



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA
SALUD ANIMAL

EVALUACIÓN DE DOS FITASAS COMERCIALES SOBRE LA LIBERACIÓN DE FÓSFORO EN EL
CRECIMIENTO Y CENIZAS DE TIBIAS EN POLLOS DE ENGORDA ALIMENTADOS CON
DIETAS SORGO-SOYA

TESIS QUE PARA OPTAR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

MARÍA LILIANA DIOSDADO ESPINOZA

TUTOR PRINCIPAL:

MC. ERNESTO ÁVILA GONZÁLEZ (FMVZ-UNAM)

COMITÉ TUTOR:

DR. JUAN CARLOS DEL RÍO GARCÍA (FESC-UNAM)

DR. MARIANO GONZÁLEZ ALCORTA (UACH)

MÉXICO, D.F.

AGOSTO, 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mi mamá y a mi papá:

Dos personas que a lo largo de 37 años juntos (y contando), nos dieron la vida, a base de esfuerzos, trabajo y muchísimo amor, nos enseñaron el camino que les gustaría tomáramos en nuestras vidas, siempre brindándonos la libertad de elegir y tomar nuestras propias decisiones; celebrando nuestros triunfos y cobijándonos en nuestros fracasos.

A mis hermanos: Alba, Gerardo, Javier, Mariana y Maricruz.

Mis mejores y más leales cómplices, a pesar de que cada quien ha tomado su camino, seguimos juntos y en constante comunicación.

A mis cuñados: Oscar, Víctor e Iván.

Por hacer felices a mis hermanas y formar parte de la familia.

A mis sobrinos Emilio y Santiago:

Los más pequeños de la familia, por el momento, dos niños que llenan de alegría nuestras vidas y por quien daríamos cualquier cosa para verlos crecer y convertirse en hombres de bien.

A Juan Carlos Tejero:

Llegaste a mi vida para enseñarme y demostrarme que los sueños se vuelven realidad, que la mente puede volar todo lo que quiera; pero los pies nunca deben despegarse del piso. Tienes la capacidad de hacerme reír a carcajadas y llorar de felicidad, por ser quien camina a mi lado y por ser quien cree en mí.

A mi mejor amigo Alfredo Pedro:

Gracias por siempre estar a mi lado, escuchándome, apoyándome, preocupándote y hasta regañándome. Eres mi herencia favorita, te quiero amigo y la vida me permitirá algún día decírtelo frente a frente.

“Todos ustedes son lo que más amo, son la base de mi vida, gracias por ser parte de ella”.

AGRADECIMIENTOS.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Institución a la que le ofrezco mi eterno agradecimiento y lealtad por ser parte de sus egresados.

Al C.E.I.E.P.Av. Encabezado por el Doctor Ernesto Ávila. Por aceptarme y darme la oportunidad de poder realizar este logro, por su orientación y ayuda. Su trabajo, vocación, experiencia y sencillez siempre serán un ejemplo a seguir.

A la empresa DSM Nutritional Products México S.A. de C.V. Por su valiosa donación de los productos evaluados en el presente trabajo de investigación. De la misma empresa, por su asesoría al Doctor Sergio Fernández, por su ayuda y asesoría al Ingeniero Silvestre Charraga.

Al Departamento de Nutrición de la FMVZ por el apoyo en los estudios realizados, para el presente trabajo de investigación.

A los Doctores Mariano González Alcorta y Juan Carlos Del Rio, por su apoyo y asesoría durante la realización del presente trabajo.

Al Doctor Arturo Cortes, por su apoyo en la preparación inicial, ayuda durante la realización y asesoría en la finalización del presente trabajo.

A mi amiga Verito, que siempre estuvo a mi lado, ayudándome en todo lo que podía y por su apoyo moral incondicional.

A mis compañeros y nuevos amigos: David, Viry, Diana, Diego, Erick y Sam. Siempre dispuestos a colaborar y apoyar. Por esos "Diálogos en confianza".

A los demás compañeros y amigos que me apoyaron durante este proceso y contando con ellos siempre: Dra. Elizabeth Posadas, Dr. Ezequiel Sánchez, Jorge, Alma, Lázaro, Analía, Montse, Rebe, Dr. Tom, Sra. Irma.

A mi "Querido Doctorcito" Benjamín Fuente, por toda la ayuda que me ha brindado desde la licenciatura, por sus consejos, por sus palabras de ánimo y hasta sus palabras tan crudas pero realistas que llegó a utilizar para ayudarme a ver la situación y enfrentarla con la mejor actitud, porque algunas veces casi inundo su oficina, le estaré siempre agradecida. Mi respeto, admiración y amistad para usted.

A los Doctores que formaron parte del jurado: Dra. Irma Tejada, Dra. Silvia Carrillo, Dr. Carlos López Coello, por su ayuda y sobre todo por su apoyo en la evaluación del presente trabajo de investigación.

CONTENIDO

CONTENIDO	IV
ÍNDICE DE CUADROS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ABREVIATURAS	VIII
RESUMEN	IX
ABSTRACT.....	X
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 IMPORTANCIA DEL FÓSFORO	1
1.2 FUENTES DE FÓSFORO	2
1.3 ÁCIDO FÍTICO	4
1.4 FITATO	6
1.5 FITASAS	8
1.6 TIPOS DE FITASAS	10
1.7 MODO DE ACCIÓN	12
1.8 VALOR EN LA PRÁCTICA.....	13
1.9 SUPERDOSIS.....	13
2. JUSTIFICACIÓN	15
3. HIPÓTESIS.....	16
4. OBJETIVO GENERAL	17
4.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	17

5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	18
5.1 UBICACIÓN DEL SITIO EXPERIMENTAL.....	18
5.2 ANIMALES Y CONDICIONES DE ALOJAMIENTO	18
5.3 TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES	19
5.4 MANEJO DE ANIMALES	21
5.4 VARIABLES A ESTUDIAR.....	21
5.5 MODELO ESTADÍSTICO.....	22
6. RESULTADOS	23
7. DISCUSIÓN.....	34
8. CONCLUSIONES.....	38
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	39
10. ANEXOS.....	45
10.1 FICHA TÉCNICA DE FITASA Citrobacter braakii	45
10.2 FICHA TÉCNICA DE FITASA E. coli.....	46
10.3 COSTO-BENEFICIO	47

