

Artigo Número 83
SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DE FITASE EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE

Guilherme Rodrigues Lelis*¹, Luiz Fernando Teixeira Albino², Fernando de Castro Tavernari¹, Horácio Santiago Rostagno²

INTRODUÇÃO

Em virtude da alta velocidade de ganho de peso e da precocidade dos frangos de corte, é essencial a utilização de aditivos alimentares que permitam aos animais obterem desempenho cada vez melhor.

Na nutrição de aves a utilização de enzimas tem contribuído para a melhoria da produtividade. As aves não sintetizam ou não produzem em quantidades suficientes certas enzimas utilizadas para a digestão dos vários componentes químicos encontrados nos alimentos de origem vegetal ou para atuarem em alguns processos antinutricionais, como o fósforo fítico. O uso da enzima fitase exógena para monogástricos tem sido muito preconizado devido sua habilidade em hidrolisar o fósforo fítico que é pouco utilizado por estes animais, Perney et al. (1993).

No Brasil, as rações para frangos de corte são formuladas, principalmente, à base de milho e de farelo de soja, que representam cerca de 90% da dieta, contribuindo substancialmente para satisfazer as necessidades em energia e proteínas de acordo com as tabelas de exigências e as recomendações dos manuais das linhagens existentes no mercado.

O uso de enzimas nas rações das aves e de outros animais domésticos, melhora a digestibilidade e a disponibilidade de certos nutrientes, principalmente o fósforo, o nitrogênio, o cálcio, o cobre e o zinco, diminuindo sua presença nas fezes e, conseqüentemente, o seu potencial de poluente do meio ambiente (Revista Alimentação Animal, 2002). A maior preocupação ocorre com o fósforo dos ingredientes vegetais, que por estar ligado ao ácido fítico na forma de fitato é pouco disponível aos animais monogástricos, pois estes não dispõem de quantidades suficientes da enzima fitase para aproveitá-lo, onde somente cerca de um terço do fósforo total destes alimentos estão disponíveis para aves. A lixiviação do fósforo a partir de excretas de aves e de outros animais domésticos para a água de superfície e para os lençóis freáticos é um grave problema de poluição ambiental que pode ser minimizado com o uso de uma enzima fitase exógena.

Nas últimas décadas, várias pesquisas foram realizadas com a finalidade de reduzir o período de abate dos frangos de corte. Em 1954, era preciso 4 kg de ração para a ave produzir 1 kg de carne num período de 80 dias. Hoje, 1 kg de carne é obtido em 25 dias, com uma conversão alimentar de 1,6.

Com a ajuda de bactérias e fungos, a biotecnologia tem produzido uma grande quantidade de enzimas que podem degradar várias formas de amido, açúcares, proteínas, fósforo e celulose para uma absorção mais rápida no trato digestivo.

Vários preparados enzimáticos têm sido utilizados para solucionar problemas digestivos, onde seu benefício terapêutico é muito reconhecido. Contudo, os novos avanços na biotecnologia propiciam a produção eficiente de algumas enzimas como fitase, b-glucanase e pentosanase (Sears & Walsh, 1993).

*Autor para correspondência: grlelis@yahoo.com.br

¹ Pós-graduação em Zootecnia – Universidade Federal de Viçosa

² Professor Titular do departamento de Zootecnia - Universidade Federal de Viçosa

A fitase pode muito bem ser considerada a enzima milagrosa dos anos 90, assim como a soja foi descrita como a lavoura milagrosa por produzir proteína vegetal de alta qualidade nos anos 40. Esta é uma ideia facilmente compartilhada por quem se atém a ler os trabalhos publicados nos últimos 10 anos e que tratam do uso da fitase e da sua aplicação na nutrição animal (Dari, 2004).

2 - A ENZIMA FITASE

As plantas, para o seu desenvolvimento normal, retiram seus nutrientes do solo, ocorrendo na fase de maturação do grão a translocação desses elementos para as sementes e, no caso do fósforo como fósforo (P) fítico (Munaro, 1996a).

De acordo com Lenhninger (1984), P fítico é a denominação dada ao P que faz parte da molécula do ácido fítico ou hexafosfato de inositol, o qual é encontrado somente nos vegetais. Entretanto, devido à inespecificidade da molécula do ácido fítico, numerosos hexafosfatos de inositol podem ser encontrados na natureza, resultando em grande variedade de compostos (Munaro, 1996b). Dessa forma, os sais de ácido fítico, também chamados de fitina e de fitato são considerados como fatores antinutricionais por formarem complexos insolúveis no trato digestório e afetarem a disponibilidade de cátions (Sohail & Roland, 1999), de carboidratos, de aminoácidos (Sebastian et al. 1996), e de enzimas como a tripsina e a quimiotripsina.

As enzimas são proteínas que catalisam reações químicas nos sistemas biológicos, ou seja, participam de reações de síntese e de degradação do metabolismo animal, sem serem elas próprias alteradas neste processo (Champe & Harvey, 1989). Sua atividade é específica para determinadas reações e substratos, sendo que as enzimas digestivas possuem um sítio ativo que permite que elas atuem sobre determinada ligação química sob condições favoráveis de temperatura, umidade e pH (Penz Júnior, 1998).

A fitase é uma fosfatase que catalisa o desdobramento do ácido fosfórico do inositol liberando deste modo, o ortofosfato para ser absorvido. Segundo o Conselho Brasileiro de Alimentação Animal – CBAA (1998), a fitase pertence à classe dos pró-nutrientes, atuando na liberação de ortofosfatos inorgânicos da molécula de mio-inositol, sendo a sua atividade expressa em FTU ou U/Kg, que corresponde a quantidade de enzima necessária para liberar um micromol de P inorgânico em um minuto num substrato de sódio fitato, a temperatura de 37° C e pH 5,5.

As fitases são naturalmente encontradas em vários tipos de sementes e em fontes microbianas (Viveiros et al., 2002). Nelson et al. (1968) foram os primeiros a utilizar a fitase produzida por culturas do fungo *Aspergillus ficum*, em dietas de frangos de corte, obtendo resultados que indicavam os benefícios desta enzima sobre a hidrólise do P fítico. Apesar disso, somente no final da década de 80, a fitase atingiu escala de produção industrial, sendo atualmente produzida por diversas empresas por meio de técnicas de recombinação de DNA (Conte et al., 2002).

