

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL**

**MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**SOLUBILIDADE CÍTRICA, RUMINAL E ABOMASAL DO  
FÓSFORO DE FOSFATOS COMERCIAIS**

**Jane Soila Domingues Guerreiro**

**CAMPO GRANDE**

**MATO GROSSO DO SUL - BRASIL**

**DEZEMBRO 2004**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL**  
**MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**SOLUBILIDADE CÍTRICA, RUMINAL E ABOMASAL DO**  
**FÓSFORO DE FOSFATOS COMERCIAIS**

**Jane Soila Domingues Guerreiro**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Morais**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de concentração: Produção Animal.

**CAMPO GRANDE**  
**MATO GROSSO DO SUL - BRASIL**  
**DEZEMBRO 2004**

Ficha catalográfica elaborada pela  
Coordenadoria de Biblioteca Central/UFMS

G934s Guerreiro, Jane Soila Domingues  
Solubilidade cítrica, ruminal e abomasal do fósforo de fosfatos comerciais  
/ Jane Soila Domingues Guerreiro. -- Campo Grande, MS, 2004.  
50 f. ; 30 cm.

Orientadora: Maria das Graças Morais.  
Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

1. Bovino – Nutrição. 2. Fósforo na nutrição animal. I. Morais, Maria das  
Graças. II. Título.

CDD (21) – 636.2085

*Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,  
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.*

*Chico Xavier*

*Ao meu filho João Paulo, pelas alegrias que tem  
me proporcionado, pelo sentido que deu a minha  
existência e que através do amor, soube entender e aceitar  
a ausência materna.*

*Aos meus pais, Heitor (in memoriam) e  
Soila, e ao meu esposo Marcelo por tantas razões e  
pela maior das emoções: o amor.*

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

À Professora Doutora Maria das Graças Moraes, pela sábia orientação, amizade e confiança inculcada para que conduzisse este trabalho. Por ter acreditado nas minhas possibilidades, tantas vezes, entendido minhas limitações e por tão valiosa seriedade profissional, a minha eterna gratidão.

Às Doutoradas Maria Luiza Franceschi Nicodemo e Sheila da Silva Moraes, pelas grandes contribuições ao trabalho e exemplo profissional.

Ao Professor Doutor Valter Joost Van Onselen, pela amizade e estímulo durante toda a minha vida acadêmica na UFMS.

Às amigas Jackeline de Oliveira Marques e Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo, pelos bons momentos compartilhados, pela cumplicidade, amizade e apoio incondicional.

Aos amigos Marilete Otano e Antônio Peres, pelo carinho, amizade, boa vontade e prontidão em me ajudar todas as vezes que necessitei.

Aos acadêmicos Everton Cacere, Caroline Bertholini, Rafael Alcântara e Francielli Rodrigues pela imprescindível colaboração.

Aos demais professores do Mestrado em Ciência Animal, pelos ensinamentos.

Aos colegas de Mestrado, pela convivência, ajuda e enriquecimento na minha formação, através de suas experiências.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pela oportunidade de realização deste curso.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Teores de cálcio, fósforo, relação cálcio/fósforo e valores de pH dos fosfatos comerciais testados ..... 36
- Tabela 2 - Porcentagem de solubilidade do fósforo de fosfatos comerciais empregando-se diferentes metodologias de extração *in vitro*  
Solubilidade de P (%) em ácido cítrico a 2% de alguns fosfatos comerciais em três tempos de incubação *in vitro*..... 38

## SUMÁRIO

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....	01
2 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
<b>3 SOLUBILIDADE CÍTRICA, RUMINAL E ABOMASAL DO FÓSFORO DE FOSFATOS COMERCIAIS .....</b>	<b>31</b>
3.1 Introdução.....	33
3.2 Materiais e Métodos.....	34
3.3 Resultados e Discussão.....	36
3.4 Conclusões.....	42
3.5 Referências Bibliográficas.....	43
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	46

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Embora o Brasil possua o maior rebanho bovino comercial do mundo e tenha, atualmente, conquistado a posição de maior exportador de carne bovina, seus índices de produtividade são muito modestos. Em grande medida, este desempenho resulta do modelo baseado na exploração extensiva das pastagens. No entanto, como reflexo do processo de globalização, verifica-se a preocupação dos criadores na adoção de técnicas que visem aumentar os índices de produtividade, gerando incrementos na rentabilidade da exploração pecuária .

As razões para o baixo desempenho da atividade são várias e bastante divulgadas, destacando-se as deficiências minerais como um dos principais fatores. A diminuição da taxa de crescimento e do ganho de peso, a baixa eficiência reprodutiva e a redução da produção de carne são algumas das conseqüências provocadas pelas deficiências minerais apresentadas na dieta a pasto (MACEDO et al., 2002; MELLO et al., 2004).

A deficiência de fósforo é a mais importante em bovinos e é generalizada no Brasil (TOKARNIA et al., 1988), representando um problema particularmente grave na região dos Cerrados (LOPES et al., 1997), onde houve um grande estímulo a criação extensiva de bovinos, desenvolvida em áreas de solo de baixa fertilidade, com a implantação de braquiárias e que atualmente encontra-se em pleno processo de degradação.

Dentre os nutrientes eventualmente deficientes na dieta a pasto, o fósforo se destaca pela sua deficiência nas pastagens tropicais. Portanto, a suplementação fosfatada torna-se importante e necessária na criação de bovinos em pastagens tropicais. No entanto, a relação custo/benefício dessa suplementação deve ser considerada, relacionando o valor das fontes com a disponibilidade de fósforo nas mesmas. Diante desses fatores, pesquisas sobre avaliação de fosfatos alimentares tornam-se de grande importância para o mercado de suplementação mineral.

### **1.1. O Fósforo e sua importância na Nutrição Animal**

Descoberto e isolado em 1669 por Brandt, na Alemanha (CARDOSO, 1991), o fósforo é o elemento químico cujas funções biológicas atualmente estão melhores estabelecidas, sendo um dos minerais mais versáteis encontrados na natureza.

O fósforo não existe no estado livre na natureza, porque ele combina espontaneamente com o oxigênio, constituindo 1% do peso corporal do animal (SOUZA, 2004). Segundo HAYS & SWENSON (1988), o cálcio e o fósforo são os principais elementos estruturais do tecido esquelético, com mais de 99% do cálcio corporal total e mais de 75% do fósforo total sendo encontrados nos ossos e dentes, e o restante está distribuído entre fluidos e outros tecidos. Estão presentes nos ossos principalmente sob a forma de sal de apatita, fosfato de cálcio e carbonato de cálcio. Além de constituírem a estrutura básica do corpo, os ossos também são reservatório de cálcio e fósforo corporal. O cálcio e o fósforo encontrados na porção trabecular (substância esponjosa) dos ossos estão em equilíbrio dinâmico com a parte desses elementos presente nos líquidos corporais e outros tecidos do corpo. Durante períodos de deficiência alimentar, ou quando a necessidade de ambos os elementos aumenta, como ocorre na gestação e na lactação, o cálcio e o fósforo são prontamente mobilizados dos ossos, para manter níveis normais no sangue circulante e em outros tecidos moles (PEELER, 1982).

Conforme BOIN (1985), do ponto de vista metabólico, o fósforo é um elemento versátil. Além de sua função conhecida há muito tempo como componente estrutural dos ossos, tem sido demonstrado importantes funções bioquímicas e fisiológicas, estando envolvido em quase todas as vias metabólicas (LOPES & PEREIRA, 1986). Absorção de carboidratos através da mucosa intestinal ocorre na forma de compostos fosforilados. O catabolismo de carboidratos requer uma fosforilação inicial para liberar a energia que é capturada e transportada para as células na forma de ligações fosfatadas de alta energia do trifosfato de adenosina (ATP). O fósforo participa na síntese do ácido ribonucleico (RNA) e desoxirribonucleico (DNA), que contêm a informação genética e que regulam a biossíntese de proteína e a imunidade. Além disso, o monofosfato de adenosina cíclica (AMPc), um derivativo do ATP, afeta a ação de um grande número de hormônios em sistemas enzimáticos.

O fósforo desempenha importantes funções no organismo animal. Os fosfolípidos são os principais meios de transporte de ácidos graxos através do organismo; afetam a permeabilidade celular e como componente da camada de mielina dos nervos, atuando na transmissão nervosa, além de influenciar o apetite e a eficiência alimentar (RUNHO et al., 2001). Ainda está envolvido na formação de colágeno e mineralização óssea, aumentando a resistência tênsil do osso e acelerando a cicatrização de fraturas, é componente de hexafosfatos, lecitina, caseína, pepsina, creatina-fosfato. Atua na ativação das vitaminas do complexo B (tiamina, niacina, piridoxina, riboflavina, biotina e ácido pantotênico), pois a formação de coenzimas ativadoras requer fosforilação inicial, além da função tamponante no líquido intracelular e nos fluidos tubulares dos rins (LOPES & PEREIRA, 1986).

Em períodos de deficiência, os animais são capazes de remover até 30% de fósforo depositado nos ossos, sendo primeiramente reabsorvido das vértebras e costelas (ossos esponjosos). O fósforo mantém concentrações no sangue relacionadas ao teor de cálcio, sendo a concentração molar ideal de 1,67:1,0 (Ca:P) para bovinos (DAYRELL, 1993).

A deficiência de fósforo ocorre em muitas partes do mundo, sendo necessário o conhecimento das quantidades mínimas de suplementação exigidas para equilibrar os efeitos adversos da carência mineral sobre o desempenho animal. Em razão das múltiplas e importantes funções que o elemento desempenha no organismo animal, de sua deficiência generalizada nos solos e forrageiras tropicais e sub-tropicais é fundamental o entendimento de seu metabolismo, especialmente a sua dinâmica nos diferentes tecidos e rotas metabólicas (BARCELLOS, 1998).

## **1.2. Metabolismo do Fósforo**

Para que o ruminante tenha crescimento, saúde e produção adequadas, deve receber um suprimento adequado de nutrientes e energia. Entre os nutrientes importantes estão os minerais, que devem ser atendidos conforme suas exigências, em quantidades e proporções adequadas e formas disponíveis (MACKIE; THERION, 1983).

O fósforo é disponibilizado aos animais na forma inorgânica como mono, di e trifosfato inorgânico e aparece na forma orgânica como fitato, fosfolípidos e fosfoproteínas. Os ruminantes são capazes de usar o fosfato orgânico a partir de fontes de fitato, devido a produção da enzima fitase pelos microorganismos ruminais.

BARCELLOS (1998) citou que vários autores têm demonstrado a importância do fósforo sobre a atividade dos microorganismos do rúmen, salientando diminuições na produção de ácidos graxos voláteis quando ocorre a sua deficiência. De acordo com o autor, a exigência das bactérias celulolíticas por fósforo pode ser tão elevada quanto às exigências do animal hospedeiro.

Os microorganismos do rúmen, ao contrário dos mamíferos, não têm exigências estruturais por cálcio e fósforo, mas sim para o metabolismo celular. Para o caso do fósforo, pode-se salientar a alta concentração de RNA e DNA comparada com a maioria das células, além de sua composição na parede celular, segundo LANGWINSKI e OSPINA (2001).

Segundo HAYS & SWENSON (1988), o fósforo presente nos alimentos é absorvido principalmente no intestino delgado, em particular no duodeno, por transporte passivo (BRAITHWAITE, 1985). Em experimentos com ovinos, ROSOL & CAPEN (1989) demonstraram que a absorção de fósforo também ocorre nos pré-estômagos de ruminantes e conforme relatos de POWER & HORGAN (2000), este processo ocorre pela transferência passiva através do epitélio ruminal.

ALCADE et al. (2004) ressaltaram que diversos fatores influem na absorção de fósforo, entre eles estão os relacionados com o próprio animal e fatores dietéticos, como as inter-relações entre os minerais. MORAES (1998) ressalta que o conteúdo de nutrientes orgânicos da dieta (proteínas, carboidratos, vitaminas) e a composição química das plantas forrageiras (presença de ácido fítico) interagem no aproveitamento do fósforo pelos animais.

A quantidade absorvida depende da fonte, da proporção entre cálcio e fósforo, do pH intestinal, do consumo de lactose e dos níveis dietéticos de cálcio, fósforo, vitamina D (HAYS; SWENSON, 1988; NRC, 1989). Assim como o excesso de ferro, magnésio e alumínio na dieta interfere na absorção do fósforo devido à formação de fosfatos

insolúveis, dietas com alto teor de cálcio e alto teor de gordura aumentam o requerimento de fósforo para que seja absorvido (McDOWELL, 1999).

A absorção de fósforo e cálcio é facilitada pelo baixo pH intestinal, que é necessário para sua solubilização (HAYS; SWENSON, 1988). Foi observado em ovinos que a concentração de fósforo solúvel na região próxima ao piloro (pH 2,6-3,0) era de 62,28% do fósforo total presente, enquanto que na extremidade do íleo (pH 7,7-8,2) se reduzia a 19,92% do total, sugerindo que existe uma correlação entre pH e concentração de fósforo na forma solúvel e que há uma queda acentuada da quantidade de fosfatos solúveis com o aumento do pH no conteúdo do trato gastrointestinal (GEORGIEVSKII, 1982).