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
CUADRO 1: Fuentes de fósforo empleados en la formulación de dietas para animales	3
CUADRO 2: Fuentes de fósforo de origen vegetal y animal	4
CUADRO 3: Composición de la dieta basal experimental para pollos de 7 a 21 días de edad	20
CUADRO 4: Resultados de parámetros productivos (ganancia de peso) obtenidos en pollos de engorda (7-21 días de edad) en 14 días de experimentación	23
CUADRO 5: Resultados de parámetros productivos (eficiencia alimenticia) obtenidos en pollos de engorda (7-21 días de edad) en 14 días de experimentación.	25
CUADRO 6: Porcentaje de cenizas en tibias obtenidos de pollo de engorda (7-21 días de edad) en 14 días de experimentación	27
CUADRO 7: Porcentaje de fósforo inorgánico en tibias obtenidos de pollo de engorda (7 a 21 días de edad) en 14 días de experimentación	29
CUADRO 8: Resistencia ósea (kg/cm²) en tibias obtenidos de pollo de engorda (7 a 21 días de edad) en 14 días de experimentación	31
CUADRO 9: Porcentaje de fósforo inorgánico liberado por las fitasas de origen microbiano provenientes de <i>Citrobacter braakii</i> y <i>Escherichia coli</i>, en los parámetros evaluados en pollos de engorda en 14 días de experimentación utilizando una dosis de 500 FTU.	33
CUADRO 10: Porcentaje de fósforo inorgánico liberado por las fitasas de origen microbiano provenientes de <i>Citrobacter braakii</i> y <i>Escherichia coli</i>, en los parámetros evaluados en pollos de engorda en 21 días de experimentación utilizando una superdosis de 1000 FTU.	33

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1: Estructura de ácido fítico	5
FIGURA 2: Capacidad quelante del ácido fítico, unión a otros nutrientes esenciales de la dieta	5
FIGURA 3: Porcentaje de Pi liberado con relación a la ganancia de peso utilizando una dosis de 500 FTU de fitasas microbianas <i>Citrobacter braakii</i> o <i>Escherichia coli</i>.	24
FIGURA 4: Porcentaje de Pi liberado con relación a la ganancia de peso utilizando una superdosis de 1000 FTU de fitasas microbianas <i>Citrobacter braakii</i> o <i>Escherichia coli</i>	24
FIGURA 5: Porcentaje de Pi liberado con relación a la eficiencia alimenticia utilizando una dosis de 500 FTU de fitasas microbianas <i>Citrobacter braakii</i> o <i>Escherichia coli</i>	26
FIGURA 6: Porcentaje de Pi liberado con relación a la eficiencia alimenticia utilizando una superdosis de 1000FTU de fitasas microbianas <i>Citrobacter braakii</i> o <i>Escherichia coli</i>.	26
FIGURA 7: Porcentaje de Pi liberado con relación al porcentaje de cenizas en tibias utilizando una dosis de 500 FTU de fitasas microbianas <i>Citrobacter braakii</i> o <i>Escherichia coli</i>	28
FIGURA 8: Porcentaje de Pi liberado con relación al porcentaje de cenizas en tibias utilizando una superdosis de 1000 FTU de fitasas microbianas <i>Citrobacter braakii</i> o <i>Escherichia coli</i>	28
FIGURA 9: Porcentaje de Pi liberado con relación al porcentaje de Pi en tibias utilizando una dosis de 500 FTU de fitasas microbianas <i>Citrobacter braakii</i> o <i>Escherichia coli</i>	30
FIGUARA 10: Porcentaje de Pi liberado con relación al porcentaje de Pi en tibias utilizando una superdosis de 1000 FTU de fitasas microbianas <i>Citrobacter braakii</i> o <i>Escherichia coli</i>	30
FIGURA 11: Porcentaje de Pi liberado con relación a la resistencia ósea, utilizando una dosis de 500 FTU de fitasas microbianas <i>Citrobacter braakii</i> o <i>Escherichia coli</i>	32
FIGURA 12: Porcentaje de Pi liberado con relación a la resistencia ósea, utilizando una superdosis de 1000 FTU de fitasas microbianas <i>Citrobacter braakii</i> o <i>Escherichia coli</i>	32

ABREVIATURAS

P: Fósforo

Pi: Fósforo inorgánico

AF: Ácido fítico

FMD: Fósforo monodivale

FTU: Unidades fitasa (siglas en inglés)

FEDNA: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal

NRC: National Research Council

SICUAE: Subcomité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales para Experimentación

FMVZ: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

UNAM: Universidad Nacional Autónoma de México

E. coli: *Escherichia coli*

FTU= Cantidad de enzima necesaria para liberar 1 μmol de fósforo inorgánico por minuto en un pH de 5.5 a 37°C.

RESUMEN

DIOSDADO ESPINOZA MARÍA LILIANA. Evaluación de dos fitasas comerciales sobre la liberación de fósforo en el crecimiento y cenizas de tibias en pollos de engorda alimentados con dietas sorgo-soya (Bajo la dirección del MVZ MC Ernesto Ávila González, Dr. Juan Carlos Del Río García y Dr. Mariano González Alcorta).

Con el objeto de evaluar dos fitasas comerciales a dos dosis de 500 y 1000 FTU sobre la liberación de fósforo en la ganancia de peso, eficiencia alimenticia, contenido de fósforo en tibias, % de cenizas en tibias y resistencia ósea, utilizando diferentes dosis de fósforo inorgánico a partir de fosfato monodivalente (FMD) (0.0, 0.08, 0.16 y 0.24%) como estándar, en dietas sorgo-soya para pollo de engorda en crecimiento, deficientes en fósforo disponible (0.15%), se realizó un experimento. Se utilizaron 216 pollos de la estirpe Ross 308 de un 7 a 21 días de edad, distribuidos en 8 tratamientos como se señala a continuación: Tratamiento 1: Dieta basal sorgo-soya, deficiente en fósforo disponible (0.15%), Tratamiento 2: Como 1 + 0.08% de fósforo inorgánico a partir de FMD, Tratamiento 3: Como 1 + 0.16% de fósforo inorgánico a partir de FMD, Tratamiento 4: Como 1 + 0.24 % de fósforo inorgánico a partir de FMD, Tratamiento 5: Como 1+ 500 FTU de fitasa microbiana *Citrobacter braakii*, Tratamiento 6 : como 1 + 1000 FTU de fitasa microbiana *Citrobacter braakii*, Tratamiento 7: Como 1 + 500 FTU de fitasa microbiana *Escherichia coli* y Tratamiento 8 : como 1 + 1000 FTU de fitasa microbiana *Escherichia coli*. La liberación del fósforo se estimó en relación al FMD adicionado a dietas sorgo + soya. Con los datos obtenidos de ganancia de peso, eficiencia alimenticia, contenido de fósforo en tibias, % de cenizas en tibias y la resistencia ósea de los tratamientos 1, 2, 3 y 4 se obtuvieron ecuaciones de regresión lineal que se emplearon como curvas estándares. La cantidad de fósforo liberado ($P < 0.01$) por las fitasas empleadas, a la dosis de 500 FTU *Citrobacter braakii* fue 0.11 % de P_i y 0.10 % de P_i para *Escherichia coli*, y para las dosis de 1000 FTU (superdosis) fue de 0.18% de P_i para *Citrobacter braakii* y 0.16% de P_i para *Escherichia coli*. Los resultados obtenidos indican que el uso de una superdosis incrementó en promedio (18%) la ganancia de peso, eficiencia alimenticia, el porcentaje de cenizas en tibia, porcentaje de fósforo en tibias y la resistencia ósea, demostrando la capacidad de las dos fitasas comerciales cuando se utilizan en altas dosis de inclusión para mejorar el aprovechamiento del fósforo fítico por parte del ave en 61.1% para *Escherichia coli* y 62.5% para *Citrobacter braakii* respectivamente, lo equivalente a una liberación de fósforo de 0.16 y 0.18% respectivamente.