Desde então, pelo fato da fitase endógena apresentar baixa atividade no trato digestório dos animais monogástricos (Pallauf, 1994), a suplementação da dieta com fontes microbianas desta enzima tem se mostrado um método eficaz para aumentar a hidrólise do fitato e conseqüentemente, melhorar o desempenho das aves (Tejedor et al., 2001, Ravindran et al., 2001, Lan et al., 2002 hidrolisam, Viveiros et al., 2002).

As fosfatases são enzimas amplamente distribuídas na natureza que ésteres fosfatos. A fitase, ou mio-inositol-hexafosfato fosfohidrolase, é uma fosfatase fitato específica que catalisa a hidrólise do ácido fítico, ou mioinositol hexafosfato, formando inositol e fosfatos. O ácido fítico é a principal forma de armazenamento de fósforo em sementes e pólen (Reddy et al., 1982). Em virtude da habilidade de formar complexos insolúveis com importantes minerais como Cálcio, Zinco e Manganês e também com proteínas, o ácido fítico é considerado um constituinte antinutricional, que reduz a biodisponibilidade desses minerais (Maga, 1982). Assim, o uso da fitase seria uma

alternativa para aumentar o valor nutricional de muitos alimentos vegetais (Segueilha et al., 1992).

A fitase foi uma das primeiras enzimas descritas com capacidade de liberar o fosfato inorgânico a partir de fosfato orgânico, ou seja, hidrolisar o ácido fítico em inositol e ácido fosfórico. A distribuição de fitase é ampla em vegetais, tecidos animais e em numerosos tipos de microrganismos (Maga, 1982; Reddy et al., 1982). Segundo Houde et al. (1990), a função fisiológica da fitase em sementes, provavelmente, está relacionada com a liberação do fósforo inorgânico a partir do fitato, e a maior proporção do P inorgânico hidrolisado é incorporada aos ácidos nucleicos. Além disso, esses autores mencionam que a fitase é responsável pela degradação do fitato e que pode estar relacionada a várias reações celulares com liberação de energia, com relevante função na germinação de sementes, e que o aumento na atividade dessa enzima ocasiona decréscimo no teor de fitatos.

Animais monogástricos, como aves, suínos e o próprio homem, ao consumirem cereais que contêm fosfato na forma de P fítico, não o utilizam por causa da baixa atividade ou ausência de atividade de fitase intestinal (Wodzinski & Ullah, 1996). Tentativas de hidrólise enzimática do ácido fítico foram realizadas a fim de melhorar o valor nutricional dos alimentos e reduzir a quantidade de P excretado pelos animais, diminuindo, assim, os problemas de poluição com P em áreas de criação intensiva (Simons et al., 1990). Outros processos, como hidratação, moagem, fermentação, tratamento térmico e germinação de sementes, também foram utilizados para redução do fitato (Reddy et al., 1982). Desta forma, a fim de melhorar a redução de fitato durante o processamento de alimentos, fitases exógenas poderiam ser adicionadas ou fitases endógenas poderiam ser ativadas. Greiner et al. (1998) descreveram que o isolamento e a caracterização de fitase, a partir de fontes microbianas ou vegetais, podem contribuir na obtenção de fitases efetivas com a finalidade de aplicação no processamento de alimentos.

MECANISMOS DE AÇÃO DA ENZIMA

Enzimas são proteínas que catalisam as reações químicas nos sistemas biológicos, podendo conter outras substâncias tais como vitaminas e minerais. As enzimas estão envolvidas em todo o processo metabólico do organismo animal. Aquelas comercialmente encontradas são produzidas a partir de bactérias do gênero *Bacillus sp* ou fungos do gênero *Aspergillus sp*. No trato digestivo, a enzima adicionada à ração é ativada quando se mistura aos fluidos digestivos e sob a temperatura do organismo (Rotter, 1990).

As pesquisas e trabalhos publicados mostram que as enzimas alimentares atuam principalmente em quatro áreas específicas:

Efeitos dos Fatores Antinutricionais

Os fatores antinutricionais são componentes comuns encontrados nas matérias-primas alimentícias, como por exemplo, os componentes da parede celular dos grãos da cevada (beta-glucanos e arabinoxilanos). Estes componentes são responsáveis, pela redução do crescimento, piora da conversão alimentar, alterações hormonais e esporádicas lesões de órgãos. Quando estão na forma solúvel, aumentam a viscosidade da digesta, alterando a motilidade digestiva e interferindo na absorção dos nutrientes, o que favorece o aparecimento de excretas úmidas e pegajosas (camas molhadas), sendo uma causa dos baixos rendimentos das aves.

A atividade enzimática específica para estas frações de polissacarídeos pode ser adicionada às dietas, melhorando a qualidade nutricional dos grãos de cereais, como a cevada, trigo, aveia, centeio e triticale.

Digestibilidade dos Nutrientes dos Alimentos

Os animais não retêm todos os nutrientes dos alimentos consumidos, devido à própria disponibilidade destes no alimento e a própria capacidade do trato digestivo do animal. Uma menor digestibilidade das matérias-primas é, a princípio, o resultado da falta de enzimas endógenas para extrair os nutrientes dos ingredientes alimentícios. Como os monogástricos não possuem um complexo enzimático para digerir muita destas frações de polissacarídeos não amiláceos, a suplementação de enzimas pode melhorar a ação das enzimas endógenas sobre os ingredientes, melhorando o seu valor nutricional e o desempenho das aves. Um exemplo disto é o uso da fitase para remover o ácido fítico, unido ao P dos vegetais, tornando este mais disponível para aproveitamento dos animais. Esta aplicação tem recebido considerável atenção nos últimos anos devido à redução do P fecal e, portanto, um menor impacto ambiental dos dejetos dos animais.