De acordo com CHALLA & BRAITHWAITE (1988), um fator para a redução da absorção do fósforo ingerido de dietas com baixo teor de fósforo deve ser a alta relação cálcio:fósforo (acima de 5:1), pois resulta na precipitação do fosfato no trato gastrintestinal. Esta precipitação em fosfato de cálcio, entretanto, é pH dependente e com isto ocorre no rúmen sérias conseqüências para atividade microbiana ruminal, afetando a digestibilidade da matéria seca. Estes problemas já não ocorrem no intestino delgado, que é o local de absorção do fósforo e do cálcio, porque o pH é baixo neste local, havendo uma redissolução do fosfato de cálcio, disponibilizando-os para a absorção.

ALCADE et al. (2004) ressaltaram que o sinergismo entre o cálcio e o fósforo é um dos principais fatores que alteram a absorção de fósforo no intestino delgado dos ruminantes, estes por sua vez toleram grandes variações na razão cálcio:fósforo da dieta, sem apresentar depressão no desempenho, desde que se forneça a quantidade de fósforo adequada. Mas quando os ruminantes são mantidos por longos períodos de deficiência em fósforo, o fornecimento de elevadas quantidades de cálcio pode reduzir a absorção do fósforo no intestino delgado (NICODEMO et al., 1998).

DIAZ GONZALEZ (2000) afirma que a ingestão em excesso de cálcio e fósforo pode causar diminuição da absorção intestinal de outros minerais como o magnésio, manganês e cobre. A absorção de zinco é favorecida pelo magnésio, fosfatos e vitamina

D, e pode ser afetada pela interação exercida por outros elementos como cálcio, cobre e ferro.

Dietas com baixo fósforo ocasionam alterações no metabolismo, que permitem a secreção de vitamina D que promove a otimização da absorção do fósforo intestinal e proporciona a reabsorção do fósforo nos túbulos renais como forma de adaptação a escassez de fósforo dietético (VITTI et al, 2000).

Os ruminantes conseguem metabolizar de forma mais eficiente o fósforo, secretando na saliva altas concentrações do elemento, o que aumenta suas concentrações no rúmen e duodeno e facilita a absorção.

O controle do metabolismo do fósforo está associado ao do cálcio. Existe uma forte relação que deve ser mantida para a integridade da homeostase desses dois elementos. No processo de equilíbrio das concentrações plasmáticas de cálcio e fósforo, dois hormônios e uma vitamina estão envolvidos com grande importância no controle do metabolismo: a vitamina D, o paratormônio (PTH) e a calcitonina (REBOLLAR & MATEOS, 1999).

A vitamina D está relacionada com a absorção de cálcio e fósforo na luz intestinal, promovendo a síntese de uma proteína carreadora de cálcio. Atua sobre a paratireóide, estimulando a liberação do PTH. Nos rins, estimula a reabsorção de cálcio e fósforo. As baixas concentrações de fósforo estimulam a síntese de vitamina D, através da ativação da enzima 1-alfa-hidroxilase presente nos rins. Dessa forma, eleva-se a síntese de vitamina D ativa e aumenta a absorção de fósforo do lúmen intestinal. A ação sobre os ossos promove a mobilização de cálcio e fósforo pela ativação dos osteoclastos (ROSOL & CAPEN, 1989).

O paratormônio (PTH), hormônio secretado pela glândula tireóide, tem efeito sobre o aumento da calcemia. A secreção do PTH promove a desmineralização óssea, aumentando os níveis de fosfato no sangue, atua sobre os rins, diminuindo a excreção do fósforo e estimula a síntese de vitamina D ativa, através da ativação da 1-alfa-hidroxilase renal. O PTH é sensível aos níveis de cálcio ou a alterações na relação Ca:P, quando ficam reduzidos (ROSOL & CAPEN, 1989).

Já a calcitonina, produzida pelas células parafoliculares da tireóide, tem efeito oposto ao PTH, estimulando a deposição de cálcio e fósforo nos ossos. A elevação dos níveis séricos de cálcio e fósforo estimula a secreção desse hormônio. A calcitonina deprime a absorção de fósforo no intestino e estimula a secreção de fósforo na saliva de ruminantes (ROSOL & CAPEN, 1989).

As interações entre a secreção dessas três substâncias permitem a homeostase dos níveis séricos de fósforo, quando o fornecimento dietético de cálcio e fósforo estão em níveis próximos aos requeridos. Dieta deficiente por longos períodos podem desencadear processos patológicos graves e em períodos mais curtos, resultar em perdas discretas de produção (ROSOL & CAPEN, 1989; REBOLLAR & MATEOS, 1999).

### **1.3 Deficiência de Fósforo**

A deficiência de fósforo é generalizada no Brasil (TOKARNIA et al., 1988), representando um problema particularmente grave na região dos Cerrados (LOPES et al., 1997), onde a principal atividade pecuária, criação extensiva de bovinos, é desenvolvida em áreas constituídas de pastagens em pleno processo de degradação.

As pastagens, no Brasil Central, são normalmente estabelecidas em solos de textura média ou arenosa, ácidos e pobres em nutrientes. Como consequência, o teor de fósforo encontrado nos tecidos das forrageiras está muitas vezes abaixo dos níveis de exigências minerais mínimas dos bovinos.

MORAIS (1996) demonstrou em trabalho realizado no Mato Grosso do Sul o efeito sazonal dos minerais na forrageira *Brachiaria decumbens*, bem como sua variação de uma região para a outra. Estes resultados demonstram que, de uma maneira geral, os elementos P, Cu e Zn não atendem totalmente as exigências de um rebanho bovino de corte, para o Ca ficam deficientes as categorias de bovinos em crescimento e vacas em lactação. Já os minerais K, Mg, Fe e Mn estão acima das exigências recomendadas para bovinos de corte.

Extensas áreas com deficiência de fósforo nas pastagens ocorrem em todo o mundo e não há dúvida que essa deficiência é o distúrbio mineral mais comum e, economicamente, o mais importante, afetando a bovinocultura de corte sob regime de

campo no Brasil (TOKARNIA et al, 2000). McDOWELL et al. (1984) reportaram deficiência de fósforo em 46 países tropicais da América Latina, Sul da Ásia e África .

As deficiências minerais podem ocorrer sob diversos graus, desde deficiências severas, com perturbações características, até deficiências leves, com sintomas não-específicos, como baixo desempenho animal, problemas de fertilidade, baixo rendimento da carcaça e pouca produção de leite (TOKARNIA et al., 2000; MACEDO et al. 2002).

A ingestão contínua de dietas deficientes ou desequilibradas em minerais essenciais pode desenvolver desequilíbrios bioquímicos, prejudicando as funções biológicas e levar a desordens estruturais que variam com o mineral, a intensidade e a duração da deficiência, a idade, a condição sexual e a espécie animal (NICODEMO et al.,1999).

TOKARNIA et al. (1999) citaram que os primeiros estudos sobre deficiências minerais em bovinos, no Brasil, referem-se à deficiência de fósforo e foram realizadas na década de 40, no Estado de Minas Gerais. Giovine (1943) fez o diagnóstico clínico da deficiência de fósforo em bovinos, que foi complementado por Menicucci (1943) com dosagens de fósforo em amostras de sangue de bovinos. TOKARNIA et al. (2000) constataram que a deficiência de fósforo é a deficiência mineral mais importante em bovinos no Brasil, nas últimas décadas.

A deficiência de fósforo está associada a uma série de sintomas inespecíficos, como baixo ganho de peso, consumo reduzido, falha reprodutiva e reduções da eficiência alimentar, da taxa de crescimento, da produção de leite e, quando prolongada, causa anomalias ósseas. Entretanto, os sinais de deficiência de fósforo não são facilmente reconhecidos, nos casos severos caracterizados por fragilidade óssea, osteopenia, osteomalácia, fraqueza generalizada, enrijecimento das articulações, apetite depravado de mastigar madeiras, pedras, ossos e outros materiais estranhos a sua dieta normal. Nessa situação, o animal poderá ingerir ossos infectados com *Clostridium botulinum* e com formação da toxina durante o processo de putrefação. Com a ingestão da toxina, o animal poderá desencadear um quadro clínico de botulismo e morte (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999).

De acordo com NICODEMO et al. (2000), a redução no consumo de alimentos é um dos principais sintomas da deficiência de fósforo, e tem sido relacionada à redução da digestão da fibra pela limitação da atividade e síntese de proteína microbiana, redução de fósforo para o metabolismo intermediário e menor síntese de RNA, afetando a atividade metabólica das células.

Nos ruminantes, um fornecimento adequado de minerais é importante para a otimização da atividade microbiana no rúmen (NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC, 1996), com sua deficiência produzindo impacto negativo sobre o crescimento microbiano, podendo induzir a redução da digestibilidade dos alimentos, dependendo da severidade da carência mineral e da disponibilidade do mineral (LOPES & PEREIRA, 1986).

A deficiência de minerais é usualmente corrigida pelo fornecimento de suplemento mineral, que visa corrigir deficiências e desequilíbrios de elementos deficientes nas forrageiras. E, considerando a baixa disponibilidade de fósforo nas pastagens, torna necessária a suplementação deste mineral para bovinos, a partir de fontes como o fosfato bicálcico, o que onera o custo de produção, uma vez que o fósforo inorgânico é, entre os elementos minerais, o mais caro (NUNES et al., 2001). Segundo VIANA (1985), na escolha de uma fonte suplementar de fósforo, devem-se considerar o custo por unidade do elemento, a forma química em que o elemento está presente, a granulometria, a solubilidade e o teor de impurezas. Assim, a relação custo/benefício dessa suplementação deve ser considerada, relacionando o valor das fontes com a disponibilidade de fósforo nas mesmas.

#### **1.4. Fontes de Fósforo**

Ácido fosfórico, em geral, utilizado em suplementos líquidos e fosfatos monocálcico, bicálcico e monoamônico são fontes de fósforo de boa disponibilidade e palatabilidade, sendo bastante utilizadas na suplementação mineral de bovinos (NICODEMO et al., 1998).

Segundo CARDOSO (1991), fosfato é qualquer composto químico que contém fósforo e oxigênio no radical fosfato  $\text{PO}_4^{3-}$  e a origem de quase todo fosfato alimentar

quimicamente processado é a rocha fosfática, com fósforo presente como fosfato tricálcico (apatita).

LIMA et al. (1999) ressalta que os fosfatos inorgânicos são sais de ácido fosfórico e apresentam diferentes propriedades dependentes de sua estrutura química, cristalinidade, tamanho da partícula, pH e concentração de elementos contaminantes.

As jazidas fosfáticas nacionais apresentam teor médio de  $P_2O_5$  (pentóxido de fósforo) de aproximadamente 10%, necessitando de processo de flotação para concentrar teor de  $P_2O_5$ , para serem utilizadas (VIANA, 1985).

Segundo CARDOSO (1991), a rocha fosfática, além do processo de flotação, deve sofrer processamento, visando a obtenção de fosfato com relação fósforo:flúor aceitável para a nutrição mineral de bovinos, assim como adequada biodisponibilidade de fósforo. E, para se conseguir a transformação da rocha com fluoroapatita em fosfato, faz-se necessária a produção de ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ) a partir da rocha, para que o mesmo possa ser utilizado na síntese dos fosfatos alimentares.

Os principais processos de industrialização do ácido fosfórico são por via úmida e via seca. No processamento por via úmida, a rocha fosfática é tratada com ácidos, podendo ser utilizados os ácidos sulfúrico, nítrico, clorídrico ou fosfórico. No Brasil, preconiza-se a utilização do ácido sulfúrico para a produção de ácido fosfórico via úmida.

A rota sulfúrica de solubilização da rocha consiste na obtenção do ácido fosfórico a partir da rocha fosfática, por reação com ácido sulfúrico, com adição de água, produzindo um ácido impuro e sulfato de cálcio precipitado (gesso), que é removido por filtração (NICODEMO, 1988).

Já no processo térmico (via seca), a rocha fosfática é reduzida a fósforo elementar em forno elétrico a altas temperaturas, sendo oxidado pelo ar a pentóxido de fósforo. Os vapores quentes são hidratados e resfriados por reação com a água, produzindo o ácido fosfórico, que é tratado para redução dos traços de impurezas a níveis aceitáveis.

O ácido fosfórico produzido por via térmica é muito baixo em flúor, enquanto o ácido produzido pela via úmida ainda contém níveis de flúor muito altos para sua

utilização em nutrição animal, necessitando de desfluoração. O nível de flúor do ácido pode ser reduzido por adição de dióxido de silício e aquecimento por vapor (NICODEMO, 1988). Qualquer que seja o fosfato utilizado na mistura mineral, a legislação atual exige que as misturas minerais prontas para uso apresentem o máximo de 2.000 ppm (mg/kg) de flúor (F) e uma relação mínima de P:F de 60:1 (BRASIL Portaria MAA/SDR nº 20, de 6 de junho de 1997).

