

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS



**EVALUACIÓN DE YEMA DE HUEVO COMO MÉTODO
PARA DETERMINAR DISPONIBILIDAD BIOLÓGICA
DEL FÓSFORO**

T E S I S QUE PRESENTA

EPITACIO TORRES QUIROZ

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

DIRECTOR: Ph.D. José Rogelio Orozco Hernández
Las agujas, Nextipac, Mpio. Zapopan, Jalisco.

Febrero 1998

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	X
INTRODUCCIÓN	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
JUSTIFICACIÓN	5
HIPÓTESIS	6
OBJETIVOS	7
MATERIAL Y MÉTODOS	8
RESULTADOS	11
DISCUSIÓN	20
CONCLUSIÓN	22
BIBLIOGRAFÍA	23

RESUMEN

La medición de la disponibilidad biológica (**DB**) del fósforo proporciona información sobre su utilización por el organismo. Los métodos de medición de **DB** usan cenizas en hueso por lo que, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la **DB** con el contenido de fósforo en la yema de huevo como respuesta. Se utilizaron 50 gallinas de raza Leghorn (línea Dekalb) de 100 semanas de edad, con 66% de postura. Se elaboraron cinco dietas con niveles de fósforo 0.35, 0.40, 0.45, 0.50, y 0.55 mg/kg MS usando ortofosfato 21%. Se tomaron muestras de huevo producido durante día 7 y 14 (**D7** y **D14**), se determinó; postura (%), peso de yema y su contenido en fósforo (**PY**). Además se evaluó la respuesta de la concentración de **PY** a diferentes fuentes del mineral [ortofosfato 18 (**O18**), harina de hueso (**HH**) y roca fosfórica defluorinada (**RF**)]. Los parámetros fueron analizados como un diseño aleatorizado con arreglo factorial 2 x 5 con 10 repeticiones por tratamiento, y se estableció la relación entre el fósforo suplementado y **PY** por regresión. La producción de huevo fue más elevada con niveles de fósforo superiores al 0.40% ($P < 0.05$). El nivel de **PY** vario con respecto al nivel de ortofosfato suplementado ($P < 0.05$), tanto en **D7** como **D14**, se encontró una elevada correlación ($r = 0.99$). El peso de la yema fue más constante en **D7** que en **D14** ($P < 0.05$). La disponibilidad del fósforo fue mas elevada con **HH** (104%), [75% para **O18**, y un 91% para **RF** ($P < 0.05$). En base a los resultados del estudio se concluye que la evaluación de **DB** utilizando **PY** puede ser empleado como respuesta.

INTRODUCCIÓN

El fósforo es uno de los minerales indispensables en el organismo ya que participa en la formación del esqueleto conjuntamente con otros minerales, tales como; calcio, zinc, magnesio, molibdeno, manganeso, arsénico (2, 5, 27).

El fósforo en el organismo se deposita en un 80% en huesos y dientes, un 10% combinados con proteínas, lípidos y carbohidratos en sangre, musculos y líquidos intracelulares, la parte restante forma también compuestos químicos de gran importancia en la transferencia de energía celular (ATP y ADP), en el mensaje genético [ADN y ARN (2, 19), mantenimiento del equilibrio osmótico y ácido base del organismo, en sistemas enzimáticos como componente activo formando parte de los fosfolípidos de la membrana celular (19) además, juega un papel muy importante en los procesos de formación del cascarón, albúmina y la yema del huevo para la posterior alimentación del embrión (27, 31, 33).

La absorción de este mineral se realiza en el intestino delgado (duodeno), intestino grueso en rumiantes (16), así como en duodeno, yeyuno e íleon en monogástrico y en relación al pH de estos (2, 5, 8, 18), con la participación de las hormonas calcitropina y paratohormona (12, 22), aunado a la vitamina D₃ provenientes de la dieta o producida por el organismo (2, 5, 8). Además en su absorción el fósforo presenta una relación positiva y en niveles altos inhibe algunos minerales como el calcio al no mantener una proporción adecuada (27).

Según estudios un alto contenido de grasa en la dieta reduce el paso al torrente sanguíneo de este mineral por la formación de jabones (16), el hierro en niveles altos impide la utilización del fósforo en las dietas ya que produce una hemacromatosis siderosis (22). El aluminio y el flúor quelan el fósforo reduciendo su absorción (5, 8, 26, 30), por lo que es indispensable suplementar el fósforo en las dietas para evitar deficiencias.