Digestibilidade dos Polissacarídeos Não Amiláceos

O termo polissacarídeos não amiláceos é usado freqüentemente para se referir às fibras. Os animais monogástricos, em geral, não possuem a capacidade endógena de digerir as fibras. A utilização de enzimas exógenas se torna importante, pois estas hidrolisam os polissacarídeos não amiláceos que podem ser potencialmente utilizados pelo animal, aumentando, por exemplo, a utilização de energia. Outra consequência importante desta utilização é a redução do impacto negativo destes resíduos não digestivos sobre a viscosidade da digesta. Na aveia e na cevada, os polissacarídeos não amiláceos predominantes são os beta-glucanos, enquanto no trigo e arroz, os arabinoxilanos predominam. Portanto, as enzimas específicas para a cevada contêm o princípio ativo beta glucanase, enquanto aquelas destinadas a aumentar a digestibilidade do trigo devem conter xilanase e arabinoxilinalase.

Produção de Enzimas Endógenas

A produção de enzimas endógenas pelos animais é normalmente adequada. Todavia, a capacidade digestiva para a produção destas nos animais monogástricos pode variar com a idade e pode ser inadequada para aves e suínos jovens quando comparada aos animais adultos. Portanto, a suplementação das enzimas para estes animais estimula a produção de certas enzimas endógenas, importantes para melhorar a digestibilidade dos nutrientes, além de favorecer a utilização dos chamados ingredientes alternativos, os quais possuem restrições nas formulações de rações destinadas às fases iniciais.

FÓSFORO

O P é um dos minerais presentes em maior proporção no organismo. Juntamente com o cálcio são responsáveis pela mineralização da matriz óssea (Mcdowell, 1992). O P está envolvido nas funções de crescimento e diferenciação celular, é um dos componentes dos ácidos nucléicos –DNA e RNA–, está associado com lipídeos para a formação dos fosfolipídeos, principais componentes das membranas plasmáticas, é considerado um tampão e visa a manutenção do equilíbrio ácido-básico e osmótico (González & Silva, 2003; Andriquetto et al., 1990).

A deficiência de P é conhecida nas mais diversas regiões do mundo e atinge diversas espécies animais. É amplamente estudado como componente obrigatório na dieta para todas as espécies de produção, porém, merece atenção especial os bovinos, as aves e os suínos. A busca pela produtividade nestas espécies força o balanceamento das dietas (Barcellos et al., 1998).

O P e o cálcio dietéticos estão associados no metabolismo para a absorção, sendo preconizada uma relação de 2:1 (cálcio: fósforo) para a otimização na taxa de absorção. O desbalanço em um destes, que afeta esta relação, pode interferir no processo de homeostase de ambos componentes (Andrighetto et al., 1990).

Metabolismo do Fósforo

Absorção

O P é disponibilizado aos animais na forma de mono, di e trifosfato inorgânico. Aparece na forma orgânica como fitato, fosfolipídeos e fosfoproteínas. Pela ação do suco gástrico atingem o intestino delgado (ID) onde é realizada a absorção (Barcellos et al., 1998). A absorção do P dietético é de 60 a 70 % e é realizada por um sistema de contra transporte ativo utilizando sódio ou simplesmente por um processo passivo de difusão (Rosol & Capen, 1997).

O processo de absorção ocorre na sua maior parte na porção cranial do duodeno tanto em ruminantes como em não ruminantes. (Rosol & Capen, 1997).

Experimentos realizados por Barcellos et al. (1998), revelam que no processo de absorção do P no TGI há interação entre o nível de P ingerido na dieta. Quando há menor consumo observam-se menores taxas de absorção. À medida que aumenta o consumo até alcançar as exigências é verificada uma resposta linear de absorção. Quando os níveis sanguíneos estão deprimidos no organismo recorre a capacidade de reabsorção do P que seria excretado na urina. Neste processo alguns hormônios estão envolvidos e são de extrema importância para manter a homeostase do P.

Dietas com baixo P ocasionam alterações no metabolismo que permitem a secreção de substâncias que promovem a otimização da absorção do P intestinal. A vitamina D é uma das substâncias responsáveis e aumenta a absorção do P no intestino. Além da ação intestinal também proporciona a reabsorção do P nos túbulos renais como forma de adaptação à escassez de P dietético. No entanto, a absorção não depende somente da presença na dieta, e sim da disponibilidade do P ingerido (Rosol & Capen, 1997). Fontes inorgânicas de P como farinha de ossos e carne têm alta disponibilidade.

Grande parte do P absorvido é dirigida para depósito nos ossos e alguns tecidos moles. Os depósitos ósseos ocorrem cerca de 48-72 horas e é maior em animais jovens. Com o avanço da idade diminui a velocidade de mineralização.

Controle do metabolismo do fósforo

O controle do metabolismo do fósforo está associado ao do Cálcio (Ca). Existe uma relação que deve ser mantida para a integridade da homeostase destes dois elementos. No processo de equilíbrio, das concentrações plasmáticas de Ca e P, três substâncias estão envolvidas com grande importância no controle do metabolismo: a vitamina D, o parathormônio (PTH) e a calcitonina.

Vitamina D

A vitamina D está relacionada com a absorção de Ca e P na luz intestinal, promovendo a síntese de uma proteína carreadora de Ca. Atua juntamente sobre a paratireóide estimulando a liberação do PTH. As baixas concentrações de P 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 P do lúmen intestinal. A ação sobre os ossos promove a mobilização de Ca e P pela ativação dos osteoclastos. Atua também sobre os rins aumentando a reabsorção de Ca e P (Mcdowell, 1992).

PTH

A secreção do PTH promove a desmineralização óssea aumentando os níveis de fosfato no sangue. Atua sobre os rins diminuindo a excreção de fósforo e estimula a síntese de Vitamina D ativa através da ativação da 1-alfa-hidroxilase renal. No metabolismo do PTH é sensível aos níveis de Cálcio ou a alterações na relação de Ca/P quando estas ficam reduzidas (Mcdowell, 1992).