PALABRAS CLAVE: FITASAS, SUPERDOSIS, FÓSFORO EN TIBIAS, CENIZAS EN TIBIAS, RESISTENCIA ÓSEA, POLLOS DE ENGORDA.

ABSTRACT

DIOSDADO ESPINOZA MARÍA LILIANA. Evaluation of two commercial phytase on phosphorus release in the growth and tibia ash in broilers fed sorghum-soybean (Under the direction of MVZ MC Ernesto Avila Gonzalez, Dr. Juan Carlos Del Rio Garcia and Dr. Mariano González Alcorta).

In order to evaluate two commercial phytases two doses of 500 and 1000 FTU on the release of phosphorus in weight gain, feed efficiency, phosphorus content in warm,% ash in warm, bone strength, using different doses of phosphorus from Mono- dicalcium inorganic phosphates (FMD) (0.0, 0.08, 0.16 and 0.24%) as standard, sorghum-soybean diets for starting broiler deficient in available phosphorus (0.15%), an experiment was conducted. 216 chickens Ross 308 strain of a 7-21 day old, divided into 8 treatments as noted below were used: Treatment 1: sorghum-soybean basal diet deficient in available phosphorus (0.15%), Treatment 2: As 1 + 0.08% inorganic phosphorus from FMD, Treatment 3: As 1 + 0.16% inorganic phosphorus from FMD, treatment 4: as 1 + 0.24% inorganic phosphorus from FMD, treatment 5: as 1+ 500 FTU microbial phytase *Citrobacter braakii* treatment 6: As 1 + 1000 FTU microbial phytase *Citrobacter braakii*, Treatment 7: as 1 + 500 FTU microbial phytase *Escherichia coli*, Treatment 8: As 1 + 1000 FTU microbial phytase *Escherichia coli*. The release of phosphorus was estimated in relation to FMD added to sorghum + soya. Data obtained with weight gain, feed efficiency, ashes and phosphorus content in tibia, and bone strength of treatments 1, 2, 3 and 4 linear regression equations were used as standards curves were obtained. The amount of phosphorus released ($P < 0.01$) by phytase used at a dose of 500 FTU *Citrobacter braakii* was 0.11% and 0.10% of Pi for *Escherichia coli* and for doses of 1000 FTU (overdosing) was 0.18 % of Pi for *Citrobacter braakii* and 0.16% of Pi for *Escherichia coli*. These data indicate that the use of a superdoses increased 18% weight gain, feed efficiency, the percentage of tibia ashes, tibia's phosphorus percentage and bone strength, demonstrating the ability of two commercial phytase when used in high doses of inclusion to improve phytate phosphorus utilization by the bird in 61.1 and 62.5% respectively, equivalent to 0.16 and 0.18% release respectively.

KEY WORDS: PHYTASES, OVERDOSING, PHOSPHORUS IN TIBIA, TIBIA ASHES, BONE STRENGTH, BROILERS.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 IMPORTANCIA DEL FÓSFORO

El fósforo contribuye con aproximadamente el 1% del peso vivo del animal y de esta cantidad 80-85% del fósforo presente en el organismo animal se localiza en el esqueleto como fosfato cálcico $[Ca_3 (PO_4)_2]$ e hidroxiapatita $[Ca_{10} (PO_4)_6(OH)_2]$ y 15-20% en forma orgánica en los tejidos muscular, nervioso y los eritrocitos. También, se necesita para la formación de fosfolípidos, que es una manera por la cual los ácidos grasos se incorporan a través de las membranas de las células y de los organelos. Además participa en el metabolismo de los hidratos de carbono y grasas; es constituyente de varios sistemas enzimáticos y forma parte de los ácidos nucleicos, que son componentes celulares esenciales para la síntesis de proteínas; y las sales amortiguadoras formadas de fósforo permiten el equilibrio ácido-base (Cuca et al, 2009). Por lo que este mineral es clasificado como esencial, por lo que un suministro inadecuado puede ocasionar disminución en el comportamiento productivo de las aves.

El fósforo (P) es un mineral esencial para el metabolismo animal, donde juega un papel muy importante en el desarrollo y mantenimiento de las estructuras óseas; aproximadamente el 80% del fósforo del cuerpo está presente en el esqueleto y el 20% restante en tejidos y fluidos. Es un componente del ATP, los ácidos nucleicos; forma parte de los fosfolípidos que integran y dan flexibilidad a las membranas celulares (McDowell, 1992). Constituye aproximadamente entre el 0.7% al 1.2% del peso de un animal.

Es normal que el calcio y el fósforo sean tratados de manera conjunta y global, ya que en su metabolismo se encuentran estrechamente asociados, para cumplir su papel en las diferentes funciones fisiológicas; el metabolismo del calcio está regulado por el nivel de fósforo disponible en la dieta, la hormona paratiroidea; cuya función es la de mantener la concentración de calcio iónico en el plasma dentro de los límites nutricionales requeridos en la etapa fisiológica en la que se encuentre el animal; para cual activa los mecanismos de excreción o depósito de calcio en los huesos. También dicha hormona controla la excreción renal de calcio y fósforo en la orina (Auman et al., 2003).

El esqueleto proporciona una gran reserva de calcio y fósforo para utilizarse en otros sitios corporales cuando los aportes dietéticos son inadecuados, los síntomas de la deficiencia de calcio y/o de fósforo se muestran rápidamente por el esqueleto en forma de raquitismo u osteomalacia (Mateos et al., 1999).

Tal es la importancia de este macromineral, que los alimentos deben contener fósforo en cantidades que permitan un adecuado aporte durante cada fase de producción. Una deficiencia de fósforo causa pérdidas en la productividad animal, mientras que los excesos conducen a una menor eficiencia en la absorción, eliminándose del organismo teniendo como consecuencia concentraciones muy elevadas en las excretas (Auman, 2003); además convirtiéndose en un problema medioambiental.

1.2 FUENTES DE FÓSFORO

El fósforo (P) contenido en las dietas puede ser de origen vegetal, animal o mineral (**Cuadro 1**). El fósforo de origen mineral es la fuente de elección de aporte de P en alimentos comerciales. Además de P, los fosfatos que se emplean como fuente de este elemento aportan cantidades importantes de Ca y minerales tales como el Na, K, Mg y Fe, según el producto empleado (FEDNA, 2012). Tradicionalmente, el fosfato dicálcico dihidratado, ha sido la forma química más utilizada en dietas y se le asignaba arbitrariamente una disponibilidad del 100% a su contenido de fósforo. La disponibilidad del P de la mayoría de materias primas se estima de forma relativa en relación con el valor del fosfato dicálcico. Por lo tanto, este método (aún recomendado por el NRC, 1994), indica valores de disponibilidad del P superiores a la digestibilidad real, especialmente en el caso de materias primas de origen animal o mineral. Otras fuentes minerales de P disponibles en el mercado son el fosfato monocálcico, el fosfato monodicálcico y el fosfato dicálcico anhidro (FEDNA 2012; NRC, 1994). En México la fuente más utilizada, es el fosfato monodicálcico (Cuca et al, 2009). La disponibilidad de esta fuente depende de numerosos factores, incluyendo la naturaleza del, ácido fosfórico y el proceso de fabricación.