Dicha suplementación puede hacerse a partir de algunas fuentes de fósforo como pueden ser fuentes inorgánicas, como son; ortofosfato dicálcico, fosfato dicálcico, roca fosfórica desfluorinada, fosfato diamónico, ácido fosfórico, o con fuentes orgánicas de origen animal, como son; harina de hueso, harina de carne, harina de sangre, harina de pescado. Por otro lado, se tiene las fuentes de origen vegetal como son: granos y sus subproductos, oleaginosas y cereales (15, 16, 22, 25, 33).

El fósforo en los granos y otros ingredientes de origen vegetal se presenta en forma de ácido fitico el cual es digerido por los rumiantes en un 50 a 75%, ya que poseen enzimas ruminales que la desdobla e hidroliza (19, 34), y en los monogástricos lo digieren un 10 a 30% (inclusive en los pavos de un 20%), ya que no cuentan con la enzima necesaria para su aprovechamiento (5, 8, 22, 34, 36).

Por lo tanto, se necesita medir que cantidad que pudiera aprovecharse del fósforo presente en los ingredientes, encontrando que en la industria avícola es indispensable la evaluación permanente de minerales para sostener los límites mínimos de producción, afectada por minerales, sobre todo el fósforo, a través de la nutrición. Así, para evaluar la disponibilidad biológica del fósforo es necesario realizar un serie de pruebas encaminadas a determinar el fósforo que puede ser aprovechado por el animal (4, 5, 8, 9, 14).

Existen técnicas de evaluaciones para la determinación de la disponibilidad biológica del fósforo, las que incluyen aquellas que miden la solubilidad del mineral en soluciones ácidas o alcalinas (9, 10, 15, 32, 33), así como las que miden en cerdos, cenizas de ciertos huesos del esqueleto (7, 17, 26, 27, 28, 30, 31) e incluso la cantidad de fósforo en suero plasmático (1, 27). En aves, a parte del efecto que es medible por medio de la producción (25), producción de huevo (27), solubilidad y su correlación con disponibilidad (9, 13, 32) se llegan a medir cenizas de fémur (28, 30), tibia (1, 11, 14, 15, 16, 18, 20, 26, 31, 32, 33, 35, 36), tarso (26), así como el método dimensional de tibia de pavo (1, 25), nivel de fósforo en suero plasmático de gallina (12, 20, 23, 28), dureza del hueso a la fractura (15, 35).

Pero, en la determinación de cenizas de hueso el sacrificio del animal es inminente y relacionado con la especie que se trate, el tiempo que se requiere para su evaluación final es una de las limitaciones metodológicas. Aunque las evaluaciones en aves son cortas y el número de animales necesarios es alto, los resultados que se tienen son variables por lo que sería de relevancia buscar un método alternativo que ayude a realizar la medición de la biodisponibilidad del fósforo de fuentes de este mineral.

Dichas técnicas deberán ser más accesibles y deben permitir manejar un número representativo de repeticiones, como pudieran ser a través del contenido del fósforo en yema de huevo, ya que durante la etapa de formación, de éste en el ovario, absorbe este nutrimento a través de la membrana vitelina por un proceso de presión osmótica del suero plasmático (5, 13).

Este método se ha utilizado para medir la disponibilidad biológica del selenio de los ingredientes utilizados en la alimentación de aves (21), dando resultados similares a los encontrados con otros métodos. Además, se ha usado para medir la disponibilidad biológica de la biotina (6), dando resultados muy confiables y una correlación elevada con el nivel de suplementación. Por lo tanto, evaluar este método como una técnica alternativa para medir la disponibilidad biológica del fósforo es necesario puesto que mantienen vivas las gallinas para poder realizar más estudios.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los sistemas de producción la metodología utilizada para medir la disponibilidad biológica del fósforo, de distintas fuentes de este elemento, evalúa la deposición del mineral en tejido óseo, requiriendo el sacrificio del sujeto de la prueba, siendo por ello prolongadas en tiempo. Haciéndose necesario encontrar métodos más sencillos y que no conlleven el sacrificio innecesario del sujeto experimental, tal pudiera ser el caso del contenido de del fósforo en yema de huevo, pero no existen estudios que validen esta propuesta. Por ende, proporcionar alternativas de medición y de ahorro puede resultar en beneficio tanto del productor como del nutriólogo y en un instrumento de evaluación para los investigadores del área.