Calcitonina

A calcitonina possui efeito oposto ao PTH. Dessa forma, estimula a deposição de Ca e P nos ossos. O estímulo para sua secreção é dado quando os níveis de Ca e P estão elevados no sangue. As interações entre a secreção das três substâncias permitem a homeostase dos níveis séricos de P quando o fornecimento dietético de Ca e P estão em níveis próximos aos do requerimento. Alterações bruscas na dieta por longos períodos podem desencadear processos patológicos graves e em alguns casos mais brandos com perdas de produção discreta (Mcdowell, 1992).

FITATO

O fitato representa cerca de 50 a 80% do P total presente na maioria dos alimentos de origem vegetal (Harland & Morris, 1995). Nas sementes e nos grãos de cereais, o fitato é a principal forma de armazenamento do P, mio-inositol e de íons metálicos (Oh, 2004).

O ácido fítico é uma forma orgânica do P, ele é constituído de uma molécula de mio-inositol e de seis moléculas de P, cuja fórmula molecular é o $C_6H_{18}O_{24}P_6$, de massa molecular da ordem de 659.86 daltons.

Dependendo do pH, os grupamentos fosfatos (seis) presentes na molécula de fitato atuam como agente quelante forte dos íons metálicos cálcio, magnésio, cobalto, manganês, zinco, etc, impedindo que esses íons metálicos, essenciais aos animais e presentes na dieta habitual, sejam absorvidos pelos monogástricos e humanos (Lei et al., 1993). Devido a essas propriedades e ao fato de que os animais monogástricos possuem baixo nível de fitase intestinal, o fitato presente nos constituintes da dieta de não-ruminantes, tem sido considerado como um fator antinutricional (Cherry & Fidantsef 2003; Kristensen et al., 2006).

Além de o fitato interagir com os minerais essenciais, formando uma grande variedade de sais insolúveis (complexos), o fitato também reduz a digestibilidade de proteínas, carboidratos e lipídeos, formando complexos fitato-proteína/aminoácido ou fitato-mineral-proteína os quais são menos solúveis e mais resistentes à proteólise. Em pH ácido ou neutro, as cargas negativas da molécula de ácido fítico, reagem com as cargas positivas de alguns aminoácidos, tais como lisina, arginina, histidina, das moléculas de proteínas, incluindo as enzimas envolvidas na digestão de proteínas, diminuindo a disponibilidade dos aminoácidos (Cowieson et al., 2006; Ravindran et al., 1999; Kornegay et al., 1996; Ravindran & Bryden, 1999).

Tem sido demonstrado ainda que o fitato pode afetar a digestibilidade do amido interagindo com a amilase (Thompson & Yoon, 1984). As enzimas amilase, tripsina, fosfatase ácida, e tirosinase também são inibidas pelo inositol pentafofato (Harland & Morris, 1995). Nesse sentido, ele influencia negativamente a digestão de nutrientes, diminuindo a energia metabolizável da ração. A diminuição no aproveitamento de nutrientes resulta em diminuição do crescimento, hipoglicemia e/ou danos aos tecidos animais (Laurentiz, 2005).

Na busca de alternativas para melhorar o valor nutricional dos alimentos, o uso de enzimas exógena na alimentação dos monogástricos e sua possível aplicação na nutrição humana têm despertado o interesse de vários pesquisadores nos últimos anos.

As enzimas, em geral, são utilizadas na alimentação animal com a finalidade de complementar as enzimas que são produzidas pelo próprio animal em quantidades

insuficientes (amilases, lipases e proteases) e fornecer enzimas que eles não conseguem sintetizar (celulases, fitase). Logo, a utilização de enzimas exógena seria, portanto, uma alternativa para reduzir os efeitos de fatores antinutricionais tais como o ácido fítico (Greiner & Konietzny 1999; Oh, 2004), além de ser uma forma econômica e segura para melhorar a digestão do inositol hexafosfato presente na dieta de aves, suínos e de outros monogástricos. A adição de enzimas exógena na alimentação dos monogástricos vem sendo recomendada como uma forma de reduzir ou substituir o uso de P inorgânico, evitando assim o consumo de reservas não renováveis do planeta (Abelson, 1999; Cho et al., 2006). Além disso, a adição de fitases à alimentação reduz a excreção do fosfato inorgânico e do ácido fítico, que não é hidrolisado no aparelho digestivo dos animais monogástricos, os quais vêm sendo considerados um poluente ambiental (Abelson, 1999; Cho et al., 2006; Boyce & Walsh, 2006). Nesse sentido, o uso de excreta proveniente da avicultura e da suinocultura, como adubo, pode resultar poluição do solo, dos rios e dos mares, ou ainda como poluente de recursos hídricos (Abelson, 1999; Cho et al., 2006; Boyce & Walsh, 2006; Takizawa, 1998). Recentemente, o uso desenfreado de fontes não renováveis de fosfato e a sua atuação como poluente ambiental vem sendo denominado de "crise do fosfato do planeta" por Abelson, (1999). Cálculos recentes mostram que se a poluição fosse interrompida imediatamente a recuperação dos sistemas aquíferos contaminados levaria mais de cem anos para ser alcançado (Carpenter, 2005).

Seu uso como aditivos em nutrição animal de monogástricos requer que a enzima apresente uma série de propriedades cinéticas, tais como pH ótimo, estabilidade térmica, temperatura ótima de atuação, dentre outras.

Durante o processo de fabricação da ração, geralmente os ingredientes da ração a ser fornecida aos suínos ou aves são processados entre 65-80°C, na presença de vapor. Nesse sentido uma fitase ideal deveria ser resistente a inativação térmica e ao vapor utilizado nesse processo, embora a adição da enzima possa ser realizada com o auxílio de spray, quando a enzima não é resistente aos referidos tratamentos (Oh., 2004; Selle, 2000).

A enzima também deve ser resistente às condições do aparelho digestório dos animais monogástricos e apresentar uma alta eficiência catalítica durante o processo de digestão. Além disso, a enzima deve ser estável durante o período de armazenamento e de preferência ser estável à temperatura ambiente a fim de ser transportada sem a necessidade de refrigeração.