CUADRO 1: Fuentes de fósforo empleadas en la formulación de dietas para animales y su contenido promedio de fósforo.

FUENTE	% DE FÓSFORO
Harina de hueso	14.0
Roca fosfórica defluorinada	18.0
Fósforo dicálcico anhidro	20.1
Fósforo dicálcico dihidratado	17.7
Fósforo monodicalcico hidratado	21.1
Fósforo monocálcico hidratado	22.6
Ácido fítico	28.1

FUENTE: FEDNA 2012

El P en la harina de pescado es muy disponible, especialmente si los componentes óseos son molidos de manera muy fina. Cabe destacar que por su poca disponibilidad y porcentaje de inclusión, las materias primas de origen vegetal son de mayor importancia en la fabricación de alimentos, dada su competitividad frente a las harinas de pescado, ya que en estas, su producción es menor que las de origen vegetal y subproductos agroindustriales. Por consiguiente, los precios de estas últimas materias primas son competitivos (Saez, 2003); lo que provoca el empleo de las fitasas para extraer la mayor cantidad posible de fósforo a partir del ácido fítico en la alimentación de las aves.

El valor nutricional para el ave del P vegetal depende de su porcentaje en P fítico y de la actividad fitásica endógena de la materia prima. Estos valores son muy variables por lo que es difícil prever, el contenido de P digestible o disponible de los vegetales (Rebollar, 1999). El contenido de P fítico de los cereales es del 55 al 75% del P total y en las harinas proteicas vegetales más comúnmente empleadas del 60 al 85%. En el Cuadro 2; se aprecia el contenido de fósforo disponible señalado por el NRC (1994).

CUADRO 2: Fuentes de fósforo de origen vegetal y animal

INGREDIENTE	P total %	P fítico %	P disp %
Maíz	0.28	0.20	0.08
Sorgo	0.30	0.21	0.09
Pasta de soya	0.62	0.40	0.22
Cánola	1.17	0.87	0.30
Harina de carne	5.10	0	5.10
Harina de pescado	2.43	0	2.43
Harina de plumas	1.70	0	1.70

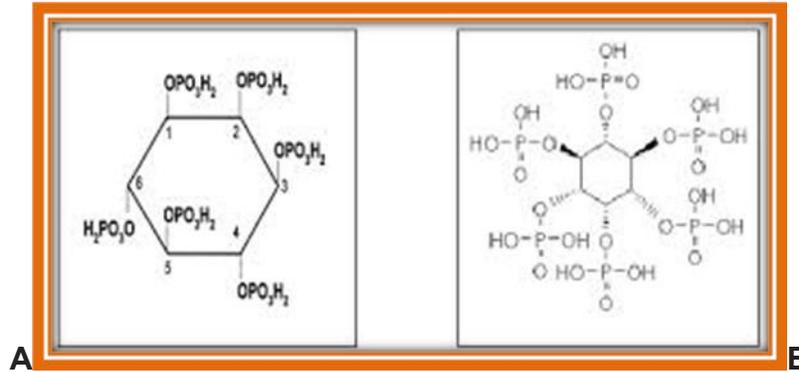
Fuente extraída de NRC ,1994

1.3 ÁCIDO FÍTICO

El ácido fítico (fitato; mio -inositol 1, 2, 3, 4, 5, 6, hexafosfato) (**Figura 1**), es la fuente primaria de inositol y fósforo de almacenamiento en las plantas y semillas contribuyendo alrededor del 70% de fósforo total (Barrientos et al, 1994). La abundancia de ácido fítico en cereales es motivo de preocupación en los alimentos balanceados, debido a que el fósforo no está disponible en su totalidad para animales monogástricos debido a la falta de fitasas endógenas; específicas para la desfosforilación de ácido fítico (Anderson, 1994). Además, la característica quelante del ácido fítico reduce la biodisponibilidad de otros nutrientes esenciales de la dieta (Rigon et al, 2007), como minerales, (Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+}) proteínas, aminoácidos y azúcares; puede llegar a inhibir algunas enzimas digestivas, como tripsina, quimotripsina, α -amilasa y pepsina (Romero et al, 2008). Al establecerse las uniones iónicas entre el ácido fítico y los nutrientes, se forman quelatos insolubles llamados fitatos, los cuales son un grupo amplio de compuestos altamente complejos que no pueden ser asimilados por animales no rumiantes (Turner et al, 2002), (**Figura 2**). Por consiguiente, todo lo que esté unido a este compuesto no será aprovechado en su totalidad. Además, el fósforo adicionado y el fitato no absorbido causan fuertes problemas de contaminación ambiental debido a las altas concentraciones de fósforo en las excreta (Robinson, 1991), lo que resulta en la acumulación de éste en las áreas de pastoreo, mantos acuíferos y cuerpos de agua dulce, donde su presencia favorece la eutrofización,

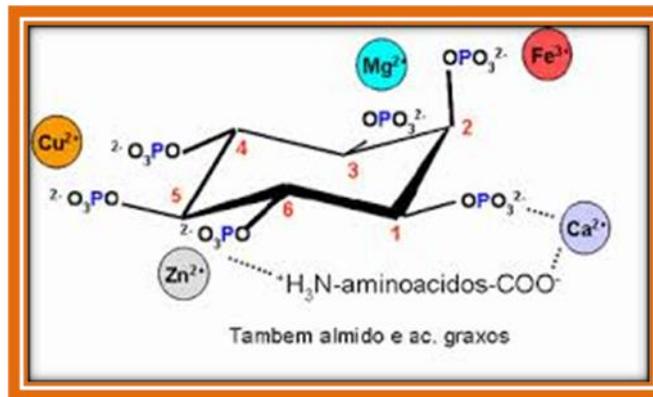
provocando la muerte de peces y animales acuáticos, y la liberación de óxido nítrico, como un potente gas de efecto invernadero (Martínez ,2013).

FIGURA 1: Estructura de ácido fítico (AF). A Geometría plana. B Geometría tridimensional.



FUENTE: Adaptado de Gerdhard (2006)

FIGURA 2: Capacidad quelante del ácido fítico, unión a otros otros nutrientes esenciales de la dieta.



FUENTE: Adaptado de Martínez (20013)

Aunque la función del ácido fítico en las plantas no está completamente definida, éste se ha asociado principalmente con:

- Reserva energética y fuente de cationes.
- Reserva de fósforo, regulando la concentración de este mineral en las semillas y durante el proceso de germinación.
- Fuente de mioinositol, precursor de los polisacáridos de la pared celular.

- Como antioxidante que previene la peroxidación de los lípidos y aumenta la longevidad de las semillas (Méndez, 2007).