JUSTIFICACIÓN

La determinación de disponibilidad biológica de minerales a través de cenizas de hueso necesita el sacrificio del animal de la especie que se trate, además otras técnicas de medición como son las cenizas de pelo, y la determinación del fósforo en suero sanguíneo varían de manera estacional, debiendo hacer repeticiones en las diferentes estaciones del año para poder llegar a un resultado preciso. Por lo tanto, se tiene que buscar un método alternativo el cual no conlleve el sacrificio innecesario del animal y presente una alta correlación con respecto a una fuente conocida de disponibilidad elevada. Tal pudiera ser el caso de la medición de la disponibilidad biológica del fósforo a través de la yema de huevo, dado que este producto es sensible a cualquier alteración mineral y ha mostrado se ha determinado tanto el selenio como la biotina con un alto grado de correlación.

OBJETIVOS

General

Evaluar la utilización de la deposición de fósforo en la yema de huevo como método para determinación de la disponibilidad biológica del fósforo.

Particulares

1. Determinar el día de toma de muestra para una mejor correlación entre el nivel de suplementación y la deposición de fósforo en yema de huevo.
2. Cuantificar el contenido de fósforo disponibles en las fuentes utilizadas para la elaboración de dietas para aves.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron cincuenta gallinas de raza Leghorn de la línea Dekalb, con 100 semanas de edad y en segundo ciclo de postura, con 29 semanas de pelecha en una postura del 66%, las cuales fueron alojadas en jaulas convencionales de 25 por 45 cm, colocadas sobre un soporte de metal. Diez gallinas fueron asignadas, en base a una distribución completamente aleatorizada, a cada tratamiento. Las aves recibieron una dieta [16% proteína y 2.7 Mcal. de EM (24)] de base elaborada utilizando grano de sorgo y pasta de soya como principales ingredientes (Cuadro 1).

Con la finalidad de evaluar el impacto del nivel de fósforo sobre el contenido de éste mineral en yema de huevo, se elaboraron cinco dietas conteniendo niveles crecientes de fósforo (0.35, 0.40, 0.45, 0.50, y 0.55%; base MS) a partir de una fuente con disponibilidad biológica conocida (ortofosfato 21%). El alimento (dieta completa en harina) fue preparado y ofrecido diariamente, el agua de bebida se suministrada para consumo a libre acceso, además durante la prueba el calendario de luz aplicado a las aves fue de 16 hora por día.

Se tomaron muestras de huevo producido durante el primer día de adaptación que duro 15 días entre periodos, así como el 7 (**D7**) y 14 día (**D14**) de la prueba), durante los que se determino; porcentaje de postura y peso de yema (base húmeda). El procedimiento se repitió en tres ocasiones (periodos).

La yema de huevo se deshidrato en estufa, con temperatura de 75°C durante 72 horas, hasta obtener un peso constante, posteriormente el material deshidratado se desengraso por la técnica de arrastre de solvente (Soxlet) durante una hora con éter de petróleo y éter etílico (3). Muestra de material desengrasado y cascarón se incineraron en una mufla a temperatura de 500°C durante 8 horas y a las cenizas se les determino el contenido de fósforo por medio de espectrofotometría.

En la segunda parte del experimento se evaluó la respuesta del contenido de fósforo en yema de huevo con relación a la fuente de suplementación, para lo cual se seleccionaron los niveles 0.40, 0.45, 0.50 y 0.55%. Previo al inicio de esta etapa, las aves recibieron un período de adaptación de 15 días. Las fuentes evaluadas fueron; ortofosfato 21 [(P 21%, Ca 20%) considerado con disponibilidad biológica de 100%, el cual fue utilizado como referencia en su efecto sobre el fósforo en yema], ortofosfato 18 (P 18%, Ca 13%), harina de hueso (P 12% y Ca 20%) y roca fosfórica defluorinada (Contenido máx. 0.5% de flúor).