FITASES E O FÓSFORO NO MEIO AMBIENTE

O P que é excretado por estes animais é proveniente de três vias, o P da dieta que estava na forma inorgânica e não foi absorvido, o P endógeno proveniente do metabolismo e lise celular e o P do ácido fítico que não foi disponibilizado no TGI.

Dessa forma todos estes resíduos são excretados pelas fezes e podem contaminar os meios aquáticos através da lixiviação. No meio ambiente o P que estava na forma de fitato é disponibilizado através da microbiota presente na terra. Assim o P pode contaminar meios aquáticos e será responsável pelo crescimento exacerbado de algas. Este processo é conhecido como eutrofização dos meios aquáticos. Isto provoca um crescimento exagerado de matéria orgânica que ao sofrer degradação provoca um aumento muito grande na DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) que será necessário para oxidar toda matéria presente na água. De fato, a DBO elevada diminui o oxigênio presente na água causando alterações no meio, como por exemplo; a morte de peixes.

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DA ENZIMA FITASE NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

Trabalhos recentes têm demonstrado respostas positivas quanto à digestibilidade de nutrientes e desempenho de aves e de suínos alimentados com rações a base de milho e soja quando suplementadas por enzimas exógenas (Ravindran et al., 1999).

Em um ensaio de digestibilidade utilizando dietas semipurificadas Ravindran et al. (1999) observaram melhora significativa na digestibilidade ileal de proteína e aminoácidos em diferentes ingredientes pela adição de fitase. Segundo os autores, os ingredientes que naturalmente apresentavam baixa digestibilidade ileal demonstravam melhores respostas à adição da fitase. As respostas à adição de fitase são influenciadas não somente pela quantidade de P fítico, mas também pelas propriedades químicas e estruturais dos complexos formados entre o fitato e proteínas.

A partir do momento em que a fitase aumenta a hidrólise do ácido fítico, é de se esperar que a digestibilidade de certos nutrientes também aumente. Trabalhos publicados sobre o uso de fitase em rações de frangos de corte têm mostrado efeitos positivos de aproximadamente 2%, com a suplementação de fitase (1200 U/Kg) sobre a digestibilidade da proteína e de aminoácidos totais, e de 2,3% sobre a energia metabolizável (Namkung & Leeson, 1999). Resultados semelhantes foram obtidos por Rostagno et al. (2000), com aumento de 2,4 e 3,9% sobre a digestibilidade ileal da proteína bruta e da energia, respectivamente, em frangos alimentados com rações a base de milho e de farelo de soja, suplementadas com fitase.

Konergay (1996) e Sebastian et al. (1997) observaram em seus estudos as melhorias na digestibilidade de proteína e aminoácidos com a adição de fitase microbiana em 1,8 a 4,3%. De acordo com os autores, o fitato presente nos alimentos inibe a ação de enzimas digestivas e ao adicionar a fitase para quebrar o complexo do P fítico, diminui-se a ação do fitato sobre estas enzimas aumentando a digestibilidade.

Utilizando dois níveis distintos de fitase, sendo 500 FTU/kg de dieta e 750 FTU/kg de dieta, Tejedor et al. (2001) comprovaram que a adição de ambos os níveis incrementaram os coeficientes de digestibilidade de proteína bruta em 1,0 e 1,7%, de energia bruta em 1,0 e 1,2%, de cálcio em 3,5 e 5,0% e de P em 3,5 e 4,0% respectivamente para os níveis de fitase 500 e 750 FTU/kg de dieta.

Os mecanismos que descrevem os efeitos da enzima sobre a utilização de energia são desconhecidos. Sabe-se que a melhora na digestibilidade das proteínas é, em parte, responsável pelo aumento da energia disponível. Porém, dados de Ravindran et al. (2000) mostraram que a fitase promove aumento na utilização de energia independente dos efeitos sobre a digestão de aminoácidos. Isso ocorre pelo fato de que no trato digestório, os minerais complexados com o ácido fítico formam juntamente com os lipídeos, reações de saponificação, prejudicando desta forma a utilização de lipídeos. A enzima fitase neste caso age liberando o complexo fitato-mineral e impedindo a formação destes sabões metálicos, o que possibilita melhor utilização da energia derivada dos lipídeos.

Lan et al. (2002) ao avaliarem os valores de energia metabolizável de rações à base de milho e de farelo de soja observaram que a adição da fitase microbiana nos níveis de 250 e 500 U/kg em rações com baixo nível de P proporcionou valores de energia metabolizável aparente (EMA) superiores aos encontrados em uma ração com nível normal de P e sem suplementação enzimática. Um incremento na utilização da EMA corrigida para nitrogênio também foi observado por Farrel et al. (1993).

Buscando avaliar o efeito de diferentes fitases em rações baseadas em milho e farelo de soja, com duas diferentes relações Ca:Pd (normal e baixo), sobre o desempenho de frangos de corte, no período de 10 a 24 dias de idade, Tejedor et al. (2001) verificaram efeito positivo da adição das fitases sobre os parâmetros ganho de

peso (+ 3,4 e + 2,8%, fitase 1 e 2, respectivamente) e sobre a conversão alimentar (+ 3,0%, para ambas as fitases), independente do nível de Ca: P avaliado.

Sebastian et al. (1996b) obtiveram resultados próximos aos descritos por Tejedor et al. (2001) em dietas com baixo teor de P adicionadas de 600 FTU/kg de dieta, incrementando em 12,4% a digestibilidade aparente de P em frangos machos de 21 dias de idade. A suplementação de fitase também melhorou o teor de P e de Ca na tíbia em 0,65% e 1,4%, respectivamente, e o peso corporal das aves em 13,2% para machos e 5,8% para fêmeas, sem afetar a eficiência alimentar.

Também foi observado por Viveiros et al. (2002) que a inclusão de 500 FTU/kg na dieta, melhorou em 6,3% o ganho de peso e não houve efeito de consumo e eficiência alimentar em frangos de corte durante o período de 6 semanas. A retenção de P aumentou em 10,1% no mesmo período e a retenção de Ca, Mg, e Zn aumentou respectivamente 15, 23 e 93,6%. Além disso, a excreção de P e Ca foram diminuídas em 6,3 e 2,7% nos frangos que se alimentaram das dietas com baixo P total adicionado a enzima.