Por otro lado, existen investigaciones que demuestran que los fitatos poseen ciertas propiedades benéficas para la salud del ser humano, como lo son; efectos anticancerígenos, disminución en la probabilidad de padecer cálculos renales, así como propiedades antioxidantes, acción atribuida a la capacidad de formar complejos con metales, principalmente hierro (Sotelo *et al.*, 2002).

1.4 FITATO

La fitina (complejo de inositol hexafosfato con potasio, magnesio y/o calcio), mejor conocida en la nutrición animal como fitatos, es la principal forma de almacenamiento de fósforo en las semillas. Originalmente reconocida como una fuente de fósforo durante la germinación, ahora se sabe también que la presencia de fitina en la semilla durante el proceso de germinación, juega un papel importante en la prevención de estrés oxidativo y por lo tanto en la prevención de la muerte del embrión. Lo anterior se cree que está relacionado con la capacidad del ácido fítico para quelar minerales tales como hierro, calcio y zinc. Esto reduce la formación de compuestos oxidativos que pudieran crearse durante la germinación, cuando las células vegetales pasan a través de un proceso anabólico/catabólico.

En la nutrición animal, el fitato no es buena fuente de fósforo para aves y cerdos. Los rumiantes tienen un proceso de fermentación en donde el fitato puede ser degradado por las bacterias, liberando fósforo para que sea absorbido por el animal. Sin embargo, el fitato ha sido reconocido como una fuente de fósforo que no es disponible para aves y cerdos, ya que como animales monogástricos no tienen las enzimas para hidrolizar el fitato. La molécula del ácido fítico, produce una menor disponibilidad (digestibilidad) del fósforo para aves y cerdos.

Cuando se hace reaccionar con otros nutrientes presentes en el tracto intestinal de aves y cerdos, el fitato reduce la digestibilidad de otros nutrientes, también causa una respuesta endógena por el animal. Ambos efectos están asociados con los efectos anti-nutricionales de esta molécula.

➤ El impacto en los minerales.

El fitato es una molécula compleja con 12 diferentes valores de pKa (constantes de disociación ácida), 2 para cada grupo fosfato. Este tema complejo se puede simplificar diciendo que, incluso a un pH de 2.0, la molécula del fitato todavía se carga negativamente y se hará más negativo como se vaya incrementando el pH.

Esto es importante porque cuando el fitato pasa a través del tracto digestivo, se pasa de un pH más bajo (estómago/proventrículo-molleja) a un pH neutro en la parte baja del intestino. Así, la carga negativa del fitato aumenta a medida que aumenta el pH y, como consecuencia, éste reaccionará con cationes (principalmente divalentes como calcio, zinc y cobre). Como resultado, se forman sales estables que se precipitan en solución.

➤ **Impacto en la proteína**

Los procesos digestivos de las proteínas comienzan en el estómago y proventrículo-molleja, donde el pepsinógeno secretado se activa en pepsina, que es la enzima endógena que inicia la hidrólisis de las proteínas del alimento. Ensayos *in vitro* han demostrado que la presencia de fitato reduce la activación de la pepsina entre pH de 0.8 y 2.8. Esto puede resultar en menos proteína que inicialmente iba a ser digerida en la fase ácida del proceso digestivo de aves y cerdos, y que tiene como consecuencia un impacto en la digestibilidad de la proteína.

Además de reducir la activación de la pepsina, la cual podría ser superada por la producción de pepsinógeno en el estómago, la presencia del fitato también reduce directamente la solubilidad de la proteína y consecuentemente su digestibilidad. La hipótesis inicial para explicar esta reducción en la digestibilidad es que a un pH bajo, la mayoría de las proteínas, particularmente aquellas con altas concentraciones de aminoácidos básicos, estarán por debajo de su punto isoeléctrico y por lo tanto cargadas positivamente. Esto atraerá la molécula de proteína hacia el fitato, el cual está cargado negativamente a pH bajo, produciendo un primer enlace fitato-proteína y por consiguiente un enlace proteína-proteína, reduciendo así la solubilidad y digestibilidad de las proteínas.

Una nueva hipótesis propone que este enlace fitato-proteína no ocurre necesariamente, como pudiera ser una alta solubilidad del fitato a pH bajo, lo cual se esperaría que aumentara, en lugar de reducir la solubilidad de la proteína. Esta hipótesis afirma que la presencia del fitato en solución cambia la conformación del agua, moviendo las moléculas de agua más cerca del fitato y lejos de las moléculas de la proteína. Esta menor cantidad de agua alrededor de la molécula de proteína se traducirá en una reducción en la solubilidad de la proteína y como consecuencia en una menor digestibilidad.

➤ **Impacto en las pérdidas endógenas**

Las secreciones digestivas están reguladas por estímulos intrínsecos y extrínsecos. Las secreciones gástricas de HCl y pepsinógeno, por ejemplo, serán

reguladas por factores tales como estímulos visuales, estímulos de olor, distensión del estómago (más importantes en los cerdos que en las aves) y la presencia de componentes específicos en el intestino. La presencia de proteína indigestible en la parte baja del tracto intestinal estimulará la secreción de hormonas como la gastrina y la colecistoquinina, que estimulan la secreción de HCl y pepsinógeno en el estómago. Un aumento en la concentración de péptidos y aminoácidos en la parte baja del intestino tendrá el efecto opuesto.

Cualquiera que sea la causa, el fitato puede reducir la solubilidad de la proteína y por consiguiente su digestibilidad en el intestino. Como consecuencia, la proteína indigestible se va al duodeno, estimulando la gastrina y por lo tanto la secreción de HCl y pepsinógeno en el estómago. Por otra parte, se ha mostrado un pH más bajo en la molleja a los 7 y 21 días de edad en pollo de engorda alimentados con una dieta alta en fitato, que está presumiblemente relacionado a una mayor producción de HCl y pepsinógeno en el proventrículo.

Otra consecuencia de este aumento en la producción de HCl y pepsinógeno es un incremento de las pérdidas endógenas por el animal. Esto es debido a una mayor producción de HCl y pepsinógeno que tienen un efecto irritante en la mucosa intestinal, que es compensada por un aumento en la producción de moco, que actúa como una capa protectora. Además, una vez que la digesta llega al duodeno, una gran cantidad de bicarbonato de sodio es secretada por el páncreas para incrementar el pH y compensar el bajo pH del estómago. Esta cantidad excesiva de sodio puede comprometer la absorción de aminoácidos que dependen del transporte activo, a través de la bomba de Na-K. El fitato ha demostrado que incrementa la excreción de sodio.