Los análisis de laboratorio se hicieron en triplicado. A los datos obtenidos (producción, peso del huevo, peso de la yema de huevo, fósforo en yema y cascarón) se les realizó un análisis de varianza para un diseño total al azar con arreglo factorial 2 x 5 con 5 repeticiones y tres periodos por cada tratamiento. Además se estableció la posible relación existente entre el contenido de fósforo en la dieta y en la yema de huevo por medio de la regresión lineal (29).

De manera similar en la segunda etapa los datos comparativos de las fuentes de fósforo fueron sometidos a análisis de varianza como un completamente al azar y con arreglo factorial 4 x 4 con dos fechas de toma de muestra (D7 y D14) y tres periodos. Además se determino la disponibilidad biológica del mineral basándose en la variación causada, en el mineral en yema de huevo, por la fuente a evaluar con respecto al ortofosfato 21.

Cuando existieron diferencias estadísticas entre los respuesta a los niveles de fósforo y tiempo de toma de muestra, se les aplicó la prueba para promedio de Tuckey (29).

Cuadro 1. Dieta basal utilizada en la prueba de biodisponibilidad de fósforo.

Ingrediente	kg/tonelada
Sorgo	630.51
P. soya	190.00
Cartarina	50.00
H. alfalfa	20.00
Calcio polvo	51.00
Calcio en grano	22.00
Aceite crudo soya	14.00
Sal	3.50
Optivit reproductoras	2.00
Minerales	1.00
Metionina	0.98
Total	985.00
Análisis calculado	
Proteína, %	16.4
EM, Mcal/Kg	2.7
Metionina, %	3.2
Lisina, %	7.2
Calcio, %	3.0
Fósforo, %	1.6
Grasa, %	3.2
Fibra, %	4.3

Utilizando los resultados de concentración de fósforo en yema y su relación con la suplementación en la dieta y el D14 como fecha de toma de muestra, se obtuvo la siguiente ecuación:

$$\text{Fósforo en yema} = 106 + 8.76 * (\text{nivel de suplementación}).$$

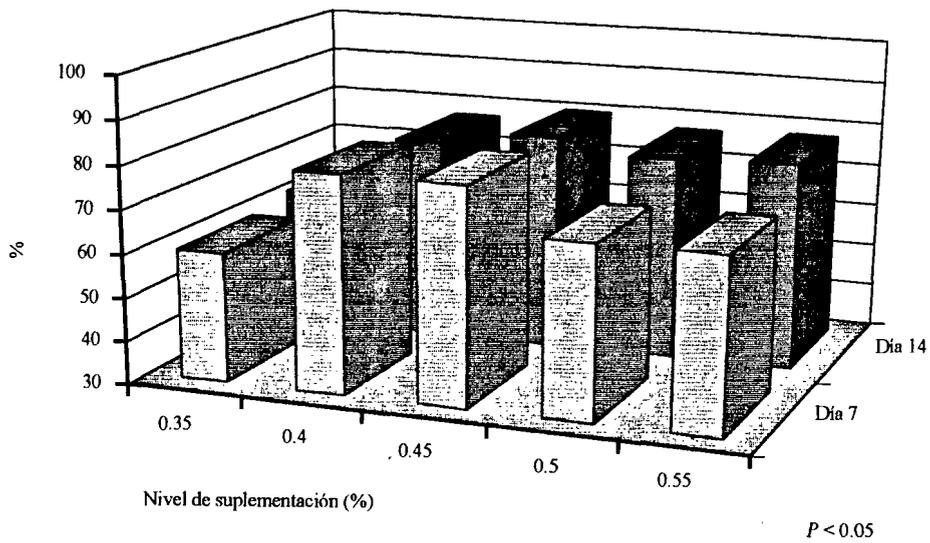
El suplementar el fósforo de la dieta con otras fuente y comparado con el ortofosfato 21, las otras fuentes del mineral tendieron a presentar alteraciones del fósforo en yema de huevo, estas con una tendencia ascendente, aunque por debajo a lo observado con el ortofostato, a excepción de la harina de hueso que resulto por encima del ortofosfato 21 (Cuadro 4). Esto se reflejo en la disponibilidad biológica (**DB**) observada (respecto al ortofosfato 21) de 110% durante D7 (Cuadro 5) y de 97% en D14 (Cuadro 6).