THOMPSON (1980) ressalta que, apesar do processo por via seca produzir ácido fosfórico mais puro, apresenta alto requisito de energia por unidade de fósforo, sendo cerca de oito vezes maior que na produção por via úmida, portanto é um sistema oneroso.

Os fosfatos alimentares produzidos quimicamente resultam em geral da reação do ácido fosfórico com os cátions Ca, K, Na e  $\text{NH}_3$ , sendo os mais importantes quantitativamente os fosfatos de cálcio.

Os compostos fosfatados podem ser divididos em quatro grupos: fosfatos de cálcio, fosfatos de sódio, fosfatos de amônio e ácido fosfórico. No grupo dos fosfatos de cálcio, há sub-divisão em fosfatos naturais (rocha fosfática, fosfato coloidal mole e farinha de osso) e os processados quimicamente (fosfato mono, bi e tricálcico e fosfato desfluorado). Os fosfatos de amônio são representados pelos fosfatos mono e diamônio e o polifosfato de amônio. E, o ácido fosfórico se diferencia pelo processo de produção, por via úmida ou via seca (térmico).

As fontes de fósforo inorgânico mais comumente encontradas são: ácido fosfórico (24% P), fosfato bicálcico (18,5% P), fosfato de rocha (9% P), fosfato de rocha defluorinado (18% P), fosfato diamônico (20-23% P), fosfato dissódico (20,5% P), fosfato monocálcico (21% P), fosfato monossódico (22,4% P), tripolifosfato de sódio (25,3% P), fosfato supertriplo (17,5% P), fosfato monoamônico (21% P) e fosfato termomagnésio (7,5% P) (LIMA et al., 1999).

O fosfato monocálcico é considerado a fonte mineral de maior disponibilidade de fósforo comercializada para a suplementação de dietas vegetais, porém representa um alto custo na formulação, se comparada às demais fontes (SULLIVAN et al., 1992). O

fosfato monocálcico é produzido a partir do ácido fosfórico em reação com substâncias calcárias (CARDOSO, 1991).

O fosfato monobicálcico é resultante da reação do ácido fosfórico com o concentrado apatítico, em condições que favorecem a evaporação do flúor. É um produto que se caracteriza pela maior presença de fosfato monocálcico, cuja característica é a alta solubilidade em água. Possui, no mínimo, 20% de fósforo, relação mínima fósforo/flúor de 60/1 e máxima de cálcio/fósforo de 1,15/1 (ANDIF, 1997).

O fosfato bicálcico é resultante da acidificação do concentrado apatítico, proveniente da flotação da rocha finamente moída, normalmente, com ácido sulfúrico, resultando em ácido fosfórico, que é desfluorizado e desulfatado. A reação entre o rejeito carbonatítico e o ácido fosfórico resulta no fosfato bicálcico, produto com baixos níveis de flúor e de outros contaminantes (Lima et al., 1995). Possui, no mínimo, 18% de fósforo, relação mínima fósforo/flúor de 100/1 e máxima de cálcio/fósforo de 1,38/1 (ANDIF, 1997).

O fosfato bicálcico comercial não está quimicamente definido. Possui proporções variáveis de fosfato monocálcico e bicálcico, ácido fosfórico, carbonato de cálcio e impurezas, dependendo da origem da matéria-prima e do processamento industrial aplicado para sua obtenção, refletindo na qualidade do produto (LIMA et al., 1995; GILL, 1997).

Dependendo das fontes de cálcio utilizadas como bases neutralizantes (óxido de cálcio (CaO), cal hidratada (Ca(OH)<sub>2</sub>) ou calcário (CaCO<sub>3</sub>), obtêm-se três vias básicas de produção do fosfato bicálcico. Na reação do ácido fosfórico com cal virgem, obtém-se um produto quase que 100% composto de fosfato bicálcico, com pH variando do neutro para o básico, apresentando acidez residual instantânea baixa, reduzindo a zero, conforme resfriamento e cura do produto. Já na reação com cal hidratada, o produto formado é composto de 90% de fosfato bicálcico e 10% de fosfato monocálcico, com pH próximo ao neutro e, reagindo com o calcário, forma-se um produto composto de 85% de fosfato bicálcico e 15% de fosfato monocálcico, com pH ácido, próximo a 6 (CARDOSO, 1991).

LIMA et al. (1999), avaliando fosfatos bicálcicos, mostraram que há grandes oscilações nos valores de cálcio (16,5 a 25,7%) e fósforo (17,4 a 21,2%), variando com a fonte avaliada, muitas vezes em desacordo com a legislação atual, que exige que as misturas minerais contenham relação Ca:P mínima de 1:1.

No caso dos superfosfatos, a matéria-prima básica é a rocha fosfática, que, quando atacada por ácido sulfúrico, dá origem ao superfosfato simples, e atacada por ácido fosfórico origina o superfosfato triplo. Quando no processo de produção dos fosfatos totalmente acidulados se utilizam rochas fosfáticas ou concentrados apatíticos (produto do processo de beneficiamento de rochas que contêm impurezas) de elevada qualidade, são obtidos os superfosfatos simples e triplos, que irão conter basicamente fosfato monocálcico mono-hidratado  $[\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ .

Os fosfatos de monoamônio e diamônio são obtidos pela mesma reação do ácido fosfórico com a amônia, em fase gasosa, variando-se apenas as relações amônia/ácido, sendo que o monoamônio atinge teores de 10-11% de nitrogênio amoniacal e de 23-24% de fósforo e o diamônio cerca de 18% de nitrogênio amoniacal e 18-19% de fósforo (CARDOSO, 1991).

Segundo NICODEMO (1988), os produtos referidos como fosfatos desfluorados são fosfato tricálcico bruto, produzidos por reação dos fosfato de rocha com ácido fosfórico e carbonato de sódio, seguida por calcinação da mistura a altas temperaturas; esse processo é a desfluorização térmica direta.

CARDOSO (1991) relata que através da desfluorização ocorre a quebra da malha cristalina da fluoroapatita, permitindo a eliminação parcial do flúor, convertendo, assim, o fosfato de rocha a uma forma mais útil biologicamente aos animais.

A forma da molécula de fosfato é provavelmente a característica isolada mais importante na disponibilidade do fósforo. Os fosfatos apresentam estruturas químicas nas quais cada átomo de fósforo está rodeado por quatro átomos de oxigênio, numa disposição tetraédrica (PEELER, 1982).

Os fosfatos podem ser agrupados em quatro grupos gerais, de acordo com a forma da molécula de fosfato: ortofosfatos, polifosfatos, ultrafosfatos e metafosfatos. Segundo

CARDOSO (1991), a molécula de ortofosfato, que contém um único grupo  $[\text{PO}_4]^{3-}$ , pode estar presente como ânion com carga tripla ou como estruturas nas quais existem ligações covalentes entre um ou mais dos quatro oxigênios a átomos outros, que não o fósforo. Nos polifosfatos, um dado grupo  $[\text{PO}_4]^{3-}$  pode dividir até três dos seus átomos de oxigênio com grupos  $[\text{PO}_4]^{3-}$  das proximidades, mas dois tetraedros  $[\text{PO}_4]^{3-}$  nunca dividem mais de um oxigênio entre si. O mais simples dos polifosfatos é o ânion de pirofosfato,  $[\text{P}_2\text{O}_7]^{4-}$ , no qual dois grupos finais estão ligados como resultado da partilha de um átomo de oxigênio entre duas metades de  $[\text{PO}_4]^{3-}$ . Os metafosfatos são moléculas que formam uma estrutura cíclica e têm uma relação  $\text{M}_2\text{O}/\text{P}_2\text{O}_5$  de 1, sendo que M representa outros elementos que não o fósforo. E, finalmente, os ultrafosfatos são aqueles com uma relação  $\text{M}_2\text{O}/\text{P}_2\text{O}_5$  menor que 1, organizadas estruturalmente em cadeias ramificadas ou anéis, ou combinações de cadeias e anéis.

Em meio aquoso, todos os fosfatos condensados sofrem degradação hidrolítica em um processo que termina com a conversão em ortofosfato. Os polifosfatos têm que ser hidrolizados a ortofosfato antes que os animais os utilizem. As formas meta e pirofosfato são menos disponíveis para ruminantes.

McGILLIVRAY (1978) indica que o fosfato deve estar na forma orto para ser absorvido, principalmente na porção superior do intestino delgado e no duodeno. A forma mais absorvível dos fosfatos inorgânicos, teoricamente, é o estado iônico simples dos átomos ou de grupos iônicos tais como  $[\text{PO}_4]^{3-}$  porque é a forma de maior solubilidade no trato intestinal (MACIEL & LEBOUTE, 1978).

À medida que o fosfato é submetido a temperaturas mais elevadas, ocorre mudança progressiva para formas mais condensadas, assim a cada alteração o valor biológico é reduzido e o fósforo fica menos disponível. O tratamento térmico para eliminar o flúor pode converter parte do fosfato da forma orto, prontamente disponível, para as formas piro e meta, menos disponíveis. O aquecimento necessário depende do fosfato-base e do teor de cálcio na composição do produto, assim ortofosfato monocálcico é convertido em pirofosfato, em calor brando ( $120^\circ\text{C}$ ), enquanto ortofosfato tricálcico sofre conversão somente sob temperatura de  $1600^\circ\text{C}$ . Portanto, é importante o controle cuidadoso do processo de aquecimento durante a produção dos fosfatos para manter a qualidade do produto final (McGILLIVRAY, 1978).

Com o aquecimento em excesso, também a água de hidratação pode ser perdida. Fontes hidratadas são geralmente mais disponíveis biologicamente que fontes anidras do mesmo tipo. Também a solubilidade em água influencia o valor biológico, e geralmente, quanto mais hidrossolúvel, maior o valor biológico da fonte de fósforo.

### **1.5. Avaliação das Fontes de Fósforo**

A avaliação de fontes de fósforo a serem utilizadas na alimentação de bovinos tornou-se obrigatória nos dias atuais. Devido a grande participação do fósforo na mistura mineral, ao alto custo de utilização da mesma na produção de bovinos de corte e à liberação do uso de fontes não convencionais de fósforo na nutrição animal, a utilização de técnicas para aferição do teor de fósforo solúvel se justifica.

O regulamento vigente no Brasil até 2000 determinava a obrigatoriedade da indicação da solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2% para as fontes utilizadas nas misturas minerais, sendo de 90% o valor mínimo aceitável. No entanto, com a publicação da Portaria SDR nº 06, de 04/02/2000, revogando os artigos 2º e 3º e seu parágrafo da Portaria SDR nº 20, de 06/01/1997, esta obrigatoriedade foi suspensa e foi permitido o uso de fontes não convencionais de fósforo, como os fosfatos de rocha e fosfatos supertriplos, na alimentação animal.

Os estudos para determinar a disponibilidade de fósforo são importantes para avaliar o grau de aproveitamento dos ingredientes pelos animais. Biodisponibilidade de um nutriente é a proporção ou porcentagem do nutriente consumido que pode ser absorvida pelo intestino, tornando-se disponível para uso no metabolismo ou para estocagem nos tecidos animais (DUARTE et al., 2003).

Nenhum composto fosfatado apresenta o fósforo completamente disponível e utilizado (VITTI et al., 1991), assim, a biodisponibilidade varia entre as diversas fontes de fósforo e essas diferenças podem ser medidas para comparação das fontes de fósforo no suplemento mineral (VELOSO, 1991). A biodisponibilidade de um nutriente é um termo relativo, sempre se referindo ao valor de um outro produto tomado como padrão. Assim, atribuindo ao fosfato tricálcico um valor 100%, tomando-o como padrão, a biodisponibilidade do fósforo verificadas por vários autores foram de 85,8 a 139% para o fosfato monoamônio, de 105 a 115% para os fosfatos monocálcicos e bicálcicos e de

95,7 a 112,9% para os supertriplos (IMCC, 1983; ROSA et al., 1986; VITTI et al., 1992; LOPES et al., 1997; SILVA FILHO et al., 2000).

Segundo FERNANDES (1996), a variação na disponibilidade biológica de fósforo em suplementos comerciais é bastante grande, sendo de interesse econômico o conhecimento da disponibilidade destas fontes, permitindo a suplementação com mais segurança para os animais e o meio ambiente. O excesso de fósforo no solo e nas águas resulta na eutrofização dos mananciais, com crescimento de algas, redução de oxigênio e morte de peixes e outros organismos, determinando impacto ambiental negativo (DOU et al., 2003; SPEARS et al., 2003).

A biodisponibilidade do fósforo varia principalmente com a forma da molécula de fosfato, mas, fatores como a proporção de Ca:P e interação com outros elementos podem afetá-la. Assim, dois fosfatos podem ser equivalentes no teor de fósforo, porém, diferindo na disponibilidade (VITTI et al., 1991).