Resultados semelhantes em frangos também foram encontrados por Ahmad et al. (2000), Broz et al. (1994), Fernández et al. (1999), Leeson et al. (2000), Perney et al. (1993) e Punna & Roland (1999). Quando a fitase foi adicionada a uma dieta semipurificada para frangos de corte com baixos níveis de P total, Meister (2001) determinou que a biodisponibilidade relativa do fósforo baseada na mineralização óssea, foi melhorada em 22,5% com o uso do milho como fonte alternativa, em 14% com o uso do sorgo e 14,2% para o triticale, comparada ao uso do fosfato como fonte de P.

Santos et al. (2005), trabalhando com três níveis nutricionais de dietas (com e sem adição de fitase) e um controle positivo, observaram que o consumo de ração e o ganho de peso das aves alimentadas com dietas com níveis nutricionais reduzidos sem adição de fitase, foram inferiores ao controle positivo. Mas quando estes tratamentos foram suplementados com fitase (de acordo com a recomendação do fabricante) apresentaram consumo de ração e ganho de peso semelhante ao controle positivo. Esses resultados concordam com Dilger et al. (2004), Conte et al. (2003), Lan et al. (2002), que avaliando o desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de inclusão da enzima fitase e baixos níveis de P disponível, encontraram que a adição dessa enzima propiciou melhor desempenho para as aves, quando comparadas com as mesmas que receberam dietas sem a inclusão de fitase. Entretanto, Lima et al. (2002), trabalhando com frangos de corte alimentados com rações suplementadas com dois níveis de enzima fitase verificaram que não houve melhora no desempenho das aves na fase inicial e crescimento. Assuena et al. (2007), também não observaram benefício da suplementação de fitase em dietas para frangos de corte.

A suplementação com fitase em dietas deficientes em minerais favorece a formação da estrutura óssea, e conseqüentemente o desempenho das aves, já que o bom desenvolvimento muscular é dependente de um bom suporte ósseo. Desta forma, a mineralização e a resistência óssea, especialmente dos ossos das pernas (tíbia, fêmur e metatarso) são parâmetros que podem demonstrar a eficiência desta enzima em hidrolisar o fitato em dietas deficientes em P e outros minerais (Santos et al., 2005).

A adição de fitase em dietas com níveis reduzidos de fósforo aumentou a porcentagem de cinzas, assim como a concentração de P, Ca, e Zn nos ossos dos frangos de corte (Lan et al., 2002; Viveiros et al., 2002). Porém, em estudo com dietas com níveis de cálcio que variavam de 0,40% a 1,16% suplementadas com 500 U de fitase / kg da dieta, Schoulten et al. (2003) não encontraram qualquer alteração nas cinzas e nos teores de Ca, P, Zinco, Manganês e Magnésio nas tíbias dos frangos de corte aos 42 dias de idade.

Santos et al. (2005), trabalhando com três níveis nutricionais de dietas (com e sem adição de fitase) e um controle positivo, demonstraram que os tratamentos que tiveram seus níveis nutricionais reduzidos apresentaram redução nos teores de cinza, fósforo e

cálcio. Entretanto, a suplementação com fitase melhorou significativamente essas variáveis, as quais foram semelhantes ao controle positivo; evidenciando a eficiência desta enzima em hidrolisar o complexo ácido fítico – mineral, deixando-os livres para absorção e contribuindo para mineralização dos ossos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELSON, P.H. A potential phosphate crisis, **Science**. v.283, p. 2015, (1999).

ACAMOVIC, T.2001. Commercial application of enzyme technology for poultry production. **World's Poultry Science J.** 57: 225-242.

AHMAD, T.; RASOOL, S.; SARWAR, M.; et. al. Effect of microbial phytase produced from fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 83, p. 103-114, 2000.

ANDRIGUETTO J. M. **Nutrição Animal**. 4.ed. São Paulo: Nobel, 1990. p.396.

ASSUENA, V.; JUNQUEIRA, O. M.; CASARTELLI, E. M.; et al.; Efeito da adição de diferentes níveis da enzima fitase sobre o desempenho de frangos de corte. **44ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 2007.

BARCELLOS, J. GONZÁLEZ, F.H.D.; PATIÑO, H.O.; et al. **Nutrição mineral em ruminantes**. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS, 1998. p.146.

BOYCE A, WALSH G. Comparison of selected physicochemical characteristics of commercial phytases relevant to their application in phosphate pollution abatement. **J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng**. v.41n.(5),p.789-98, 2006.

BROZ, J.; OLDALE, P.; PERRIN-VOLTZ, A. H.; et al. ; Effect of supplemental phytase on performance and phosphorus utilization in broiler chickens fed a low phosphorus diet without addition of inorganic phosphates. **British Poultry Science**, v. 35, p. 273-280, 1994.

CARPENTER SR. Eutrophication of aquatic ecosystems: bistability and soil phosphorus. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v.102,n (29),p.10002-5, 2005.

CHAMPE, B.C. Enzimas. In: CHAMPE, B.C.; HARVEY, R.A. **Bioquímica ilustrada**. 2. ed. São Paulo: Artes Médicas, 1989. p.53-66.

CHERRY, J. R. and FIDANTSEF, A.L.; Directed evolution of industrial enzymes: an update. **Current Opinion in Biotechnology**, v.14, p.438-443, 2003.

CHOCT, M.; 2006. Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World's Poultry Science Journal**. 62: 5-15.

CONTE, A.J.; TEIXEIRA, A. S. ; FIGUEIRÊDO, A. V.; et al. Efeito da fitase na biodisponibilidade de fósforo do farelo de arroz em frangos de corte. **Pesqui. Agropec. Bras.**, Brasília, v.37, n.4, p.547-552, 2002.

CONTE, J, A.; TEIXEIRA, A. S.; FIALHO, E. T. et al. Efeito da fitase e xilanase sobre o desempenho e as características ósseas de frangos de corte alimentados com dietas contendo farelo de arroz. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 5, p. 1147 – 1156, 2003.

COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R.; Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science**. v.85, n.5,p.878-85, 2006.