La concentración del mineral en yema tendió a cambiar con la fuente del fósforo, siendo más variable con la roca fosfórica con un comportamiento más errática en su respuesta, tanto al D7 como al D14 (Cuadro 7), mostrándose dicha variación en ambas fechas de toma de muestra, esto con respecto a otras fuentes. Además, la DB encontrada para fósforo proveniente de la fuente fue constante durante la toma de muestra a los 7 días comparado con los 14 (Cuadro 5 y 6).

La roca fosfórica defluorinada mostró valores de 83% para D7 y de 98.4% para D14. El ortofosfato de calcio 18 presentó una DB promedio de 86% el D7 y de 85% el D14 (Cuadro 5 y 6). La harina de hueso mostró (Cuadro 5 y 6) una DB similar (110% en D7 y 97% en D14) a la fuente de referencia.

La concentración total de fósforo en huevo fue en promedio de 156 mg, siendo afectada por la fuente de suplementación ($P < 0.05$), nivel ($P < 0.05$; Cuadro 3) de la misma y por la interacción de ambas ($P < 0.05$). El contenido de fósforo en cascarón fue en promedio de 21.92 mg, con tendencia estadística similar a la observada con el parámetro precedente ($P < 0.05$). En ambos casos, los parámetros no fueron afectado por el día de muestreo ($P > 0.05$).

Gráfica 1. Efecto del nivel de suplementación de fósforo y postura (%).



Cuadro 2. Peso de yema (g) por efecto del nivel de suplementación.

Suplementación (%)	Toma de muestra (día)	
	7	14
0.35	19.40a	20.12b
0.40	19.25a	19.90b
0.45	19.34a	19.78b
0.50	19.92b	20.06b
0.55	20.51b	20.34b

a,b.- literal diferente indica diferencia estadística ($P < 0.05$).

Cuadro 3. Efecto del nivel de suplementación y fecha de toma de muestra sobre el contenido de fósforo en huevo (mg).

	Nivel de suplementación (%)				
	0.35	0.40	0.45	0.50	0.55
Yema					
7 días	116a	129b	142c	144c	144c
14 días	119a	117a	159b	137c	136c
Cascarón	19.7a	19.6a	24.8b	23.2b	20.5a
Huevo	140.7a	139.7a	177.0b	166.0b	146.7a

a-c. por línea indica diferencia estadística ($P < 0.01$).

Cuadro 4. Concentración de fósforo en yema (mg) como respuesta a la suplementación con diferentes fuentes del mineral, tomando muestra a los 7 días.

Fuente	Nivel de suplementación (%)			
	0.40	0.45	0.50	0.55
Ortofosfato 21	127a	137a	142a	142a
Ortofosfato 18	98b	130a	117b	127ab
Harina de hueso	133a	182b	174a	117b
Roca fosfórica	111b	118a	108b	120b

a,b.- literal diferente por columna indica diferencia estadística ($P < 0.05$).

Cuadro 5. Disponibilidad biológica del fósforo (%) utilizando como parámetro de respuesta la concentración de fósforo en yema y toma de muestra a los 7 días.

Fuente	Nivel de suplementación (%)			
	0.40	0.45	0.50	0.55
Ortofosfato 21	100a	100a	100ab	100a
Ortofosfato 18	77b	95a	82a	89b
Harina de hueso	105a	133a	122b	82b
Roca fosfórica	87b	86a	76a	84b

a,b.- literal diferente por columna indica diferencia estadística ($P < 0.05$).

Cuadro 6. Disponibilidad biológica (%) del fósforo usando como respuesta la concentración de fósforo en yema y toma de muestra a los 14 días.

Fuente	Nivel de suplementación (%)			
	0.40	0.45	0.50	0.55
Ortofosfato 21	100a	100a	100a	100a
Ortofosfato 18	108a	66b	83b	83b
Harina de hueso	101a	86a	113a	86b
Roca fosfórica	107a	92a	110a	85b

a,b.- literal diferente por columna indica diferencia estadística ($P < 0.05$).

Cuadro 7. Concentración de fósforo en yema (mg) como respuesta a la suplementación con diferentes fuentes del mineral, tomando muestra a los 14 días.