Já SULLIVAN & DOUGLAS (1990) ressaltam que o valor de disponibilidade biológica do fosfato varia também de acordo com o método empregado para determiná-lo, com o tipo de fosfato testado e com os objetivos do ensaio.

Os métodos para a avaliação da disponibilidade do fósforo nos alimentos e nas fontes de suplementação mineral podem ser classificados genericamente em métodos *in vivo* e *in vitro*. As técnicas *in vitro* incluem testes de solubilidade em soluções de ácido cítrico em diferentes concentrações, ácido clorídrico, líquidos abomasal e ruminal (NICODEMO & BARROCAS, 1995) e a técnica de rúmen artificial (ANDERSON et al., 1956).

A disponibilidade do fósforo também pode ser determinada por métodos *in vivo* através da mensuração de parâmetros biológicos e/ou de desempenho zootécnico, tais como absorção verdadeira, alternando retirada e fornecimento do elemento ao animal (AMMERMAN et al., 1965), digestibilidade verdadeira (O'DONOVAN et al., 1965), nível sérico e teor de cinzas na costela (WISE et al., 1961), atividade da fosfatase alcalina, exame radiológico, resistência à quebra e densidade do osso, peso da tíbia, velocidade de crescimento (ROSA et al., 1986; LOPES et al., 2001) e pela técnica de

diluição isotópica, com uso de radioisótopos (BELLAVAR et al., 1984; VITTI et al., 1991).

Os primeiros trabalhos sobre avaliação de fontes de fósforo para alimentação animal tentaram relacionar a solubilidade ao valor nutritivo. Segundo UNDERWOOD & SUTTLE (1999), existe relação positiva entre a biodisponibilidade de determinado mineral na forma inorgânica e sua solubilidade em água ou ácidos diluídos.

Considerando que a absorção do fósforo depende da solubilidade que apresenta no ponto de contato com as membranas onde é absorvido e dos fatores que agem para mantê-lo em solução (MACIEL & LEBOUTE, 1978) e que, a fração de fósforo absorvida é diretamente proporcional à quantidade de fósforo ingerida que é solubilizada (FIELD, 1981), a determinação de solubilidade é importante na avaliação da biodisponibilidade do fósforo de fontes utilizadas na alimentação animal.

Segundo NICODEMO & BARROCAS (1995), os testes de solubilidade vêm sendo utilizados pela indústria de fertilizantes, desde 1871, tendo como extratores o ácido cítrico e o citrato neutro de amônio, para determinação do P solúvel, com ocorrência de alta correlação entre os dados obtidos de experimentos agrônômicos e dados de laboratório. No entanto, as tentativas de se adaptarem métodos agrônômicos na avaliação de fosfatos alimentares levaram a resultados conflitantes, observando correlação muito baixa dos dados laboratoriais e dados dos experimentos com os animais.

DUARTE et al. (2003) ressaltam que a diversidade de métodos e de formas de expressão da biodisponibilidade de fósforo é motivo de discussão pelos técnicos e pela indústria de suplementos minerais e que, ultimamente, tem-se dispensado atenção ao desenvolvimento de técnicas de laboratório que sejam apropriadas para a mensuração da qualidade de fosfatos usados na alimentação.

Dentre as metodologias para determinação da solubilidade de fósforo, algumas se baseiam em métodos puramente químicos e outras utilizam fluidos biológicos, como extratores. Entretanto, ainda não existe concordância entre os autores quanto ao melhor método.

Os métodos químicos consistem na solubilidade do fósforo em ácido clorídrico, citrato neutro de amônio, ácido cítrico a 0,5% (YOSHIDA et al. 1979), a 2% - método oficial (BRASIL, 1991) e a 2% - método francês (GUEGUEN, 1970).

DUARTE et al. (2003) comparando os métodos *in vitro* para determinação da biodisponibilidade de fósforo, comprovaram a ineficiência dos testes de solubilidade em ácido clorídrico e em citrato neutro de amônio, para identificar fontes de fósforo segundo seu valor biológico.

A solubilidade em ácido cítrico a 2%, de acordo com o método convencional, proposto por Gueguen, vem sendo amplamente utilizada para predizer o valor biológico dos fosfatos (DUARTE et al., 2003). SULLIVAN et al. (1992) verificaram alta correlação entre esse método e a biodisponibilidade da fonte testada.

ALCARDE & PONCHIO (1979) relatam, em seu estudo, que a ação solubilizante da solução de ácido cítrico a 2% está baseada na associação de dois fatores: ação complexante do ácido cítrico e seus íons e acidez da solução, que apresenta pH 2,3. Em pH 2,0 o ácido cítrico apresenta-se predominantemente na espécie  $H_3Citr$  e, em menor proporção, na espécie  $H_2Citr$ ; a espécie  $H_3Citr$  forma complexos preferencialmente com os cátions  $Ca_2$  e  $Cu_2$ , enquanto a espécie  $H_2Citr$  forma complexos com  $Ca_2$ ,  $Fe_2$ ,  $Mg_2$  e  $Mn_2$ ; o cátion  $Al_3$  não forma complexos com nenhuma dessas espécies. A ação solubilizante do ácido cítrico é maior em relação aos fosfatos cálcicos do que em relação aos fosfatos de ferro e alumínio, e há maior solubilidade do fosfato de ferro do que do fosfato de alumínio nesse extrator. Esses autores classificaram os fosfatos cálcicos em função da solubilidade em ácido cítrico em fosfatos de alta solubilidade (fosfatos bi e tricálcicos), de solubilidade mediana (hiperfosfato) e de baixa solubilidade (fosfato de Patos de Minas, fosfato de Araxá e fosfato de Jacupiranga).

Já YOSHIDA et al. (1979) estudaram a solubilidade de fósforo em solução de ácido cítrico como índice de disponibilidade biológica e recomendaram o uso de ácido cítrico a 0,5%, como um procedimento válido, simples, rápido e prático para a determinação da solubilidade de fosfatos alimentares.

DAY et al. (1973) investigaram a disponibilidade de fontes de fósforo, grau alimentar, através das solubilidades em ácido clorídrico a 0,4%, ácido cítrico a 2% e

citrato neutro de amônio comparadas com o bioensaio de aves, usando o teor de cinzas ósseas da tibia. Não encontraram correlação entre a solubilidade ácida e as cinzas ósseas disponíveis. Somente o ácido clorídrico a 0,4% mostrou-se promissor para a predição de biodisponibilidade em aves.

HALL & LEE JR. (1978), avaliando o efeito da fonte de fósforo e tempo de incubação na solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2% e em fluido de rúmen, constataram que a proporção de fósforo solubilizada aumentou com a maior duração da incubação e que as fontes de fósforo comerciais e farinha de osso diferiram significativamente entre si. Nesse mesmo experimento, foi detectada interação entre fontes de fósforo e solução aplicada para determinação da solubilidade do elemento. Fontes comerciais e escória de Thomas diminuíram ligeiramente sua solubilidade, quando o meio passou de ácido cítrico para fluido ruminal, ao passo que, a farinha de ossos teve sua solubilidade aumentada.

WITT & OWENS (1983) reportaram a solubilidade *in vitro* de diversas fontes de fósforo em tampão ruminal e no fluido abomasal. Concluíram que a abomasal pode ser mais indicativa da disponibilidade total da fonte de fósforo para ruminantes do que a solubilidade em diferentes valores de pH. Sugeriram que o fósforo solúvel no pH gástrico poderia ser considerado como um parâmetro do fósforo disponível para absorção e reciclagem em ruminantes.

Segundo ROSA et al. (1986), a quantidade absorvida de um elemento inorgânico depende diretamente da liberação deste elemento no rúmen ou abomaso. Esses autores avaliaram a solubilidade abomasal e ruminal de fontes inorgânicas de fósforo em bovinos e bubalinos e apontaram que a técnica de solubilização de fósforo no fluido abomasal foi mais segura e indicativa para a avaliação de fontes de fósforo, quando comparada à solubilização no líquido ruminal. Entretanto, a solubilidade de fósforo no fluido ruminal deve ser obtida, pois fornece dados sobre o teor de fósforo disponível para o crescimento microbiano.

ROSTAGNO et al. (1986), comparando as solubilidades de fósforo em líquidos ruminal e abomasal, também verificaram a maior efetividade da técnica de solubilização

em líquido abomasal em relação ao ruminal, na avaliação de fontes de fósforo utilizadas na alimentação animal.

Em seu estudo sobre avaliação da disponibilidade de fontes de fósforo para ruminantes, através de técnicas *in vitro*, MOREIRA et al. (1988) verificaram que a solubilidade em ácido cítrico a 2% apresenta ligação mais estreita com os valores de disponibilidade biológica

FREITAS et al. (1989), comparando diferentes fontes de fósforo e/ou cálcio através da solubilização *in vitro* em líquidos ruminal e abomasal de bovinos, concluíram que a solubilidade abomasal de cálcio e fósforo tende a ser maior que a ruminal.

Já NICODEMO & BARROCAS (1995) compararam as solubilidades ruminal, abomasal, em ácido cítrico a 0,5% - método oficial e a 2%- método francês e digestibilidade *in vitro* para avaliação de fontes de fósforo destinadas a bovinos, onde verificaram que as técnicas *in vitro* não foram apropriadas para a avaliação de diferentes fosfatos alimentares e que dos testes avaliados, o ácido cítrico mostrou-se o mais promissor. Além disso, esses autores afirmaram que existem dificuldades no estabelecimento de valores mínimos de solubilidade (alta, média e baixa) para a indicação de fosfatos adequados à alimentação animal.

LIMA & HAYS (1996) avaliaram características físicas e químicas de 03 fosfatos quimicamente puros, 04 fosfatos comerciais, 07 fosfatos de uso agrícola e 07 fosfatos de rocha. Os valores médios observados foram de 1,8; 2,4; 6,3 e 1,7% para umidade; 0; 1,2; 2,5 e 12% para resíduos insolúveis; 5,7; 6,7; 4,7 e 7,4 para pH; 669; 1003; 1055 e 1392 g/L para densidade aparente; 42,7; 11,5; 55,0 e 0,2% para solubilidade de fósforo em água; 94,9; 84,3; 88,4 e 21,6% para solubilidade de fósforo em ácido cítrico a 2%, respectivamente para as fontes estudadas. Pelos resultados obtidos, pode-se observar que fosfatos com pH moderadamente ácidos apresentam valores maiores de solubilidade do P em água e em ácido cítrico a 2%.

Em seu experimento, LIMA et al. (1999) utilizaram a solubilidade em ácido cítrico a 2% para comparar diferentes fosfatos bicálcicos comerciais como fontes de fósforo na nutrição animal e encontraram valores superiores a 90%.

Recentemente, DUARTE et al.(2003), avaliando a solubilidade do fósforo presente em seis fontes por meio da utilização de sete extratores (água, diferentes concentrações de ácido cítrico, ácido clorídrico e citrato neutro de amônio), com procedimento de laboratório padronizado, independente do extrator utilizado, verificaram que o ácido cítrico na proporção de 10% é o extrator mais indicado, pois solubilizou acima de 80% das fontes de média a alta biodisponibilidade (fosfato bicálcico, monoamônico, supertriplo, farinha de ossos autoclavada e farinha de ossos calcinada) e menos de 50% da fonte cujo fósforo é reconhecidamente de baixo valor biológico, como fosfato de rocha de Araxá.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCADE, C.R.; RAIMUNDO, P.C.; GARCIA, J.; SAKAGUTI, E.S.; SIQUEIRA, G.B.; PRADO, I.N.; RIGOLON, L.P.; DIAS, F.J. Comportamento das concentrações de cálcio e fósforo no trato digestório. *In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA*, 41, Campo Grande. **Anais...**Campo Grande:SBZ, v.41, 2004.CD-ROM.

ALCARDE, J.C.; PONCHIO, C.O. A ação solubilizante das soluções de citrato de amônio e de ácido cítrico sobre fertilizantes fosfatados. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v.3, p. 173-178, 1979.

AMMERMAN, C.B.; CHICCO, C.F.; MASRI, N.N.; MOORE, J.E.; SHIRLEY, R.L. Availability of inorganic phosphates to calves and to cellulolytic rumen microorganism in vitro. **Journal of Animal Science**, v.24, n.3, p.872, 1965.

ANDERSON, R.; CHENG, E.; BURROUGHS, W. A laboratory technique for measuring phosphorus availability of feed supplements fed to ruminants. **Journal of Animal Science**, v.15, n.1, p. 489-495, 1956.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE FONTES DE FÓSFORO NA ALIMENTAÇÃO – ANDIF. **O fósforo na alimentação animal**. São Paulo: 1997. 74p. (Séries Técnicas 1).

BARCELLOS, J.O.J. O papel do fósforo na nutrição de bovinos de corte. *In: DIAZ GONZALEZ, F.H.; OSPINA, H.; BARCELLOS, J.O.J. (Ed.). Nutrição mineral em ruminantes*. 2.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1998. p. 23-72.