DARI, R. L.; A utilização da fitase na alimentação de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO 2004 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2004, Santos. **Anais...** Santos: FACTA, 2004. p. 127.

DILGER, R. N.; ONYANGO, E. M.; SANDS, J. S. et al. Evaluation of microbial phytase in broiler diets. **Poultry Science**, v. 83, p. 962 – 970, 2004.

DOURADO, L. R. B.; SAKOMURA, N. K.; FUKAYAMA, E. H.; et al.; Efeito da suplementação da fitase na digestibilidade dos nutrientes em rações de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola. Premio Lamas 2006**. Santos-SP, Supl. 8, pag. 112, 2006.

FARREL, D.J.; The beneficial effects of a microbial phytase in diets of broilers chickens and duck-lings. **Journ. Anim. Physiol. Anim. Nutr.**, v.69, p.278-283.

FERNANDES, J. I. M.; LIMA, F. R.; MENDONÇA JR., et al.; Relative bioavailability of phosphorus in feed and agricultural phosphates for poultry. **Poultry Science**, v. 78, p. 1729-1736, 1999.

GONZÁLEZ, F.H.D. e SILVA, S.C.. **Introdução à bioquímica clínica animal**. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS, 2003.

GREINER R, KONIETZNY U. Improving enzymatic reduction of myo-inositol phosphates with inhibitory effects on mineral absorption in black beans (*Phaseolus vulgaris* var. preto). **J. Food Process Pres**. v.23,p.249–261, 1999.

HARLAND B.F. and MORRIS E.R. Phytate: A good or a bad food component? **Nutrition Research**. v.15, n.5, pp. 733-754, 1995.

HOUDE, R.L.; ALLI, I.; KERMASHA, S. Purification and characterization of canola seed (*Brassica* sp.) phytase. **Journal of Food Biochemistry**, v.14, p.331-351, 1990.

HUISMAN. 1991. Antinutritional factors in poultry feeds and their management. Er preliminary proceedings of the **8th European Symposium on Poultry Nutrition**, 35-52.

KORNEGAY, E.T. **Nutrient management of food animals to enhance and protect the environmet**. 1 ed. Danvers: CRC Press LLC, p.279. 1996.

KRISTENSEN MB, HELS O, MORBERG CM, et al. ; Total zinc absorption in young women, but not fractional zinc absorption, differs between vegetarian and meat-based diets with equal phytic acid content. **Br J. Nutr**. v.95, n5, p.963-7, 2006.

LAN, G.Q. N Abdullah, S Jalaludin **Efficacy of supplementation of a phytase-producing bacterial culture on the performance and nutrient use of broiler chickens fed corn-soybean meal diets. Poultry Science.**, Champaign, v.81, n.10, p.1522-1532, 2002.

LAURENTIZ, A.C.; JUNQUEIRA, O.M.; CASARTELLI, E.M.; et al.; Efeito da fitase em dietas com diferentes níveis de fósforo sobre o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola, Premio Lamas 2005.** Santos-SP, Supl. 7, pag. 89, 2005.

LAURENTIZ, A.C.; JUNQUEIRA, O.M.; MARQUES, R.H.; et al.; Composição do fígado e da tíbia de frangos de corte alimentados com dietas contendo fitase e níveis reduzidos de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência Avícola, Premio Lamas 2005.** Santos-SP, Supl. 7, pag. 92, 2005.

LEESON, S.; NAMKUNG, K.; COTTRILL, et al.; Efficacy of new bacterial phytase in poultry diets. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 80, p. 527-528, 2000.

LEHNINGER, A.L. **Princípios de bioquímica.** São Paulo: Sarvie,1994. p.37.

LEI, X. G.; KU P. K.; MILLER, E. R.; ULLREY, D. E.; YOKOYAMA, M. T.; Supplemental microbial phytase improves bioavailability of dietary zinc to weanling pigs. **J. Nutr.** v.123,p.1117-1123,1993.

LEI, X. G.; PORRES, J. M.; Phytase enzymology, applications, and biotechnology. **Biotechnol Lett.** v.21,p1787-94, 2003. review.

LIMA, A. C. F.; HARNICH, F. A. R.; MACARI, M.; et al. Avaliação do desempenho de frangos de corte alimentados com suplementação enzimática ou probiótica. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, SP, v. 18, n. 2, p. 153-157, 2002.

MAGA, J.A. Phytate: its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.30, p.1-9, 1982.

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

MEISTER, N.C. Determinação da biodisponibilidade relativa do fósforo para frangos de corte em milho, sorgo e triticale, sem e com a adição de fitase microbiana à dieta. 2001. 81 f. **Dissertação de Mestrado em Nutrição Animal** – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

MELLANBY E. The rickets-producing and anti-calcifying action of phytate. **J. Physiol.** v.109,(3-4),p.488-533, 2 pl, 1949.

MUNARO, F.A.; LOPEZ, J.; TEIXEIRA, A.S.; RUTZ, F. Aumento da disponibilidade do fósforo fítico pela adição de fitase a rações para frangos de corte. **Revista Brasileira Zootecnia. Viçosa**, v.25, n.5, p.921-931, 1996b.

MUNARO, F.A.; LOPEZ, J.; TEIXEIRA, A.S.; LOPEZ, S.E. Efeito da fitase em rações com 15% de farelo de arroz desengordurado no desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira Zootecnia., Viçosa**, v.25, n.5, p.910-920, 1996a.

NANKUNG, H, LEESON, S. Effect of phytase enzyme on dietary Nitrogen-Corrected Apparent Metabolizable energy and the ileal Digestibility of nitrogen and amino acids in broiler chicks. **Poultry Science.**, 78:1317-1319. 1999.

NELSON, T.S.; SHIEH, T.R.; WODZINSKI, R.J.; et al.; The availability of phytate phosphorus in soybean meal before and after treatment with mold phytase. **Poultry Science.**, Champaign, v.47, p.1842-1848, 1968.

NRC – **NATIONAL RESEARCH COUNCIL**. Nutrient requirement of poultry. 9 ed. Washington: National Academy of Science, 1994. 156p.