1.5 FITASAS

Las fitasas se emplearon originalmente desde el año de 1990, en respuesta a sanciones severas por la contaminación de P impuesta a los productores de cerdos y aves de corral en determinadas zonas geográficas de Europa. Debido a las sanciones económicas por la eliminación de residuos, el uso de la fitasa fue establecido en ese momento ya que el ahorro en el fosfato inorgánico empleado, se vio compensado por el costo de la enzima. Con el tiempo, el costo de la enzima ha disminuido más y el de nutrientes ahorrado por el uso de estas enzimas aumentó (por diversas razones, por ejemplo, la prohibición de la carne y harina de hueso en la Unión Europea), de manera que su uso se extendió por gran parte de la Unión Europea a mediados y finales del año 1990. Como la comprensión de su modo de acción va mejorando, y con la conciencia de que esta enzima puede

ahorrar más reduciendo la cantidad de P y Ca que se adiciona a la dieta, su uso se extendió aún más, actualmente es ahora la enzima de alimentación más utilizada en el mundo. Frontela et al. (2010), señalan que existen diferentes criterios para la clasificación de las fitasas entre estos se tienen:

- Basados en su pH óptimo, las fitasas se pueden clasificar en fitasas ácidas y alcalinas.
- Si se tiene en cuenta la posición del carbono del anillo de mio-inositol en la molécula de fitato, se clasifican en 3-fitasas, 6-fitasas y 5-fitasas.
- El criterio más importante para clasificar las fitasas es por su origen en vegetal, animal y microbiano.

Las fitasas reciben su nombre según la posición específica en donde comienza la hidrólisis en el grupo éster fosfato en la molécula del fitato. La mayoría de las fitasas conocidas pertenecen a las 3-fitasas ó 6-fitasas (Lassen et al., 2001); aunque igualmente se han mencionado excepciones como es una fitasa alcalina del polen de la azucena, la cual inicialmente hidroliza el grupo 5-fosfato (Barrientos et al., 1994). Caracterizándose generalmente las fitasas fúngicas y bacterianas por liberar cinco de los seis fosfatos (Wyss et al., 1999)

Hasta hace un tiempo, generalmente se consideraba que las 3-fitasas, tales como las fitasas producidas del *A. niger* eran solo de origen microbiano (Irving y Cosgrove, 1972); mientras que las 6-fitasas tales como la fitasa de salvado de trigo (Thomlinson y Ballou, 1962), se creía que estarían restringidas principalmente al reino vegetal (Lassen et al., 2001). Sin embargo, se conocen excepciones en las 6-fitasas, que no pertenecen a vegetales, tales como las 6-fitasas del *Paramecium* (Van der Kaay y Van Haastert, 1995), *Escherichia coli* (Greiner et al., 1993), y hongos *Basidiomyceto* como *Peniophora lycii* (Lassen et al., 2001).

La distinción que se hace entre las 3-fitasas y las 6-fitasas, no es literalmente estricta, ya que las fitasas no muestran siempre un corte claro específico para su tipo correspondiente. Ejemplo de ello son la fitasa de *Escherichia coli* que se ha demostrado no ser estrictamente 6-fosfato específico, ya que también puede comenzar la hidrólisis del fitato en el 3-fosfato, y viceversa para la 3-fitasa del *A. niger*. Un ejemplo notable de una enzima que despliega tal conducta del tipo-mixto es la fitasa del *A. pediades* (Lassen et al., 2001).

Las fitasas se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, hallándose en variedades de microorganismos, plantas y animales (Pointillart, 1994). Además se encuentran fitasas de tipo endógeno en el tracto gastrointestinal de varios animales, incluidos animales como los cerdos (Pointillart, 1994; y Kornegay, 1996),

aves (Maenz y Classen, 1998) y otras especies monogástricas (Pointillart, 1994b), pero con una muy escasa actividad fitásica. Se ha sugerido incluso, que esta actividad "fitásica" de la mucosa del intestino delgado puede ser simplemente una manifestación de la actividad de la fosfatasa alcalina (Pointillart, 1994).

1.6 TIPOS DE FITASAS

➤ **Fitasas endógenas de los vegetales**

Este tipo de fitasas se conocen desde hace mucho tiempo, siendo descubierta la primera fitasa de origen vegetal en el trigo (Peers, 1953) y posteriormente descubierta en gran cantidad de cereales y leguminosas. Las fitasas de origen vegetal pertenece al tipo 6- fitasa y se caracterizan por hidrolizar el ácido fítico, comenzando por el grupo ortofosfato situado en posición 6 de la molécula. Estas enzimas se llaman Mio-inositol hexafosfato hidrolasa, se encuentran en los granos de cereales y oleaginosas. Son débiles, tienen la máxima actividad a pH= 5.0 - 7.5 por lo que el pH del estómago o proventrículo (pH= 2 - 3), limita su actividad. Además tiende a ser inhibida por altas temperaturas (Méndez, 2010).

La actividad fitásica de estas enzimas se ha demostrado que varía considerablemente entre los diferentes granos según la especie vegetal que se considere en la comparación; e igualmente se ha demostrado que varía dentro de las distintas partes del grano correspondiente a una misma especie (Pointillart, 1994; Viveros et al., 2002).

Las fitasas de origen vegetal se encuentran preferentemente localizadas en las envolturas del grano, aunque también se hallan presentes en el endospermo; dependiendo la actividad fitasa intrínseca del tipo de alimento vegetal que se considere (Agte et al., 2005). Por esta razón, al analizar los subproductos provenientes de molinería (salvados), éstos exhiben altos niveles de actividad fitásica correspondientes a las fitasas vegetales (Pointillart, 1994).

➤ **Fitasas de origen microbiano producidas por la flora digestiva**

Numerosos hongos y microorganismos presentes en el tracto intestinal producen fitasas, sin embargo, en la mayoría de las especies monogástricas; como las aves y los cerdos, la actividad de la flora microbiana tiene lugar en el intestino grueso. A pesar de esto, las fitasas microbianas hidrolizan los fitatos y liberan el P

inorgánico, el animal no pueda beneficiarse ya que este P se excretará enteramente en las heces (Agte et al, 2005).

➤ **Fitasas de origen microbiano de producción industrial**

Liebertf et al. (2002), mencionan que hongos y bacterias son capaces de producir fitasas en condiciones naturales o de laboratorio. Las fitasas de origen fúngico son producidas por numerosas especies, siendo el género *Aspergillus spp* el principal microorganismo utilizado como fuente de producción de fitasas en la actualidad, sus enzimas son del tipo 3- fitasa.

El pH óptimo de estas fitasas se encuentra entre 2.5 y 7.5, siendo activas en un amplio rango de temperaturas entre 35 y 63°C. Y por lo tanto son los microorganismos de elección actualmente para la producción de fitasas comerciales (Kemme, 2000).

El *Aspergillus niger*, es el hongo más utilizado en la actualidad para obtener fitasas con fines comerciales. Produce 2 tipos de 3-fitasas; la A con dos pH óptimos de actividad (2.5 y 5.5) y la B cuyo pH óptimo se sitúa en torno a 2.0 a estos pH, la fitasa fúngica muestra actividad en el buche de las aves y en el estómago de los cerdos, pero sólo parcialmente en la parte proximal del intestino delgado debido a que en yeyuno e íleon, el pH está en torno a 6.5 y 7.6 que está fuera del rango óptimo para una acción eficiente de las fitasas. El proceso de digestión y de degradación de las fitasas por las enzimas digestivas se inicia en el duodeno, no se detecta degradación alguna en el píloro en cerdos ni en el contenido del intestino delgado de las aves (Rebollar et al; Donayre, 2010).