Fuente	Nivel de suplementación (%)			
	0.40	0.45	0.50	0.55
Ortofosfato 21	114a	176a	133a	131a
Ortofosfato 18	123b	117b	110b	109b
Harina de hueso	115a	151a	148a	113b
Roca fosfórica	122b	162a	147a	112b

a,b.- literal diferente por columna indica diferencia estadística ($P < 0.05$).

DISCUSIÓN

La falta de efecto sobre la postura puede deberse a una posible descompensación de la relación calcio:fósforo, ya que con este nivel no se alcanzó la relación recomendada (3:1) para mantener la producción adecuada, en cambio con los otros fue poca la variación entre niveles.

La diferencia de producción entre el inicio y final del experimento mostró un aumento cuando la suplementación de fósforo fue más de 0.40%. En el trabajo de Keshavarz (20) un aumento del nivel de fósforo en la dieta por encima de 0.45% no tuvo efecto sobre la producción de huevo de pollas Babcock, reportando en promedio 71% de producción en pollas de 56 semanas de edad. Lo cual pudo haber estado relacionado con la utilización del fósforo de reserva, ya que en el ave adulta con niveles de producción como el reportado en el presente trabajo no sufren de cambios drásticos de reservas. Por otro lado, Scheideler (28) observó niveles de producción más elevados que los del presente trabajo cuando el fósforo en la ración de aves de postura era de más de 0.45% y el NRC (24) recomienda un nivel de 0.40% de fósforo para no afectar la producción de huevo.

El contenido de fósforo en yema de huevo encontrado en el presente estudio fue de 136 y 102 mg, con promedio de 119 mg. Sin embargo, Cotteril *et al.* (13) reportaron una concentración de 138 mg de fósforo en yema de huevo, cantidad 11.3% más elevada que el promedio del presente estudio.

Por otro lado, la discrepancia existente en la ecuación obtenida en las dos fechas de toma de muestra (D7 y D14) puede deberse a la variación que puede existir en el nivel de fósforo en sangre, ya que Choi *et al.* (12) mostraron la existencia de variación durante el ciclo productivo de pollas en postura. Sin embargo, en el presente experimento no se hicieron análisis de fósforo sanguíneo para apoyar tal aseveración. Además, estos autores (12) no encontraron diferencias marcadas entre los niveles 0.22 y 0.60%, sugiriendo un nivel de 0.175% como límite mínimo para no afectar el nivel del elemento en sangre y probablemente la remoción del mineral del hueso.

En este trabajo, el contenido en yema de huevo del mineral en cuestión puede ser considerado como un criterio confiable de medición en el cambio de la DB del fósforo presente en los ingredientes. Sin embargo, aun si el contenido de fósforo en yema es sensible a cambios con respecto al nivel en la dieta, se deberá reevaluar el método para su estandarización utilizando otras fuentes, tanto comparativamente con cenizas de hueso (método más difundido), así como otros parámetros utilizables como respuesta y determinación de disponibilidad.

La roca fosfórica defluorinada mostró valores de 83% para D7 y de 98.4% para D14. Estudios donde se ha utilizado la concentración de fósforo en cenizas óseas han reportado una DB de 70 a 90% para las rocas defluorinadas (1, 6, 33).

Resultando algo confuso, ya que la fuente debió tener una alta disponibilidad biológica del mineral dado que ambos tanto la fuente a probar y la de referencia eran ortofosfato que solo discrepaban en la cantidad de fósforo. Sin embargo, el resultado se conservó entre los dos tiempos de toma de muestra, lo que ratifica la utilidad del método de evaluación. Se ha reportado hasta un 100% de DB para esta fuente de mineral (33).

La harina de hueso mostró una DB similar (110% en D7 y 97% en D14) a la fuente de referencia. López (22) reportó para la harina de hueso una disponibilidad biológica de 80-90% con respecto a un ortofosfato de calcio puro, otros (32, 33, 34) consideraron un 90-100% y Ávila (4) un 96%. Resultados que son similares a los encontrados con la fuente evaluada en el presente experimento y tomando con parámetro de respuesta el contenido de fósforo en yema de huevo y sus variaciones con respecto a el nivel de suplementación del mineral en la dieta.