BELLAVER, C.; GOMES, P.C.; FIALHO, E.T. et al. Absorção e disponibilidade de fósforo de fosfatos naturais em rações para suínos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.19, n.12, p. 1513-1515, 1984.

BOIN, C. Exigências de minerais pelas categorias de rebanho bovino e funções desses nutrientes. *In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS*, 3., 1985, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1985. p.15-46.

BRAITHWAITE, G.D. Endogenous faecal loss of phosphorus in growing lambs and the calculation of phosphorus requirements. **Journal of Animal Science**, v.105, n.1, p.67-72, 1985.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Portaria nº 108, de 04 de setembro de 1991. Aprova os métodos analíticos para controle de alimentos para uso animal. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 17 set., 1991. Seção 1, p. 19813-19842.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria SDR nº 020, de 06 de junho de 1997. Estabelece limites mínimos ou máximos de macro e microelementos para formulações de misturas minerais destinadas a aves, suínos e bovinos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 09 jun., 1997. Seção 1, p. 11788.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria SDR nº 006, de 04 de fevereiro de 2000. Altera o artigo 5º e revoga os artigos 2º e 3º da Portaria SDR nº 20, de 06 de junho de 1997. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 08 fev., 2000. Seção 1.

CARDOSO, J.L.A. Produção, processamento e perspectivas do fosfato na alimentação animal. In: MINI-SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 6. Campinas, 1991. **Anais...** Campinas:CBNA, 1991. p. 35-52.

CHALLA, J.; BRAITHWAITE, G.D. Phosphorus and calcium metabolism in growing calves with special emphasis on homeostasis. 1. Studies of the effects of changes in the dietary phosphorus intake and calcium metabolism. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.110, n.3, p.573-581, 1988.

DAY, E.J.; McNAUGHTON, J.; DILWORTH, B.C. Chemical versus chick bioassay for phosphorus availability of feed grade sources. **Poultry Science**.v.52, p.393-395, 1973.

DAYRELL, M.S. Suplementação mineral para vacas de leite de alta produção. In: MINI-SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL E ALIMENTAÇÃO DE GADO LEITEIRO, 9., 1993, Valinhos. **Anais...**Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1993. p.71-81.

DIAZ GONZALEZ, F.H. Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: DIAZ GONZALEZ, F.H.; BARCELLOS, J.O.; RIBEIRO, L.A.O. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.31-51

DOU, Z.; FERGUSON, J.D.; FIORINI, J.; TOTH, J.D.; ALEXANDER, S.M.; CHASE, L.E.; RYAN, C.M.; KNOWLTON, K.F.; KOHN, R.A.; PETERSON, A.B.; SIMS, J.T.; WU, Z. Phosphorus feeding levels and critical control points on dairy farms. **Journal Dairy Science**. v. 86, p. 3787-3795, 2003.

DUARTE, H.C.; GRAÇA, D.S.; BORGES, F.M.O.; DI PAULA, O.J. Comparação de métodos *in vitro* para determinação da biodisponibilidade de fósforo. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.5, n.1, 2003.

FERNANDES, J.I.M.; LIMA, F.R.; HAYS, V.W.; et al. Available phosphorus in agriculture grade phosphates for broiles. **Poultry Science**, v.75, suppl.1, p.43, 1996.

FIELD, A.C. Some problems in determining dietary allowances of macroelements for ruminants. In: ANNUAL INTERNATIONAL MINERALS CONFERENCE, 4. St. Petersburg, 1981. The Don Cesar Beach Resort. St. Petersburg. **Proceedings... Mundelein:IMCC**, 1981. p. 1-11.

FREITAS, E.A.G. de; DUFLOTH, J.H.; GOMES, I.P.O. Solubilidade *in vitro*, ruminal e abomasal de fontes de cálcio e fósforo para bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 26, Porto Alegre. **Anais...Porto Alegre:SBZ**, v.26, 1989. p.117.

GEORGIEVSKII, V.I. The physiological role of macroelements. In: GEORGIEVSKII, V.I.; ANNENKOV, B.N.; SAMOKHIN, V.I. **Mineral nutrition of animals**, London: Butterworths, 1982. cap.6., p.91-170.

GILL, C. Phosphorus; be careful white cheap P. **Feed Internacional**, September, 1997, p. 19-26.

GUEGUEN, L. Les critères de qualité nutritionnelle des compléments minéraux en alimentation animale. **Bull. Soc. Scient. Hyg. Aliment.**, v.58, p.115-129, 1970.

HALL, G.A.B.; LEE JR., D.D. Efeito da fonte de fósforo e tempo de incubação na solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2%, e em fluido de rúmen. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. v.7, n.1, p.14 -25. 1978.

HAYS, V.W.; SWENSON, M.J. Minerais e ossos. In: SWENSON, M.J. (Ed.). **DUKES/ Fisiologia dos animais domésticos**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. p.397-427.

INTERNATIONAL MINERALS AND CHEMICAL CORPORATION. Libertyville. **Calcium and phosphorus in animal nutrition**. Libertyville., IMCC, 1983. 55p.

LANGWINSKI, D.; OSPINA, H. **A nutrição de ruminantes e os complexos orgânicos de minerais**. Rio Grande do Sul: UFRGS, 2001. 52p.

LIMA, F.R.; FERNANDES, J.I.M.; OLIVEIRA, E.; FRONZAGLIA, G.C.; KAHN, H. Laboratory evaluations of feed-grade and agricultural-grade phosphates. **Poultry Science**, v.78, p.1717-1728, 1999.

LIMA, F.R.; HAYS, V.W. Mineral concentrations in phosphates. **Poultry Science**, v.75, suppl.1, p.85, 1996.

LIMA, F.R.; MENDONÇA JR, C.X.; ALVAREZ, J.C.; RATTI, G.; LENHARO, S.L.R.; KAHN, H.; GARZILLO, J.M.F. Chemical and physical evaluations of commercial dicalcium phosphates as sources of phosphorus in animal nutrition. **Poultry Science**, v.74, p.1659-1670, 1995.

LOPES, H.O.S., TOMICH, T.R. Avanços recentes na nutrição mineral de bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 38, 2001, Piracicaba, **Anais ...**, Piracicaba: ESALQ, p.205-234, 2001.

LOPES, H.O.S.; PEREIRA, E.A. Fontes alternativas de fosfatos na suplementação alimentar de animais. In: ENCONTRO NACIONAL DE ROCHA FOSFÁTICA, 3., 1986, Brasília, DF. **Anais...IBRAFOS**, 1986. p.435-450.

LOPES, H.O.S.; PEREIRA, M.G.; PEREIRA, E.A.; SOARES, W.V.; COSTA, M.F.V.; SANCHES, R.L. Avaliação dos níveis de metais pesados e do flúor em amostras de fosfato bicalcico e superfosfato triplo para nutrição animal. In: REUNIÃO ANUAL DA

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, João Pessoa. **Anais...**João Pessoa:SBZ, v.1, 1997. p.462-465.

MACEDO, M.P.; SOBRINHO, E.B.; CAMINHAS, M.M.T.; BARBOSA, F.A.; RODRIGUES NETO, A.J. Efeitos da suplementação mineral sobre o desempenho de vacas de corte e seus produtos mantidos em pastagens tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39, Recife. **Anais...**Recife:SBZ, v.39, 2002.CD-ROM.

MACIEL, M.L.C.; LEBOUTE, E.M. Avaliação de farinhas de osso por métodos indiretos e biológicos. Anuário Técnico do Instituto de Pesquisas Zootécnicas “Francisco Osório”, Porto Alegre, v.5, n.2, p.609-658, 1978.

MACKIE, R.I.; THERION, J.J. Influence of mineral interactions on growth efficiency of rumen bacteria. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON HERBIVORE NUTRITION IN THE SUBTROPICS ON TROPICS, 1983. **Proceedings...** 1983.

McDOWELL, L.R. Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil. 3 ed., University of Florida , 92 p., 1999.

McDOWELL, L.R.; CONRAD, J.H.; ELLIS, G.L. In: SYMPOSIUM ON HERBIVORE NUTRITION IN SUB-TROPICS AND TROPICS – PROBLEMS AND PROSPECTS F.M.C. Gilchrist and R.I. Mackie, eds. p.67. Pretoria, South Africa, 1984.

McGILLIVRAY, J.J. Biological availability of phosphorus sources. In: ANNUAL INTERNACIONAL MINERALS CONFERENCE. 1., 1978, St. Petersburg Beach. The promise of plenty. S.I.: IMC, 1978. p.73-86.

MELLO, R.; SENGER, C.C.D.; SANCHEZ, L.M.B; AZENHA, N.P.; MORAIS, J.A.S.; LIMA, R.F. Suplementação mineral de bovinos de corte em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, Campo Grande. **Anais...**Campo Grande:SBZ, v.41, 2004.CD-ROM.

MORAES, S.S. Elementos minerais quelatados em suplementos para bovinos de corte. In: CURSO DE SUPLEMENTAÇÃO MINERAL EM BOVINOS. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, p.126-135.1998.

MORAIS, M.G. **Variações sazonais na composição química de *Brachiaria decumbens* sob pastejo e comparação da química clínica de vacas sadias e acometidas da síndrome da "vaca caída" em Mato Grosso do Sul** . 1996. Tese (Doutorado em Nutrição Animal)- Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MOREIRA, V.R.; PRATES, E.R.; LEBOUTE, E.M. Disponibilidade de várias fontes de fósforo para ruminantes avaliada por técnicas *in vitro*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 25, Viçosa. **Anais...** Viçosa:SBZ, v.25, 1988. p.116.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requirements of Beef Cattle. Washington , D.C. National Academy of Sciences , 7 ed., 242 p., 1996.

NICODEMO, M.L.F. **Efeito de diferentes fontes de fósforo na suplementação mineral de novilhas anelradas em pastejo**. 1988. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1988.

NICODEMO, M.L.F.; MORAES, S.S.; ROSA, I.V.; MACEDO, M.C.M.; SAN THIAGO, L.R.L.; ANJOS, C.R. Avaliação de níveis de fósforo na dieta de novilhos nelore em crescimento: efeitos no desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.29, n.4, p.1191-1195, 2000.

NICODEMO, M.L.F. Diagnóstico de deficiências minerais em bovinos. In: SIMPÓSIO GOIANO SOBRE PRODUÇÃO DE BOVINOS DE CORTE, 1, 1999, Goiânia, **Anais....**, Goiânia: CBNA, p. 57-80, 1999.

NICODEMO, M.L.F.; BARROCAS, G.E.G. Métodos “in vitro” para avaliação de fontes de fósforo destinadas a bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.24, n.1, p.49-60, 1995.

NICODEMO, M.L.F.; SOUZA, J.C.; GOMES, R.F.; et al. Fontes de fósforo em misturas minerais para novilhas em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.4, p.801-808, 1998.

NUNES, R.V.; BUTERI, C.B.; NUNES, C.G.V. et al. Fatores antinutricionais dos ingredientes destinados à alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2001. p.235-272.

O'DONOVAN, J.P.; PLUMLEE, M.P.; SMITH, W.H.; BEESON, W.M. Availability of phosphorus in dicalcium phosphates and defluorinated phosphate for steers. **Journal of Animal Science**, v.24, n.4, p. 981-985, 1965.

PEELER, H.T. Phosphorus – a review. In: ANNUAL INTERNATIONAL MINERALS CONFERENCE; 5. St. Petersburg, 1982. The Don Cesar Beach Resort. St, Petersburg. **Proceedings...**Mundelein: IMCC, 1982. p.1-22.

POWER R., HORGAN, K. Biological chemistry and absorption of inorganic and organic trace metal. In: Proceedings of the 16 th Annual Symposium on Biotechnology in the Feed Industry. Nottingham University Press. Nottingham , U.K., p.277-291, 2000.

REBOLLAR, P.G.; MATEOS, G.G.El fósforo en la nutrición animal: necesidades, valoración de materias primas y mejora de la disponibilidad. XV Curso de Especialização – **Avances em nutrición y alimentación animal**, 1999.

ROSA, L.C.A.; SILVA, J.F.C.; ANDRADE, A.T. et al. Solubilidade abomasal e ruminal de fontes inorgânicas de fósforo em bovinos e bubalinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.15, n.4, p.364-371, 1986.

ROSOL, T.J.; CAPEN, C.C. Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In: Kaneko J.J. (Ed.) **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 4 ed., New York: Academic Press, 1989. p. 678-752.

ROSTAGNO, H.S.; SILVA, J.F.C.; ROSA, L.C.A.; LEÃO, M.I. Biological availability of phosphorus in brazilian phosphates. In: SYMPOSIUM III: POULTRY OF THE IV WORLD CONGRESS OF ANIMAL FEEDING, Madrid, 1986.

RUNHO, R.C.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; LOPES, P.S.; POZZA, P.C. Exigência de fósforo disponível para frangos de corte machos e fêmeas de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.1, p.187-196, 2001.