En un inicio la mayoría de las fitasas comerciales disponibles, se obtenían por fermentación de un *Aspergillus* genéticamente modificado¹, y una por extracción del medio de cultivo de un *Aspergillus* no modificado genéticamente²; encontrándose disponibles en polvo, gránulos o en forma líquida (Brenes et al., 2002).

La información genética usada para la obtención de las fitasas procede específicamente del *Aspergillus ficuum*, con posterior transferencia al *Aspergillus niger* o al *Aspergillus oryzae*, respectivamente (Brenes et al., 2002).

Recientemente, se ha investigado para lograr conseguir fitasas más estables al calor que puedan soportar altas temperaturas durante la granulación (Kornegay, 1999). En este sentido, una nueva fitasa genéticamente modificada³ desarrollada,

¹ Natuphos, Novo phytase y Finase

² Alltech phytase

³ Novo Nordisk y Roche

ha aparecido en el mercado. Es un enzima, del tipo 6-fitasa, más estable al calor que resiste temperaturas de 90 °C durante 30 segundos. Esta fitasa procede del hongo *Peniophora lycii* y está producida por fermentación sumergida de *Aspergillus oryzae* genéticamente modificado (Khan, 2000).

En la actualidad las fitasas de origen microbiano brindan una mayor cantidad de ventajas para su uso al presentar mayor estabilidad en pH bajos y soportar temperaturas elevadas sin perder sus propiedades, a los que son sometidos los alimentos balanceados para animales. Algunas bacterias utilizadas para la obtención de fitasas, destacan aquellas provenientes de *Escherichia coli*⁴, *Citrobacter braakii*⁵ y *Buttiauxella spp.*⁶ Cada fitasa ofrece beneficios en su uso e incluso proporciona diferentes presentaciones del producto comercial.

La utilización de las fitasas en la industria de alimentos balanceados, se ha visto favorecida por lo atractivo de sus precios (descenso de los costos de producción por la aplicación de nueva biotecnología), la mejora en la utilización de una variedad de nutrientes (minerales, aminoácidos, etc.), el aumento del rendimiento animal (carne y hueso) y la disminución del grado de daño ambiental (menor eliminación de excretas con elevado contenido de fósforo) (Brenes et al., 2002).

1.7 MODO DE ACCIÓN

Las fitasas liberan fósforo a partir de fitato y como resultado permiten reducir el uso de fuentes de fósforo inorgánicos en la ración. Como se elimina una mayor cantidad de fósforo a partir del fitato, hay una menor cantidad de minerales quelados, ya sea directamente o a través de puentes iónicos (Selle y Ravindran, 2007). Como resultado, el uso de la fitasa, puede directamente mejorar la digestibilidad no sólo de fósforo y cationes divalentes como Ca, Mg y Zn, sino también de energía y proteína. Recientemente se ha demostrado que en sí; un fitato en un antinutriente activo, y puede interactuar en el intestino de tal manera que puede estimular el sistema inmune intestinal e incrementar la producción y pérdidas de mucina (Cowieson et al., 2004). La destrucción del fitato reduce este efecto anti-nutricional directamente de manera proporcional, y como un resultado de la energía y los aminoácidos que se han utilizado en una actividad de mantenimiento pueden ser dirigidos hacia la energía productiva en su lugar; cabe señalar que este efecto de la fitasa es en su mayoría un efecto post-absorción.

⁴ Quantum Blue, ABVista Feed Ingredients

⁵ Ronozyme, DSM novozymes

⁶ Enzyme R&D, DuPont Industrial Biosciences

El desarrollo reciente de fitasas de origen microbiano ha mejorado significativamente la propuesta de valor para los pollos de engorda, en particular. Una dosis equivalente de una unidad 500 FTU de *E. coli* proporciona de 20-30 % más nutrientes que la misma dosis de una fitasa de *Aspergillus spp* (Augspurger et al., 2003) y su efecto es más consistente debido a su pH y una mayor estabilidad durante la digestión por pepsina en el tracto intestinal (Igbasan et al., 2000). Algunas fitasas de origen bacteriano se han mejorado aún más, ya sea por modificación genética para que sean aún más resistentes al calor durante el proceso de fabricación de alimentos balanceados. Actualmente se han disminuido significativamente los costos de estos productos para su empleo en la alimentación.

1.8 VALOR EN LA PRÁCTICA

La fitasa es muy diferente de las enzimas carbohidrasas para dietas de soya y de maíz en que la dosis utilizada en la práctica, incluso la de las fitasas de *E. coli* es muy inferior a la de la dosis biológica óptima. De hecho, el beneficio de esta enzima está relacionado linealmente con incrementos logarítmicos en dosis, es decir, el incremento en la digestibilidad del fósforo se duplica con un incremento de 10 veces en la dosis (Bedford, 2010).

A pesar de la extensión de las matrices nutricionales, de la mayoría de las fitasas, en mayor liberación de energía y aminoácidos, el incentivo económico para los fabricantes de alimentos para aumentar la dosis de fitasas no ha sido lo suficiente obvio. Es evidente que, con el aumento de costos de los ingredientes, tales principios están siendo reconsiderados. Un problema evidente en el uso de la fitasa en dietas al mínimo costo.

1.9 SUPERDOSIS

Este término se puede interpretar como un aumento moderado de los niveles de inclusión de fitasas, con el desplazamiento adecuado de varios nutrientes en la formulación de alimentos, por otro lado puede interpretarse como el uso de las fitasas por encima de la formulación o incluso puede considerarse como una estrategia más compleja que implica el uso de dosis altas de fitasa para llegar a sustituir harinas de origen animal (harina de pescado) de precios elevados, con alternativas como los ingredientes vegetales más baratos. Se han realizado diversas investigaciones y estudios comerciales que muestran que se puede ver un incremento de 4 a 5 puntos en los índices de conversión alimenticia corregida por peso en pollos de engorda, con niveles altos de fitasa (Bedford, 2010)

Utilizar una alta concentración de fitasa en las dietas, en busca de una rápida reducción de la concentración de fitato en el estómago o proventrículo, reduciendo así el efecto anti-nutricional. En este acercamiento, cuando se hidroliza el fitato se liberan las moléculas de fósforo que pueden ser absorbidas por los animales, esto es importante, ya que hay que ofrecer dietas que no sean limitantes en fósforo para tener la seguridad de que cualquier mejoría en el desempeño está relacionada con la reducción de los efectos anti-nutricionales del fitato y no a un aumento de la digestibilidad del fósforo. Este enfoque es lo opuesto a lo que normalmente se recomienda al comparar o a evaluar a las diferentes fitasas. En este caso, la enzima debe ser incluida en una dieta baja en fósforo, con la evaluación de la actividad enzimática a través del incremento en los parámetros de desempeño y cenizas en huesos como resultado de una alta digestibilidad del fósforo (Bedford, 2010).

De esta manera, es primordial recordar que se está tratando de lograr la máxima destrucción del fitato, de tal forma que el tipo de fitasas, niveles de dosificación y el contenido de fitato de la dieta van a tener un papel importante en la respuesta del desempeño (Wyatt et. al.,2013).