Por lo antes encontrado y en base a los valores de disponibilidad biológica encontrados utilizando otros criterios de respuesta, se puede concluir que el método propuesto en el presente trabajo puede ser recomendado para evaluar las fuentes de mineral utilizadas en nutrición animal. Sin embargo, se deben correr más pruebas para obtener una base de datos que validen bajo otras condiciones el método.

CONCLUSIONES

1. El contenido de fósforo en yema de huevo varió en forma ascendente con el nivel de suplementación.
2. El día de toma de muestra tuvo influencia en el criterio de respuesta considerado en este trabajo.
3. La medición del fósforo en yema de huevo reviste posibilidades para su estandarización como método de biodisponibilidad mineral.
4. Se hace necesario el comprobar el método utilizando otras fuentes de fósforo con la finalidad de comprobar su funcionalidad y adaptabilidad.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Akpe, M.P., Waibel, P.E., Lsrntz, K., Metz, A.L., Noll, S.L., y M.M. Walser. 1987. Phosphorus availability bioassay using bone ash and bone densitometry as response criteria. *Poult. Sci.* 66:713-720.
- 2 Antillon, R.A. 1988. Fisiopatología de la eficiencia del fósforo en las aves. Primer simposio; "El fósforo en la nutrición animal". México, D.F. pp 57-65.
- 3 Association of Official Agriculture Chemists. 1990. Official methods of analysis. 15ava. edición. AOAC. Washington, DC., U.S.A.
- 4 Ávila, E. 1988. Biodisponibilidad del fósforo en fuentes inorgánicas para aves. Primer simposio: "El fósforo en la nutrición animal". México, D.F. pp 129-137.
- 5 Borrego, A. 1988. El fósforo y su disponibilidad biológica. *Sintesis avicola.* 12:10-13.
- 6 Buenrostro, S.J.L., Nad F., y H. Kratzer. 1984. Use of plasma and egg yolk biotin of white leghorn hens to assess biotin availability from feedstuffs. *Poult. Sci.* 63:1563-1570.
- 7 Burnell, T.W., Cromwell, G.L. y T.S. Stahly. 1988. Bioavailability of phosphorus in high-protein feedstuffs for pigs. *J. Anim. Sci.* 66:317. (Resumen).
- 8 Casarin, V.A. 1988. El fósforo en la alimentación de cerdos. Primer simposio "El fósforo en la nutrición animal". México. pp 44-48.
- 9 Castellanos, R.F., Moguel, O.Y. y C.J.G. Canton. 1997. Predicción de la biodisponibilidad de las fuentes fosforadas mediante la tecnica de solubilidad cítrica del fósforo. *Tec. Pec. Méx.* 35 (1) 39-46.
- 10 Coffey, R.D., Mooney K.W., Cromwell G.L. y D.K. Aaron. 1994. Biological availability of phosphorus in defluorinated phosphates with different phosphorus solubilities in neutral ammonium citrate for chicks and pigs. *J. Anim. Sci.* 72:2653-2660.

- 11 Coffey, R.D. y G.L. Cromwell. 1995. Bioavailability of phosphorus of cereal grains by chick bioassays. *Poult. Sci.* 74 (Suppl. 1): 87. (Resumen).
- 12 Choi, J.H., Millers, R.D., y R.H. Harms. 1979. The phosphorus excretion pattern and balance during an egg, cycle of the laying hen feed a phosphorus deficient diets with or without a single dose of phosphoric acid. *Poult. Sci.* 58:153-154.
- 13 Cotterill, D.J., Marion, W.W., y E.C. Naber. 1977. A nutrient re-evaluation of shell eggs. *Poult. Sci.* 56:1927-1934.
- 14 Dale, N. 1997. Tres perspectiva sobre el fósforo. *Ind. Avicola.* 44: 36-42.
- 15 Dallaert, B.M., van der Peer G.F.U., Jongbloed A.W. y S. Beer. 1990. A comparison of different techniques to assess the biological availability of feed phosphorus in pig feeding. *Neth. J. Agric. Sci.* 58: 555-559.
- 16 De Groote, G. 1986. Biological availability of phosphorus feed phosphates for broiler. *Zootecnica Int.* pp 46-50.
- 17 Escamilla, G.T. 1988. La importancia del fósforo como nutrimento. Primer simposio "El fósforo en la nutrición animal". México. pp 23-25.
- 18 Grimberger, A.H.M., Cornelisses J.P. y H.P. Stappers. 1985. The relative availability of phosphorus in inorganic feed phosphates for young turkeys and pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 33:117-130.
- 19 International mineral and chemical corporation. 1973. Calcium and phosphorus in animal nutrition. Reporte.
- 20 Kechavarz, K. 1986. Effect of dietary level of calcium and phosphorus on performance and retention of these nutrients by laying hens. *Poult. Sci.* 65:114-121.
- 21 Latshaw, J.D. 1975. Natural and selenite, selenium in the hen and egg. *J. Nutr.* 105:32-33.
- 22 López, C.C. 1988. El fósforo en la formulación para aves. Primer simposio "El fósforo en la nutrición animal". México. pp 50-56.