OH B.C., CHOI, W.C., PARK, S., et al. ; T.K. Biochemical properties and substrate specificities of alkaline and histidine acid phytases. **Appl Microbiol Biotechnol.** v.63,p.362–372, 2004.

PALLAUF, J., HOHLER, D. RIMBACH, G. Effekt einer zuzugabe an mikrobieller phytase zu einer mais-soja-diat auf die scheinbare absorption von Mg, Fe, Cu, Mn, and Zn, sowie auf parameter des zinkstatus beim ferkel. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.**, v.68, p.1-8, 1994.

PENZ JR, A.M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 1998. Botucatu. *Anais...* Botucatu, Editora São Paulo, 1998. p. 165-178.

PERNEY, K. M.; CANTOR, A. H.; STRAW, M. L. The effect of dietary phytase on growth performance and phosphorus utilization of broiler chicks. **Poultry Science**, London, v. 72, n. 11, p. 2106-2114, 1993.

PUNHA, S.; ROLAND, D. A. Variation in phytate phosphorus utilization within the same broiler strain. **Journal Applied in Poultry Research**, v. 8, p. 10-15, 1999.

QUIAN, H. K., and DENBOW, D. M.; et al. Utilization of phytate phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol, and the calcium: total phosphorus ratio in broiler diets. **Poultry Science.**, Champaign, v.76, n.1, p.37-46, 1997.

RAVINDRAN, V. SELLE, P. H. ; RAVINDRAN, G. ; et al. Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. **Poultry Science.**, Champaign, v.80, n.3, p.338-344, 2001.

RAVINDRAN V AND BRYDEN WL. Amino acid availability in poultry—in vitro and in vivo measurements **Aust. J. Agric. Res.** v.50, p.889-908,1999.

RAVINDRAN, V.; CABAHUG, S.; RAVINDRAN, G.; et al. ; Influence of microbial pitase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broiler. **Poultry Science**, 78. p. 699-706, 1999.

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 en nutrición y alimentación animal**, 1999.

REVISTA ALIMENTAÇÃO ANIMAL. **Uso de enzimas em rações**. Disponível em: <http://bichoonline.com.br/artigos/aa0041.htm>>.

REDDY, N.R.; SATHE, S.K.; SALUNKHE, D.K. Phytates in legumes and cereals. **Advances in Food Research**, v.28, p.1-92, 1982.

ROSOL; CAPEN. Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In: Kaneko J.J. (Ed.) **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5.ed.. New York: Academic Press, 1997.

ROSTAGNO, H.S, TEJEDOR, LA., ALBINO, L.F.T., et al.; Enzyme supplementation of corn-soybean meal diets improves nutrients ileal digestibility in broiler chicks. In: Proc. Biotech. in Feed Ind., Alltech's 16th **Annual Symp. Nottingham** Univ. Press, p101-107. 2000.

SANDBERG AS, ROSSANDER L, TÜRK M. Dietary *Aspergillus niger* phytase increases iron absorption in humans. **J. Nutr.** v.126, p.476-480,1996.

SANTOS, F. R.; SAKOMURA, N.K.; MENDONÇA, M.O.; et al.; Efeito da suplementação com fitase em dietas de frangos de corte sobre a viabilidade econômica e desempenho. **Revista Brasileira de Ciência Avícola, Premio Lamas 2005**. Santos-SP, Supl. 7, pag. 119, 2005.

SEARS, A.; WALSH, G. Industrial enzyme applications: using these concepts to match animal, enzyme and substrate. In: ASIA PACIFIC LECTURE TOUR, 1993. **Anais** [S.I.]: ALLTECH, 1993. p. 89-110.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S.P.; CHAVEZ, E.R.; et al. ; The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, cooper and zinc in broilers chickens fed corn-soybean diets. **Poultry Science.**, Champaign, v.75, n.6, p.729-736, 1996.

SEBASTIAN, S., S.P. TOUCHBURN AND E.R. CHAVES. 1998. Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: A review. **World's Poultry Science J.** 54: 27-47.

SEGUEILHA, L.; LAMBRECHTS, C.; BOZE, H.; et al.; Purification and properties of the phytase from *Schwanniomyces castellii*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v.74, p.7-11, 1992.

SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V.; CALDWELL, R.A.; BRYDEN, W.L.; SELLE, P.; Phytate and phytase: consequences for protein utilisation. **Nutrition Research Reviews**. v.13, n.2, pp. 255-278,2000.

SIMONS, P.C.M.; VERSTEEGH, H.A.J.; JONGBLOED, A.W.; et al.; Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. **British Journal of Nutrition**, v.64, p.525-540, 1990.

STAHL, C.H.; HAN, Y.M.; RONEKER, K.R.; et al.; Phytase improves iron bioavailability for hemoglobin synthesis in young pigs. **J Anim Sci** v.77,p. 2135-2142,1999.

TAKIZAWA, N.; Utilization of recombinant phytase on the avoidance of water pollution by phosphorus of excretory organ of livestock. **Seibutsu-kogaku**, 76, 82 (1998).

TEJEDOR, A. A.; ALBINO, A. L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; et al. Efeito da adição da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.3, p.802-808, 2001.

THOMPSON LU and YOON JH Starch digestibility as affected by polyphenols and phytic acid **Journal of Food Science**. v. 49, p.1228, 1984.

VIVEIROS, A.; BRENES, A.; ARIJA; I.; et.al. effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**. Champaign, v.81, n.8, p.1172-1183, 2002.

WODZINSKI, R.J.; ULLAH, A.H.J. Phytase. **Advances in Applied Microbiology**, v.42, p.263-302, 1996.

YAN, F.; KERSEY, J. H.; FRITTS, C. A.; et al Phosphorus requirements of broiler chicks six to nine weeks of age as influenced by phytase supplementation **Poltry Science** 2003; 82: 294-300.

YAN, F.; KERSEY, J. H.; WALDROUP, P. W. Phosphorus requirements of broiler chicks three to six weeks of age as influenced by phytase supplementation. **Poultry Science**, v. 80, p. 455-459, 2001.