guide/appendD5.html>> Acesso em: 27 ago. 2003.
- CHURCH, D. C.; POND, W. G. **Bases científicas para la nutrición y alimentación de los animales domésticos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1977. p. 161-219.
- COLES, E. H. **Veterinary clinical pathology**. 3. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1986. 566 p.
- DUCAN, J.R.; PRASSE, K. W. **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 217p.
- ENGSTRON, G. W.; HORST, R. L.; REINHART, T. A. Effect of dietary phosphorus levels on porcine renal 25-hydroxyvitamin D-1 and 24R-hydroxylase activities and plasma 1,25-dihydroxyvitamin D₃ concentration. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 60, p. 1005-1011, 1985.
- FINCO. D. R. Kidney function. In: KANEKO, J. J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 4. ed. San Diego: Academic Press, 1997. p. 441-484.
- FOX, J; PICKARD, D. W.; CARE, A. D.; MURRAY, T. M. Effect of low phosphorus diets on intestinal calcium absorption and the concentration of calcium-binding protein intact and parathyroidectomized pigs. **Journal of Endocrinology**, v. 3, p. 379-387, 1978.
- FRENCH, T. W.; BLUE, J. T.; STOKOL, T. Veterinary Clinical Chemistry, **Clinical Pathology Modules**. [on line], 1999. Disponível em: <<http://web.vet.cornell.edu/public/popmed/clinpath/Cpmodules/chempanl.html>> Acesso em: 10 ago. 2003.
- FRIENDSHIP, R. M.; LUMSDEN, J. H.; MCMILLAN, I.; WILSON, M. R. Hematology and biochemistry reference values for Ontario swine. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, Ontario. v. 48, n. 4, p. 390-393, 1984.
- HOFFMANN, W. E.; KRAMER, J.; MAIN, A. R.; TORRES, J. L. **Clinical enzymology in the clinical chemistry of laboratory animals**. New York: Pergamon Press, 1989. 762 p.
- JOHNSNTHON, S. L.; WILLIAMS, S. B.; SOUTHERN, L. L.; BIDNER, T. D.; BUNTING, L. D.; MATTHEWS, J. O.; OLCOTT, B. M. Effect of phytase addition and dietary calcium and phosphorus levels on plasma metabolites and ileal and total-tract nutrient digestibility in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p.705-714, 2004.
- KETAREN, P. P.; BATTERHAM, E. S.; DETTMANN, E. B.; FARRELL, D. J. Phosphorus studies in pigs. 3. Effect of phytase supplementation on the digestibility and availability of phosphorus in soya-bean meal for grower pigs. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 70, n. 1, p. 289-311, 1993.
- KOCH, M. E.; MAHAN, D. C.; CORLEY, J. R. An evaluation of various biological characteristic in assessing low phosphorus in a take in weanling swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 59, n. 6, p. 1546-1556, 1985.
- KOCH, M. E.; MAHAN, D. C. Biological characteristics for assessing low phosphorus intake in finishing swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 62, p.163 -172, 1986.
- LEI, X. G.; KU, P. K.; MILLER E. R. YOKOYAMA, M. T. Supplementing corn-soybean meal diets with microbial

phytase linearly improves phytate phosphorus utilization by weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, n. 12, p. 3359-3367, 1993.

LOPES, J. B. **Avaliação da absorção real e das perdas endógenas de fósforo para suínos pela técnica da diluição isotópica**. 1998. 87 f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo, Piracicaba.

LUDKE, M. C. M. M.; LOPES, J.; NICOLAIEWSKY, S. Efeito da fitase em dietas com ou sem fósforo inorgânico para suínos em fase de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 2, p.485- 494, 2000.

LUDKE, M. C. M. M.; LOPES, J.; LUDKE, J. V. Fitase em dietas para suínos em crescimento: (II) parâmetros de carcaça e ossos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n.1, p.103-108, 2002.

MAKINDE, M.O.; MAJOK, A.A.; HILL, F.W.G. Biochemical and hematological values in abattoir pigs with and without subclinical lesions. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 63, p. 11-14, 1996.

MATSUI, T.; NAKAGAWA, Y.; TAMURA, A.; WATANABE, C.; FUJITA, K.; NAKAJIMA, T.; YANO H. Efficacy of yeast phytase in improving phosphorus bioavailability in a corn-soybean meal based diet for growing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n.1, p. 94-99, 2000.

MAYNARD, L. A.; LOOSLI, J. K. **Nutrição animal**. 2. ed. São Paulo: Livraria Freitas Bastos, 1974. 550 p.

MCGLONE, J. J. Deletion of supplemental minerals and vitamins during the late finishing period does not affect weight gain and feed intake. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 2797-2800, 2000.

McKNIGHT, W. F. Technical specifications and properties of phytase. In: COELHO, M. C.; KORNEGAY, E. T. **Phytase in animal nutrition and waste management: a BASF reference manual** 1996. New Jersey: BASF, 1996. p.1-15.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de laboratório veterinário: interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995. 308 p.

MEYER, D. J.; HARVEY, J. W. **Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis**. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. 373 p.

MOREIRA, J. A.; VITTI, D. M. S. S.; LOPES, J. B.; TRINDADE NETO, M. A. Cinética do fósforo em tecidos de suínos alimentados com dietas contendo enzima fitase. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n.1, p. 9-16, 2004.

MORENO, A. M.; SOBESTIANSKY, J.; LOPES, A. C.; SOBESTIANSKY, A.A.B. **Colheita e processamento de amostras de sangue em suínos para fins de diagnóstico**. Concórdia: EMBRAPA-CNPSC, 1997. 30 p.