- 23 Miller, E.R., Harms R.H. y H.R. Wilson. 1977. Cyclic changes in serum phosphorus of laying hens. *Poult. Sci.* 56:586-589.
- 24 National Research Council (NRC). 1994. Nutrient requirement of domestic animals. 1. Nutrient requirement of poultry. 9th Rev. Ed. Natl. Acad. Sci. Washington, D.C.
- 25 Potchanakor, M., y L.M. Potter. 1987. Biological values of phosphorus from various source for young turkeys. *Poult. Sci.* 66:505-513.
- 26 Ravidran, V., Kornegar E.T., L.M. Potter, Ogunabameru B.O., Wilson J.H. Y m. Potchanacor. 1995. An evaluation of various response criteria in assessing biological availability of phosphorus for broilers. *Poult. Sci.* 74:1820-1830.
- 27 Rouch, W.B., Mylet, M., Rosemberger, J.L., y J. Deer. 1986. Investigation of calcium and available phosphorus requirements for laying hens by response surface methods. *Poult. Sci.* 65:964-970.
- 28 Scheideler, S.E., y J.L. Sell. 1986. Effects of calcium and phase feeding phosphorus on production traits and phosphorus retention in two strains of laying hens. *Poult. Sci.* 65:2110-2119.
- 29 Steel y Torrie. 1985. *Bioestadística; principios y procedimientos*. Edit. Mc. Graw-Hill. Primera Edición. México.
- 30 Steins, B.S.C., Ort, J.F., y J.CH. Shir. 1987. Composition and phosphorus bioavailability of a solid byproduct from anaerobically digested wastes from caged layer hens. *Poult. Sci.* 66:634-639.
- 31 Strong Jr., Ch.F., y K.E. Nestor. 1978. Changes in the plasma contents of calcium, phosphorus and yolk lipoprotein precursors during production season in turkeys. *Poult. Sci.* 57:1710-1719.
- 32 Sullivan, T.W., Douglas J.H., Gonzalez N.J. y P.L. Bond Jr. 1992. Correlation of biological value of feed phosphates with their solubility in water, dilute hydrogen chloride, dilute citric acid and neutral ammonium citrate. *Poult. Sci.* 71: 2065-2074.

- 33 Sullivan, T.W., Douglas J.H., Lapjatupon W, Struwe F.J. y N.J. Gonzalez. 1994. Biological value of bone-precipitated dicalcium phosphate in turkey starter diet. *Poult. Sci.* 73: 122-128.
- 34 Tejada I. 1988. Diferentes pruebas para determinar fósforo soluble en las fuentes comunes en México y su interpretación. Primer simposio "El fósforo en la nutrición animal". México. pp 114-128.
- 35 Wilson, J.H. 1991. Bone strength of caged layers as affected by dietary calcium and phosphorus concentration, reconditioning and ash content. *Br. Poult. Sci.* 32: 501-505.
- 36 Wittke, J.M. y F.N. Owens. 1983. Phosphorus ruminal availability and effect on digestion. *J. Anim. Sci.* 54:930-937.
- 37 Yi, Z., Kornegay E.T., Ravindram V., Lindemann M.D. y J.H. Wilson. 1996. Effectiveness of Natuphos phytase in improving the bioavailability of phosphorus and other nutrients in soybean meal-based semipurified for young pigs. *J. Anim. Sci.* 74: 701-709.