SILVA FILHO F. et al. Exigências líquidas e dietéticas de energia, proteína e macroelementos minerais de bovinos de corte no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.31, n.2, p.776-792, 2002.

SOUZA, N.H. **Metabolismo ruminal e balanço de minerais em bubalinos com diferentes níveis de ingestão de fósforo**. 2004. 53f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2004.

SPEARS, R.A.; YOUNG, A.J.; KOHN, R.A. Whole-farm phosphorus balance on western dairy farms. **Journal Dairy Science**. v. 86, p. 688-695, 2003.

SULLIVAN, T.W.; DOUGLAS, J.H. Phosphorus bioassay: developments in five decades. In: NUTRITION FOR THE NINETIES, 1990, Mundellein, Pitman-Moore. **Proceedings...** p.18-37.

SULLIVAN, T.W.; DOUGLAS, J.H.; GONZALES, N.J.; BOND JR, P.L. Correlation of biological value of feed phosphates with their solubility in water, dilute hydrogen chloride, dilute citric acid, and neutral ammonium citrate. **Poultry Science**, v.71, p. 2065-2074, 1992.

THOMPSON, D.J. Industrial considerations related to fluoride toxicity. **Journal of Animal Science**, v.51, n.3, p.767-772, 1980.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; MORAES, S.S. Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.8, n.1, p. 1-16, 1988.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; MORAES, S.S.; PEIXOTO, P. Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos – revisão dos estudos realizados no Brasil, de 1987 a 1998. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.19, n.2, p. 47-62, 1999.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos em regime de campo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.20, n.3, p. 127-138, 2000.

UNDERWOOD, E.J; SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed. Wallingford: Cabi, 1999. p. 105-148.

VELOSO, J.A.F.; FURTADO, M.A.O.; BORGES, F.M.O. Avaliação de fontes de fósforo. I- Biodisponibilidade do fósforo de dez fontes para frango de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 28, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa:SBZ, v.28, 1991. p.325.

VIANA, J.A.C. Fontes de sais minerais para bovinos e o desafio de suplementos de fósforo no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 3. Piracicaba, 1985. **Anais...** Piracicaba:FEALQ, 1985. P. 47-66.

VITTI, D.M.S.S.; ABDALLA, A.L.; SILVA FILHO, J.C. da. Avaliação da disponibilidade biológica do fósforo do fosfato de rocha para ovinos com uso de radiofósforo (P32) como traçador. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.26, n.8, p.113-118, 1991.

VITTI, D.M.S.S.; LOPES, J.B.; ABDALLA, A.L.; HADDAD, M.L. Modelo do fluxo biológico do fósforo em bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, Viçosa. **Anais...**Viçosa:SBZ, v.37, 2000.CD-ROM.

WISE, M.B.; WENTWORTH, R.A.; SMITH, S.E. Availability and effects on digestion. **Journal of Animal Science**. v.20, n.2, p.329-335, 1961.

WITT, K.E.; OWENS, F.N. Phosphorus: Ruminant availability and effects on digestion. **Journal of Animal Science**. v.56, n.4, p.930-937, 1983.

YOSHIDA, M.; ISHIKAWA, M.; NAKAJIMA, H. et al. Solubility of phosphorus in citric acid solution as an index of biological availability. **Japanese Poultry Science**. v.16, n.5, p.209-292, 1979.

## SOLUBILIDADE CÍTRICA, RUMINAL E ABOMASAL DO FÓSFORO DE FOSFATOS COMERCIAIS

[*Citric, ruminal and abomasal solubility of phosphorus in commercial phosphates*]

### RESUMO

Estudou-se a solubilidade do fósforo contido em fosfatos bicálcicos, fosfatos monocálcicos, fosfatos supertriplos e fosfato monoamônio. Para a extração do fósforo, foram utilizadas metodologias *in vitro*, empregando solução de ácido cítrico a 2% com três tempos de incubação e os líquidos ruminal e abomasal com tempo único de incubação. Os dados foram avaliados segundo delineamento experimental inteiramente ao acaso e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Verificou-se que a extração com ácido cítrico a 2% apresentou maior sensibilidade para detectar as diferenças de solubilidade entre os fosfatos comerciais testados, especialmente em relação aos fosfatos monocálcicos. Apenas para dois dos fosfatos testados o tempo de incubação afetou ( $P < 0,05$ ) a solubilidade do fósforo no ácido cítrico a 2%. Dentre os líquidos biológicos, o abomasal foi mais eficaz em detectar diferenças de solubilidade de fósforo. Para o grupo dos fosfatos contendo teores baixos de cálcio, como os supertriplos, ou não contendo cálcio, como o fosfato monoamônio, as técnicas do ácido cítrico associadas aos líquidos biológicos mostraram-se capazes de detectar diferenças de solubilidade do fósforo.

**Palavras-Chave:** metodologias *in vitro*, ruminante, suplemento mineral

## ABSTRACT

It was evaluated the phosphorus (P) solubility and the efficiency of five analytical methods of fifteen commercial phosphates. It was used three extractors solutions, the 2% citric acid with three times of *in vitro* (20 minutes, 6 and 20 hours) and the ruminal and abomasal liquids with 24 and 2 hours, respectively. It was concluded that the P solubility by 2% citric acid method had more sensitivity to detect differences between phosphates and the monocalcium and dicalcium phosphates than biological liquids. The abomasal liquid was better than ruminal liquid. The acid extractors were more efficient than neutral.

**Keywords:** in vitro methodologies, mineral supplement, ruminant

## INTRODUÇÃO

No grupo dos nutrientes minerais para ruminantes, o fósforo se destaca pelas inúmeras funções que desempenha no organismo, pela frequência e a severidade de suas deficiências nas forrageiras tropicais e pelo alto custo que representa sua suplementação aos animais. Isoladamente, o teor de fósforo de determinada fonte não assegura que o elemento estará totalmente disponível para o animal (Lopes, 2001), uma vez que, conforme Veloso (1991), a biodisponibilidade do fósforo é diferente nas diversas fontes.

A absorção do fósforo depende da solubilidade que o mineral apresenta no ponto de contato com as membranas onde é absorvido e dos fatores que agem para mantê-lo em solução (Maciel e Leboute, 1978). Desta forma, de acordo com Field, (1981), a fração de fósforo que é absorvida é proporcional à quantidade ingerida que é solubilizada.

Segundo Nicodemo et al. (1999), os métodos para avaliação da biodisponibilidade de fósforo nos alimentos e nas fontes de suplementação podem ser classificados em métodos *in vivo* e *in vitro*. As técnicas *in vitro* são menos onerosas, são usadas como provas de rotina na indústria de suplementos minerais e, em regra, conforme descrito por (Underwood e Suttle, 1999), levam em consideração a relação positiva entre a solubilidade em água ou ácidos diluídos de determinado mineral com a sua biodisponibilidade. De acordo com Nicodemo e Barrocas (1995), entre outras metodologias, as técnicas *in vitro* incluem os testes de solubilidade em soluções de ácido cítrico em diferentes concentrações e nos líquidos abomasal e ruminal.

No Brasil, a regulamentação determina que os rótulos de suplementos minerais para ruminantes apresentem a solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2%. Entretanto, Hall e Lee Jr. (1978), avaliando o efeito da fonte de fósforo e tempo de incubação na solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2%, encontraram que a proporção de fósforo solubilizada aumentou com a maior duração da incubação. Por outro lado, segundo Rosa et al. (1986), a quantidade do elemento disponível para a absorção depende diretamente da fração que é solubilizada no rúmen ou no abomaso.

Este estudo teve como principais objetivos avaliar e comparar a solubilidade *in vitro* do fósforo presente em 15 fosfatos comerciais empregando como soluções extratoras o ácido cítrico a 2% em três tempos de incubação e os líquidos ruminal e abomasal. Adicionalmente, foi verificado se as metodologias de extração empregada foram capazes identificar os diferentes grupos de fosfatos testados.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus de Campo Grande, MS, durante os meses de abril a setembro de 2004. Quinze fontes comerciais de fósforo, agrupadas em fosfatos bicálcicos (FBC), fosfatos monobicálcicos (MBC), fosfatos supertriplos (TSP) e fosfato monoamônio (MAP), foram avaliadas quanto aos teores de fósforo, conforme Fiske & Subbarow (1925), e de cálcio por permanganatometria. Foi realizada a determinação da solubilidade do fósforo, empregando-se solução de ácido cítrico a 2% com três períodos de incubação e os líquidos ruminal e abomasal com período único de incubação *in vitro*.

Na determinação do fósforo solúvel em ácido cítrico, quantidades isofosfóricas (20 mg) de cada fonte de fósforo foram colocadas em tubos de digestão contendo 20 ml de solução de ácido cítrico a 2% (p.v.), de modo a obter concentração final de 1mg de fósforo por ml de solução. As amostras foram incubadas em estufa a 39°C por períodos de 20 minutos, seis horas e 20 horas. Foram usadas três repetições por período de incubação por fonte. Ao final do tempo de incubação foi procedida a filtração do conteúdo dos tubos de digestão utilizando-se papel de filtro. Descartou-se o filtrado e foi determinado o teor de fósforo insolúvel nos resíduos da filtração. A solubilidade do fósforo foi obtida como porcentagem da quantidade de fósforo na amostra antes de incubar e a quantidade de fósforo no resíduo após a incubação.

Para a quantificação da solubilidade ruminal do fósforo, foram usados como doadores de líquido ruminal três bovinos adultos, rúmen canulados, mantidos com água à vontade e sob dieta à base de feno e sal mineralizado. O líquido ruminal foi diluído em solução de McDougall a 39°C e saturado com CO<sub>2</sub>, conforme descrito por Tilley & Terry (1963). Cinquenta ml desta solução foram colocados em tubos de digestão contendo 25 mg de fósforo de cada fonte testada. Foi feita incubação a 39°C durante 24

horas, procedeu-se a filtração do conteúdo dos tubos em papel de filtro e o teor de fósforo insolúvel foi determinado nos resíduos da filtração, empregando-se a metodologia descrita. Tubos sem amostra (branco) foram avaliados, com a finalidade de descontar o teor de fósforo da solução de líquido ruminal + solução de McDougall.

A solubilidade abomasal do fósforo foi determinada usando líquido abomasal obtido de bovinos recém abatidos. Após a filtração do material coletado no abatedouro, 30 ml de líquido abomasal foram colocados em cada tubo de digestão contendo 17 mg de fósforo de cada uma das distintas fontes. Esses tubos foram incubados a 39°C pelo período de duas horas. Após a incubação, os tubos foram centrifugados a 5000 rpm por 10 minutos, tiveram o conteúdo filtrado em papel de filtro e o teor de fósforo insolúvel foi determinado nos resíduos da filtração. Para a correção do teor de fósforo, tubos contendo somente o líquido abomasal (branco) também foram testados.

Nos testes com os fluidos biológicos, a solubilidade do fósforo foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ Solubilidade de P} = \frac{\text{P tubo teste} - \text{P tubo branco}}{\text{P tubo teste}} \times 100$$

Utilizou-se delineamento experimental inteiramente ao acaso, segundo um esquema fatorial 15 x 3 x 3 (fontes de fósforo x tipos de extrator x período de incubação). Os resultados foram analisados de acordo com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + F_i + E_j + P_k + FE_{ij} + FP_{ik} + EP_{jk} + FEP_{ijk} + \varepsilon_{ijk}, \text{ em que:}$$

$Y_{ijkl}$  = observação l, relativa à fonte de fósforo i, extrator j, no período de incubação k

$\mu$  = média geral

$F_i$  = efeito da fonte de fósforo i (i = 1, 2, 3, ..., 15)

$E_j$  = efeito do extrator j, (j = 1, 2, 3)

$P_k$  = efeito do período de incubação k (k = 1, 2, 3)

$FE_{ij}$  = interação dos efeitos da fonte i com o extrator j

$FP_{ik}$  = interação dos efeitos da fonte i com período de incubação k;

$EP_{jk}$  = interação dos efeitos do extrator j com o período de incubação k;

$FEP_{ijk}$  = interação dos efeitos da fonte i com o extrator j e com período de incubação k

$\varepsilon_{ijk}$  = erro aleatório associado à observação

As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%. Para a análise dos dados foi utilizado o programa “Statistical Analysis System”, conforme SAS Institute Inc. (1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos teores de cálcio, de fósforo e da relação Cálcio/Fósforo das diferentes fontes de fósforo testadas estão contidas na Tabela 1.