MOSS, D. W.; HENDERSON, A. R. Enzimas. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R. **Fundamentos de química clínica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p.275-325.

MULLEN, P. A. The diagnosis of liver dysfunction in farm animals and horses. **The Veterinary Record**, v. 99, n.17, p. 330-334. 1976.

MURRY, A. C.; LEWIS, R. D.; AMOS, H. E.; The effect of microbial phytase in a pearl millet-soybean meal diet on apparent digestibility and retention of nutrients serum mineral concentration, and bone mineral density of nurse piglets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p.1284-1291, 1985.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of swine**. 10 ed. Washington, DC: National Academy of Science, 1998. 189 p.

NUNES, R. C.; KRONKA, R. N.; SOBESTIANSKY, J.; LOPES, E. L.; GONÇALVES, J. R. Retirada dos suplementos micromineral e/ou vitamínico da ração de suínos em fase de terminação: desempenho, níveis de minerais nos metacarpos e custo de produção. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 3, n.1, p. 49-57, 2002.

PEARSON, E.G. Moléstias do sistema hepatobiliar. In: SMITH, B.P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole, 1993. v.1, p. 839-872.

PETER, C. M.; PARR, T. M.; WEBEL, D. M.; BAKER, D. H. The effects of phytase on growth performance, carcass characteristics, and bone mineralization of late-finishing pigs fed maize-soybean meal diets containing no supplemental phosphorus, zinc, copper and manganese. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 94, n. 3, p.199-205, 2001.

PETTERSSON, D. Melhoria do valor nutricional dos ingredientes através da suplementação de enzimas In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 2001, Campinas e Chapecó. **Anais...** São Paulo: Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos Ltda., 2001. p. 31- 42.

PLONAIT, H. Der Tierarzt in Bestand, Klinische Untersuchung und Probenentnahme. In: PLONAIT, H; BICHHARDT, K. **Lehbuch der Schnveinekraheiten**. 2. ed. Berlin: Paul Parey, 1997. p.1-8.

PRIKOSZOVITS, A.; SCHUH, M.; The mineral content of calcium, phosphorus and magnesium in the serum and bones and serum activity of alkaline phosphatase in

- slaughtered fattening pigs. **Dtsch Tierarztl Wochenscher**, v.1, n.102, p.53-55, 1995.
- QUIAN, H.; KORNEGAY, E. T.; CONNER Jr., D. E. Adverse effects of wide calcium: phosphorus ratios on supplemental phytase. Efficacy for weanling pigs fed two dietary phosphorus levels. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 6, p.1288-1297, 1996.
- RADOSTITIS, O. M.; BLOOD, D. C.; GAY, C. C. **Veterinary medicine**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.1763 p.
- RICO, A.G.; BRAUM, J.P.; BERNARD, P.; THOUVENOT, J. P.; T. Tissue and blood gamma-glutamyl transferase distribution in pig. **Research in Veterinary Science**, v. 3, n. 23, p. 395-396, 1977.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; FERREIRA, A. S.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C. **Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos** (Tabelas brasileiras). 2. ed. Viçosa: UFV – Imp. Univ., 2000. 61p.
- SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V.; CALDWELL, R. A.; BRYDEN, W. L. Phytate and phytase: consequences for protein utilization. **Nutrition Research Reviews**, Sidney, v. 13, p. 255-278, 2000.
- SHELTHON, J. L.; LEMIEUX, F. M.; SOUTHERN, L. L.; BIDNER, T. D. Effect of microbial phytase addition with the trace mineral premix in nursey, growing, and finishing pig diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, p.376-385, 2005.
- SILVERMAN, L.M.; CHRISTENSON, R.H.; Aminoácidos e Proteínas. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R. **Fundamentos de química clínica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 234-274.
- SOBESTIANSKY, J.; LIMA, G. J. M.M.; MORES, N.; DALLA COSTA, O. A.; CRIPPA, J.; GOMES, P. C.; MONTICELLI, C. Retirada do suplemento micromineral e vitamínico de rações de suínos em terminação (54 a 100 kg): efeito sobre a saúde dos animais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. 5., 1991, Águas de Lindóia, **Anais...** Águas de Lindóia, 1991. p.109.
- SOMMERVILLE, B.A.; MAUNDER, E.; ROSS, R.; CARE, A.D.; BROWN, R.C. Effect of dietary calcium and phosphorus depletion on vitamin D metabolism and calcium binding protein in growing pig. **Hormone and Metabolic Research**, v.17, n. 2, p.78-81, 1985.
- TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L. F.T.; ROSTAGNO, H. S.; VIEITES, F. M. Efeito da adição da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 802-808, 2001.
- WEISSMAN, N.; PILEGGI, V. Iones inorganicos. In: HENRY, R. J.; CANNON, D. C.; WINKELMAN, J. W. **Química clínica: bases y tecnicas**. Barcelona: Jims, 1980. p. 643-762.
- WHELTON, A.; WASTSON, A. J.; ROCK, R. C.; Metabólitos nitrogenados e função renal. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R. **Fundamentos de química clínica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 552-574.
- WISE, A. Dietary factors determining the biological activities of phytate. **Nutrition Abstracts and Reviews**, Aberdeen, v. 53, n. 9, p.791-806, 1983.
- YOUNG, L. G.; LEUNISSEN, M.; ATKINSON, J. L. Addition of microbial phytase to diets of young pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, p. 2147-2150, 1993.

Protocolado em: 6 jul. 2006. Aceito em: 10 nov. 2007.