Tabela 1. Teores de cálcio, fósforo, relação cálcio/fósforo e valores de pH dos fosfatos comerciais testados

Fonte de fósforo	Cálcio (%)	Fósforo (%)	Cálcio/Fósforo
Fosfatos Bicálcicos – FBC			
FBC 1	33,90	15,24	2,24/1
FBC 2	29,34	20,59	1,42/1
FBC 3	38,70	18,08	2,14/1
FBC 4	30,45	17,10	1,78/1
FBC 5	36,58	19,37	1,88/1
FBC 6	37,16	19,56	1,89/1
FBC 7	31,41	18,83	1,66/1
FBC 8	34,04	20,54	1,65/1
Fosfatos Supertriplos - TSP			
TSP 1	21,26	20,02	1,06/1
TSP 2	19,15	19,71	0,97/1
TSP 3	18,96	16,65	1,14/1
Fosfatos Monobicálcicos - MBC			
MBC 1	27,20	18,90	1,44/1
MBC 2	27,40	18,50	1,48/1
MBC 3	25,67	20,25	1,27/1
Fosfato Monoamônio - MAP			
MAP 1	---	19,47	---

As fontes de fosfatos bicálcicos apresentaram grandes variações nos teores de cálcio (29,34% a 38,70%) e de fósforo (15,24% a 20,59%). Os fosfatos supertriplos e monobicálcicos apresentaram variações menores, com valores de 18,96% a 21,26% e de 25,67% a 27,40% para de cálcio e de 16,65% a 20,02% e de 18,90% a 20,05% para o

fósforo, respectivamente. O fosfato monoamônio avaliado apresentou 19,47% de fósforo, abaixo do teor de 23%-24%, que, conforme Cardoso et al. (1991), é o valor médio observado do elemento para esse tipo de fosfato. Segundo Lima et al. (1995) e Gill (1997), os fosfatos comerciais apresentam concentrações variadas de cálcio e de fósforo, sendo essas variações na composição química dependentes das matérias primas e do processamento industrial empregados para sua obtenção.

Para a maior parte das fontes de fósforo testadas, observou-se a relação Cálcio/Fósforo entre 1/1 e 2/1, dentro da faixa de 1/1 até 7/1 estabelecida pela atual legislação brasileira que fixa parâmetros e características mínimas para os suplementos minerais destinados aos bovinos. Apenas o fosfato supertriplo STP 2, que apresentou a relação Cálcio/Fósforo de 0,97/1, não seria adequado para ser utilizado como fonte única de fósforo em mistura mineral para bovinos capaz de atender esse quesito da legislação.

Na Tabela 2 são apresentadas as porcentagens de solubilidade do fósforo presente nos fosfatos testados, conforme as diferentes metodologias *in vitro* empregadas na extração.

Os fosfatos bicálcicos apresentaram médias gerais de solubilidade de variando de 74,67% na metodologia que empregou o líquido abomasal como extrator a 81,26% utilizando-se 20 minutos de incubação em ácido a 2%. Comparando os resultados obtidos no presente trabalho com dados da literatura acerca da solubilidade do fósforo de fosfatos bicálcicos, observou-se que para foram, de modo geral, próximos aos resultados de Hall e Lee Jr (1978) e Lima et al. (1995), que encontraram pequena variação nos valores de solubilidade do fósforo desse grupo de fosfato em ácido cítrico a 2%, de 89,27 a 92,22 e de 85,9 a 97,6%, respectivamente. Valores mais altos de solubilidade do fósforo desse mesmo tipo de fosfato foram verificados por Day et al. (1973), Sullivan et al. (1992) e Potter (1988), que encontraram valores de 99,5%, 95,5% e 98,6%, respectivamente. Valores mais baixos em relação aos obtidos no atual estudo foram observados por Moreira et al. (1988), que obtiveram de 22,7% e 59,3% de solubilidade do fósforo de fosfatos bicálcicos, quando avaliaram a disponibilidade de fontes de fósforo inorgânico através de técnicas *in vitro*.

Tabela 2. Porcentagem de solubilidade do fósforo de fosfatos comerciais empregando-se diferentes metodologias de extração *in vitro*

Fonte de fósforo	Extrator (tempo de incubação)				
	Ácido cítrico 2% (20 min.)	Ácido cítrico 2% (6 horas)	Ácido cítrico 2% (20 horas)	Líquido ruminal (24 horas)	Líquido abomasal (2 horas)
	Solubilidade do fósforo (%)				
<b>Fosfatos bicálcicos - FBC</b>					
FBC 1	85,35 <sup>Ab</sup>	82,65 <sup>Abcdef</sup>	80,67 <sup>ABef</sup>	74,80 <sup>Bb</sup>	72,79 <sup>Bc</sup>
FBC 2	80,97 <sup>Abce</sup>	80,36 <sup>Abcdef</sup>	77,23 <sup>Aef</sup>	78,02 <sup>Ab</sup>	75,99 <sup>Abc</sup>
FBC 3	81,12 <sup>Abcde</sup>	82,59 <sup>Abcdef</sup>	80,44 <sup>Ade</sup>	72,79 <sup>Ab</sup>	74,65 <sup>Abc</sup>
FBC 4	81,51 <sup>Acb</sup>	81,05 <sup>Abcdef</sup>	89,04 <sup>Acd</sup>	70,26 <sup>Bb</sup>	74,35 <sup>Bc</sup>
FBC 5	78,58 <sup>ABcdefg</sup>	83,13 <sup>Abcdef</sup>	75,93 <sup>ABef</sup>	74,84 <sup>ABb</sup>	73,24 <sup>Bc</sup>
FBC 6	80,97 <sup>Abf</sup>	78,60 <sup>ABcef</sup>	70,33 <sup>Bfg</sup>	77,81 <sup>ABb</sup>	74,52 <sup>ABbc</sup>
FBC 7	81,28 <sup>Abce</sup>	81,11 <sup>Abcdef</sup>	81,73 <sup>Ade</sup>	78,81 <sup>Ab</sup>	76,18 <sup>Abc</sup>
FBC 8	80,27 <sup>Abc</sup>	78,61 <sup>Acef</sup>	80,46 <sup>Ade</sup>	75,75 <sup>Ab</sup>	75,61 <sup>Abc</sup>
Média geral	81,26	81,01	79,48	75,38	74,67
<b>Fosfatos supertriplos - TSP</b>					
TSP 1	72,64 <sup>Bcfg</sup>	76,37 <sup>ABbdef</sup>	78,53 <sup>ABcd</sup>	78,85 <sup>ABb</sup>	83,22 <sup>Aabc</sup>
TSP 2	83,81 <sup>Ab</sup>	84,30 <sup>Abcd</sup>	77,19 <sup>Abc</sup>	79,20 <sup>Ab</sup>	82,10 <sup>Aabc</sup>
TSP 3	87,88 <sup>ABbc</sup>	86,68 <sup>ABb</sup>	91,98 <sup>Acd</sup>	78,78 <sup>Cb</sup>	82,25 <sup>Cabc</sup>
Média geral	81,68	85,31	87,60	78,77	78,77
<b>Fosfatos monobicálcicos - MBC</b>					
MBC 1	74,70 <sup>Bef</sup>	80,26 <sup>Bef</sup>	86,29 <sup>Aef</sup>	77,67 <sup>Bb</sup>	78,56 <sup>Bab</sup>
MBC 2	87,32 <sup>ABbd</sup>	87,46 <sup>ABbdef</sup>	90,03 <sup>Aef</sup>	79,66 <sup>Bb</sup>	78,76 <sup>Bab</sup>
MBC 3	83,03 <sup>ABb</sup>	88,21 <sup>Abc</sup>	86,49 <sup>ABbc</sup>	78,97 <sup>Bb</sup>	78,99 <sup>Bab</sup>
Média geral	81,44	82,45	82,57	88,85	85,86
<b>Fosfato monoamônio - MAP</b>					
MAP 1	100,00 <sup>Aa</sup>	100,00 <sup>Aa</sup>	100,00 <sup>Aa</sup>	88,85 <sup>Ba</sup>	85,86 <sup>Ba</sup>

Letras maiúsculas comparam médias de solubilidade nas colunas, ou seja, entre as fontes de fósforo. Letras minúsculas comparam médias de solubilidade nas linhas, ou seja, entre as metodologias de extração. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

A média geral de solubilidade do fósforo presente nos fosfatos supertriplos variou de 78,77% nos fluidos biológicos a 87,60% na incubação por 20 horas na solução de ácido cítrico a 2%. Os valores de solubilidade do fósforo presente no grupo dos supertriplos obtidos neste estudo foram inferiores aos obtidos por Nicodemo e Barocas (1995), que verificaram 100% de solubilidade de fósforo deste grupo de fosfato pela extração em ácido cítrico a 2%. Duarte et al. (2003), trabalhando com diferentes concentrações de ácido cítrico na determinação da solubilidade de fósforo, constataram

que quando foi testado o ácido cítrico a 2% como extrator, o fosfato supertriplo apresentou solubilidade acima de 95%, superior aos valores obtidos neste experimento para o mesmo grupo de fosfato.

Para os fosfatos monobicálcicos foram verificadas médias gerais de 78,94% a 82,57% na extração com líquido ruminal e com 20 horas em ácido cítrico a 2%, respectivamente.

Independente da metodologia de extração, o fosfato monoamônio apresentou altas porcentagens de solubilização do fósforo, variando de 85,86% de solubilidade no líquido ruminal, 88,85% no líquido abomasal e 100,00% para as extrações em ácido cítrico a 2%. Exceto na metodologia empregando o líquido abomasal como extrator, o fosfato monoamônio apresentou valores significativamente mais altos de solubilidade do fósforo em relação às demais fontes. As porcentagens de solubilidade do fósforo de fosfato monoamônio obtidos no atual estudo ficaram próximas dos resultados obtidos por Nicodemo e Barrocas (1995), que encontraram valores de 100%, 98% e 89% para a solubilidade em ácido cítrico a 2%, líquido ruminal e líquido abomasal, respectivamente. Resultados semelhantes também foram obtidos por Rosa et al. (1986) e Nicodemo e Barrocas (1995), que justificaram que a solubilidade mais elevada no fosfato monoamônio ocorreu devido à ausência de cálcio na sua constituição.

Levando-se em consideração o uso do ácido cítrico a 2% como extrator, foram verificadas variações ( $P < 0,05$ ) entre algumas fontes testadas. Para o grupo de fosfatos bicálcicos, os valores de solubilidade para a maioria das fontes foram estatisticamente semelhantes entre si com 20 minutos de incubação. No entanto, observou-se diferença entre os valores obtidos para o FBC 5 em relação ao FBC 1, que não diferiu dos demais. Foi observada semelhança ( $P > 0,05$ ) na solubilidade do fósforo de todas as fontes, neste mesmo grupo, para a incubação de seis horas. Entretanto, foi detectada diferença ( $P < 0,05$ ) entre valores de solubilidade de fósforo obtidos para FBC 4, FBC 1, FBC 2 e FBC 6 e entre o FBC 6, FBC 3, FBC 7 e FBC 8 no período de 20 horas de incubação. Quanto aos demais tratamentos, não foi detectada variação significativa entre eles.

Ainda em relação à solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2%, entre os fosfatos monobicálcicos, o MBC 3 apresentou valor significativamente superior (87,88%) que o MBC1 (72,64%) aos 20 minutos de incubação, o mesmo ocorrendo com a incubação de seis horas. Ainda neste grupo, com 20 horas de incubação, a solubilidade

do fósforo presente no MBC 3 foi mais elevada ( $P < 0,05$ ) em relação à solubilidade nas demais fontes do grupo.

Na metodologia que empregou o líquido ruminal como extrator, fósforo solúvel no fosfato monoamônio (88,85%) foi mais elevado que valor obtido para as demais fontes.

Os fosfatos monobicálcicos, bicálcicos e supertriplos apresentaram, em líquido ruminal, solubilidades de fósforo semelhantes ( $P > 0,05$ ), com valores superiores a 70%. Os valores obtidos neste experimento foram, de modo geral, inferiores aos apresentados por Hall e Lee Jr (1978), que encontraram valores de solubilidade do fósforo de fosfatos bicálcicos em líquido ruminal, com 20 horas de incubação, de 94,74% e 99,24%. Valores próximos aos do atual estudo foram observados por Rosa et al. (1986) e Rostagno et al. (1986), que encontraram valores de 79,6% e 78,7%, respectivamente para a solubilidade do fósforo de fosfatos bicálcicos em líquido ruminal. Valores inferiores foram notados por Witt e Owens (1983) e Freitas et al. (1989) que, trabalhando com solubilidade de fósforo de fosfatos bicálcicos comerciais em líquido ruminal, encontraram valores de 29,7% e 42,7%, respectivamente. Essa diferença na solubilidade do fósforo de determinada fonte utilizando-se um mesmo extrator, quando muito grande, pode, em parte, ser atribuída às variações nas metodologias utilizada em estudos distintos.

Quando o extrator foi o líquido abomasal, observou-se que este fluido detectou diferenças na solubilidade do fósforo entre os produtos do grupo de fosfatos bicálcicos com o grupo do fosfato monoamônio. As fontes FBC 1, FBC 4 e FBC 5 apresentaram valores de fósforo solúvel significativamente inferiores aos do fosfato monoamônio e do grupo dos monobicálcicos. De forma geral, os resultados obtidos neste experimento, para a solubilidade do fósforo em líquido abomasal, foram inferiores aos encontrados por Nicodemo e Barrocas (1995) para o fosfato monoamônio (89%) e fosfato monocálcico (94%), sendo marcante a diferença observada para o fosfato bicálcico, que apresentou valor de 21% de solubilidade de fósforo, ou seja, cerca de 3,5 vezes inferior ao obtido neste estudo. Comparando-se a solubilidade do fósforo dos fosfatos bicálcicos em líquido abomasal deste estudo com os dados de literatura encontrados para estudos com bovinos, verificou-se que os resultados atuais estão de acordo com os níveis citados por Freitas et al. (1989) e Rosa et al. (1986), que variaram de 42,7 a 79,65%.

Os resultados mostraram que no grupo dos fosfatos bicálcicos, para o FBC 1, o ácido cítrico a 2% com incubação de 20 minutos e seis horas, apresentou valores de solubilidade do fósforo significativamente superiores aos obtidos com líquido abomasal e ruminal, que si equivaleram ( $P>0,05$ ). Semelhança ( $P>0,05$ ) entre os valores de solubilidade do fósforo foi obtida com a amostra FBC 4 para os tempos de incubação de 20 minutos, seis e 20 horas. Entretanto, para o FBC 5 somente a solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2% com seis horas (83,13%) foi maior ( $P<0,05$ ) que a apresentada no líquido abomasal com duas horas de incubação (73,24%). Para o FBC 6, a solubilidade do fósfor em ácido cítrico foi maior (80,97%) com 20 minutos quando comparada com a de 20 horas de incubação no mesmo extrator, observando diminuição da solubilidade do fósforo com aumento do tempo de incubação em ácido cítrico a 2%. Para os demais tratamentos no grupo dos bicálcicos, não foram detectadas diferenças ( $P>0,05$ ) de solubilidade entre as técnicas.

No grupo dos fosfatos supertriplos, para o TSP 1, o valor de solubilidade do fósforo no líquido abomasal (83,22%) foi mais elevado ( $P<0,05$ ) do que o valor obtido com o ácido cítrico a 2% com 20 minutos de incubação. Para o TSP 3, a solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2% com 20 horas de incubação (91,98%) foi significativamente mais elevada que as solubilidades obtidas em líquido ruminal e abomasal, 78,78% e 82,25%, respectivamente.

Para os fosfatos monobicálcicos, somente para a amostra MBC 3 a solubilidade do fósforo no ácido cítrico a 2% com 20 horas de incubação foi maior ( $p<0,05$ ) que as encontradas nos demais métodos analíticos. Já para o MBC 2, diferença significativa foi obtida entre o ácido cítrico a 2% com 20 horas (90,03%) e os líquidos ruminal (79,66%) e abomasal (78,76%), que apresentaram solubilidades sem diferenças ( $P>0,05$ ) entre si. Para o MBC3, verificou-se solubilidade superior ( $P<0,05$ ) quando o fósforo foi extraído utilizando seis horas de incubação em ácido cítrico a 2% (88,71%) em relação aos valores de solubilidade obtidos empregando os líquidos ruminal (78,97%) e abomasal (78,99%). Para o fosfato monoamônio, os valores de solubilidade em ácido cítrico nos três tempos de incubação (100%) foram mais elevados ( $P<0,05$ ) que os obtidos com os fluidos ruminal (88,85%) e abomasal (88,86%).

Para 13 das 15 fontes de fósforo testadas o tempo de incubação em ácido cítrico a 2% não afetou ( $P>0,05$ ) a solubilidade do fósforo. Apenas para o fosfato bicálcico FBC

6 e o fosfato supertriplo TSP 1 observou-se efeito significativo do tempo de incubação sobre a solubilidade e apenas para o TSP 1 verificou-se aumento da solubilidade ( $P < 0,05$ ) com o aumento de tempo de incubação. Hall & Lee Jr (1978), trabalhando com os mesmos tempos de incubação em ácido cítrico avaliados neste estudo, verificaram aumentos de solubilização do fósforo com maiores tempos de incubação, tanto em fosfatos bicálcicos como em farinha de ossos, que discorda com os resultados obtidos no presente trabalho.

Comparando os resultados obtidos na extração com os fluidos biológicos, observou-se que os valores de solubilidade do fósforo de uma mesma amostra não apresentaram diferenças ( $P > 0,05$ ) em relação ao extrator utilizado. Já considerando as diferenças nos valores de solubilidade do fósforo encontrados em ácido cítrico a 2% entre os produtos de um mesmo grupo e entre diferentes grupos de fosfatos, pode-se atribuir maior eficiência desta técnica, quando comparada ao emprego dos fluidos biológicos para a classificação da solubilidade do fósforo em diferentes fontes. Além disso, o ácido cítrico a 2%, nos três tempos de incubação, apresentou melhores resultados em relação à predição da qualidade da fonte de fósforo, pois solubilizou 100% do fósforo da fonte de alta biodisponibilidade (fosfato monoamônio) e acima de 75% do fósforo das fontes consideradas de média biodisponibilidade (fosfato bicálcico, fosfato supertriplo e fosfato monobicálcico).

Embora não tenham sido detectadas diferenças significativas entre os valores de solubilidade do fósforo pela extração com fluidos biológicos, o líquido abomasal mostrou-se mais eficiente na comparação de fosfatos, pois com tempo de extração cerca de 10 vezes menor que do líquido ruminal. Esta afirmação baseia-se no fato do líquido abomasal ter sido capaz de detectar diferenças significativas dentro de um mesmo grupo (fosfato bicálcico) e entre grupos de fosfatos (fosfato bicálcico x fosfato monoamônio), ao passo que no emprego do líquido ruminal, observou-se diferença apenas entre o fosfato monoamônio e os demais grupos.

## CONCLUSÕES

A técnica que utiliza a extração com ácido cítrico a 2% apresentou-se como a mais sensível para detectar diferenças de solubilidade do fósforo dos fosfatos comerciais, principalmente os monobicálcicos e em menor intensidade nos bicálcicos,

quando comparada com as solubilidades obtidas pela extração em líquidos abomasal e ruminal.

Dentre os líquidos biológicos, o abomasal é mais eficiente em detectar diferenças de solubilidade do fósforo, com menor tempo de incubação.

Para o grupo dos fosfatos contendo teores baixos de cálcio, como os supertríplôs, ou não contendo cálcio, como o monoamônio, as técnicas do ácido cítrico associadas aos líquidos biológicos mostraram-se capazes de detectar diferenças de solubilidade do fósforo.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARDOSO, J.L.A. Produção, processamento e perspectivas do fosfato na alimentação animal. In: MINI-SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 6. Campinas, 1991. **Anais...** Campinas:CBNA, 1991. p. 35-52.

DAY, E.J.; McNAUGHTON, J.; DILWORTH, B.C. Chemical versus chick bioassay for phosphorus availability of feed grade sources. **Poultry Science**.v.52, p.393-395, 1973.

DUARTE, H.C.; GRAÇA, D.S.; BORGES, F.M.O.; DI PAULA, O.J. Comparação de métodos *in vitro* para determinação da biodisponibilidade de fósforo. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.5, n.1, 2003.

FIELD, A.C. Some problems in determining dietary allowances of macroelements for ruminants. In: ANNUAL INTERNATIONAL MINERALS CONFERENCE, 4. St. Petersburg, 1981. The Don Cesar Beach Resort. St. Petersburg. **Proceedings...** Mundelein:IMCC, 1981. p. 1-11.

FISKE, C.H.; SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **J. Biol. Chem.**, v.66, p.375-378, 1925.

FREITAS, E.A.G. de; DUFLOTH, J.H.; GOMES, I.P.O. Solubilidade *in vitro*, ruminal e abomasal de fontes de cálcio e fósforo para bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 26, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre:SBZ, v.26, 1989. p.117.

GILL, C. Phosphorus; be careful white cheap P. **Feed Internacional**, September, 1997, p.19-26.

HALL, G.A.B.; LEE JR., D.D. Efeito da fonte de fósforo e tempo de incubação na solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2%, e em fluido de rúmen. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. v.7, n.1, p.14 -25. 1978.

LIMA, F.R.; MENDONÇA JR, C.X.; ALVAREZ, J.C.; RATTI, G.; LENHARO, S.L.R.; KAHN, H.; GARZILLO, J.M.F. Chemical and physical evaluations of commercial dicalcium phosphates as sources of phosphorus in animal nutrition. **Poultry Science**, v.74, p.1659-1670, 1995.

LOPES, H.O.S. *Fontes alternativas de fósforo para redução de custos do sal mineral para bovinos*. Planaltina: Embrapa Cerrados. 2001, 44p. (Documentos, 45)

MACIEL, M.L.C.; LEBOUTE, E.M. Avaliação de farinhas de osso por métodos indiretos e biológicos. **Anuário Técnico do Instituto de Pesquisas Zootécnicas "Francisco Osório"**, v.5, n.2, p.609-658, 1978.

MOREIRA, V. R.; PRATES, E.R.; LEBOUTE, E.M. Disponibilidade de várias fontes de fósforo para ruminantes avaliada por técnicas *in vitro*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 25, Viçosa. **Anais...** Viçosa:SBZ, v.25, 1988. p.116.

NICODEMO, M.L.F. Diagnóstico de deficiências minerais em bovinos. In: SIMPÓSIO GOIANO SOBRE PRODUÇÃO DE BOVINOS DE CORTE, 1, 1999, Goiânia, **Anais...**, Goiânia: CBNA, p. 57-80, 1999.

NICODEMO, M.L.F.; BARROCAS, G.E.G. Métodos "in vitro" para avaliação de fontes de fósforo destinadas a bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.24, n.1, p.49-60, 1995.

POTTER, L.M. Bioavailability of phosphorus from various phosphates based on body weight and to ash measurements. **Poultry Science**, v.67, p.96-102, 1988.

ROSA, L.C.A.; SILVA, J.F.C.; ANDRADE, A.T. et al. Solubilidade abomasal e ruminal de fontes inorgânicas de fósforo em bovinos e bubalinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.15, n.4, p.364-371, 1986.

ROSTAGNO, H.S.; SILVA, J.F.C.; ROSA, L.C.A.; LEÃO, M.I. Biological availability of phosphorus in brazilian phosphates. In: SYMPOSIUM III: POULTRY OF THE IV WORLD CONGRESS OF ANIMAL FEEDING, Madrid, 1986.

SAS INSTITUTE, **SAS user's guide: statistics**. Cary, 1998, 7 ed. SAS Institute. 956p.

SILVA FILHO F. et al. Exigências líquidas e dietéticas de energia, proteína e macroelementos minerais de bovinos de corte no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.31, n.2, p.776-792, 2002.

SULLIVAN, T.W.; DOUGLAS, J.H.; GONZALES, N.J.; BOND JR, P.L. Correlation of biological value of feed phosphates with their solubility in water, dilute hydrogen chloride, dilute citric acid, and neutral ammonium citrate. **Poultry Science**, v.71, p. 2065-2074, 1992.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal British Grassland Society**, v.18, n.2, p.104-111, 1963.

UNDERWOOD, E.J; SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed. Wallingford: Cabi, 1999. p. 105-148.

VELOSO, J.A.F.; FURTADO, M.A.O.; BORGES, F.M.O. Avaliação de fontes de fósforo. I- Biodisponibilidade do fósforo de dez fontes para frango de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 28, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa:SBZ, v.28, 1991. p.325.

WITT, K.E.; OWENS, F.N. Phosphorus: Ruminant availability and effects on digestion. **Journal of Animal Science**. v.56, n.4, p.930-937, 1983.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando o suporte de literatura envolvendo o assunto, verifica-se a existência de inúmeros fatores ligados a avaliação analítica dos produtos, que podem interferir na solubilidade de P, destacando-se o substrato de rocha e sua forma química no processo de industrialização, o pH, o tipo de extrator (soluções ácidas, líquidos biológicos) e as concentrações dos mesmos no tratamento das amostras, entre outros. Associado a eles, temos o organismo animal com suas variáveis interferentes no metabolismo, destacando-se o “status” nutricional e fisiológico, idade, natureza da dieta (volumoso ou concentrado), dinâmica da fermentação ruminal, cinética da digestão (taxas de passagem líquida e sólida associada ao tamanho de partícula, tempo de trânsito intestinal da digesta; sinergismo e antagonismo entre elementos minerais nos locais de absorção, etc). A interação destes fatores dificultam o estabelecimento de métodos laboratoriais simples, definitivos e viáveis, que estejam altamente correlacionados com a biodisponibilidade dos fosfatos comerciais na dieta dos animais, de forma eficiente ao que é usado na avaliação dos fertilizantes.

Diante disso, novas pesquisas avaliando variações na diluição da solução extratora, no tempo de incubação, de forma que o mesmo esteja relacionado à cinética gastrointestinal no animal e, a descoberta de novos extratores serão úteis para o desenvolvimento e padronização de uma técnica laboratorial, capaz de avaliar a solubilidade do fósforo de fosfatos comerciais, de maneira eficiente, e determinar correlação com o valor biológico do fósforo *in vivo*.