Con estos antecedentes, se planteó este estudio con pollitos en crecimiento para conocer la liberación de fósforo en relación a fosfato monodivalente en dietas sorgo + soya deficientes en fósforo disponible, mediante la suplementación de dos fitasas comerciales a la dosis recomendada y a superdosis.

2. JUSTIFICACIÓN

Las aves no son capaces de utilizar en su totalidad, solo aprovechan del 30-40 % del fósforo contenido en los ingredientes utilizados en dietas sorgo-soya y este nutriente es excretado al medio ambiente, representando un problema económico y ecológico.

Cuando se habla de disminuir el costo de las raciones, no solo se refiere a buscar el uso de ingredientes alternos sino de hacer más eficiente el uso de los mismos. El empleo de fitasas, es una herramienta que permite un mayor aprovechamiento del fósforo fítico en los vegetales, al liberar por hidrólisis este mineral a partir de los fitatos contenidos en el sorgo y la pasta de soya.

3. HIPÓTESIS

La inclusión creciente de fósforo inorgánico a partir de fosfato monodivalente en dietas sorgo-soya deficientes en fósforo para pollo de engorda, incrementa el crecimiento, eficiencia alimenticia, contenido de fósforo en tibias, % de cenizas en tibias y la resistencia ósea.

La adición de la dosis recomendada de una fitasa microbiana proveniente de *Citrobacter brakii* en dietas sorgo-soya deficientes en fósforo en pollos de engorda; mejora el crecimiento, eficiencia alimenticia, contenido de fósforo en tibias, % de cenizas en tibias y la resistencia ósea.

La adición de la dosis recomendada de una fitasa microbiana proveniente de *Escherichia coli* en dietas sorgo-soya deficientes en fósforo en pollos de engorda mejora el crecimiento, eficiencia alimenticia, contenido de fósforo en tibias, % de cenizas en tibias y la resistencia ósea.

El empleo de superdosis de las fitasas provenientes de *Citrobacter brakii* y *Escherichia coli* incrementa la respuesta en pollos: en el crecimiento, eficiencia alimenticia, contenido de fósforo en tibias, % de cenizas en tibias y la resistencia ósea.

La superdosis de las fitasas provenientes de *Citrobacter brakii* y *Escherichia coli*, liberan una mayor cantidad de fósforo fitico en dietas sorgo-soya deficientes en fósforo en pollos de engorda.

4. OBJETIVO GENERAL

Conocer la biodisponibilidad, de fósforo fítico en dietas sorgo-soya deficientes en fósforo para pollos de engorda con el empleo de dos fitasas comerciales.

4.1 OBJETIVOS PARTICULARES

Conocer la biodisponibilidad de fósforo en relación al fósforo aportado por fosfato monodivalente (FMD), mediante la ganancia de peso, eficiencia alimenticia, contenido de fósforo en tibias, % de cenizas en tibias y la resistencia ósea en tibias, utilizando diferentes dosis de fósforo inorgánico (0.0, 0.08, 0.16 y 0.24%) a partir de FMD para hacer una curva estándar en dietas sorgo-soya para pollo de engorda en crecimiento y con fitasas.

- Evaluar dos dosis comerciales de fitasa microbiana (*Citrobacter braakii*), en dietas sorgo soya deficientes en fósforo (0.15%) para estimar la cantidad de fósforo fítico que liberan.
- Evaluar dos dosis comerciales de fitasa microbiana (*Escherichia coli*), en dietas sorgo soya deficientes en fósforo (0.15%) para estimar la cantidad de fósforo fítico que liberan.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 UBICACIÓN DEL SITIO EXPERIMENTAL

El presente ensayo se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (C.E.I.E.P.Av.) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, el cual se localiza en la calle Manuel M. López S/N en la Colonia Santiago Zapotitlán, Delegación Tláhuac, Distrito Federal a un altura de 2300 msnm, en el paralelo 19° 18' latitud norte y el meridiano 99°02'30" longitud oeste. Bajo condiciones de clima templado húmedo Cw, siendo Enero el mes más frío y Mayo el mes más caluroso, su temperatura promedio anual es de 16° C y con una precipitación pluvial anual media de 747 mm. (INEGI, 2000)

5.2 ANIMALES Y CONDICIONES DE ALOJAMIENTO

Se utilizaron 8 tratamientos con tres repeticiones de 9 aves cada uno (27 animales por tratamiento), dando un total de 216 pollos de la estirpe Ross 308 de siete días de edad.

Las aves fueron alojadas en pisos de jaulas en baterías tipo Petersime, con calefacción eléctrica y temperatura regulada con termostato. Los pisos cuentan con el suficiente espacio para alojar 10 aves en cada una sin alterar el bienestar animal de acuerdo con los lineamientos de SICUAE FMVZ/UNAM, el alimento y el agua de bebida se ofrecieron a voluntad durante el periodo de 7 a 21 días de edad.

Todas las aves previamente:

- Del día 1 al día 7 de edad, se alimentaron con dietas sorgo-soya, formulada para cubrir todas las recomendaciones nutricionales de la estirpe en estudio.

5.3 TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES

Del día 7 al 21 de edad, se asignaron los pollitos completamente al azar, en 8 tratamientos como se señala a continuación.

- ❖ **Tratamiento 1: Dieta basal sorgo-soya, deficiente en fósforo disponible (0.15%).**
- ❖ Tratamiento 2: Como 1 + 0.08% de fósforo inorgánico a partir de FMD
- ❖ Tratamiento 3: Como 1 + 0.16% de fósforo inorgánico a partir de FMD
- ❖ Tratamiento 4: Como 1 + 0.24 % de fósforo inorgánico a partir de FMD
- ❖ Tratamiento 5: Como 1 + 500 FTU* de fitasa microbiana de *Citrobacter braakii*
- ❖ Tratamiento 6: Como 1 + 1000 FTU de fitasa microbiana de *Citrobacter braakii*
- ❖ Tratamiento 7: Como 1 + 500 FTU de fitasa microbiana de *Escherichia coli*
- ❖ Tratamiento 8: Como 1 + 1000 FTU de fitasa microbiana de *Escherichia coli*

*FTU= Cantidad de enzima necesaria para liberar 1 μmol de fósforo inorgánico por minuto en un pH de 5.5 a 37°C.

El contenido de fósforo disponible total para los tratamientos 1, 2, 3 y 4 fue de 0.15, 0.23, 0.31, y 0.39% de fósforo inorgánico respectivamente. En el Cuadro 3, se muestra la composición de la dieta basal empleada, a expensas de la celulosa utilizada como inerte se hicieron las adiciones de FMD y las fitasas.

CUADRO 3 COMPOSICION DE LA DIETA BASAL EXPERIMENTAL PARA POLLOS DE 7 A 21 DÍAS DE EDAD

INGREDIENTE	Kg
Sorgo	627.06
Pasta de Soya	327.13
Carbonato de Calcio	22.91
Aceite de soya	6.65
L-Lisina HCl	4.80
Sal	3.80
DL-Metionina	3.30
Celulosa	1.40
Cloruro de Colina 60%	1.00
Premezcla de vitaminas*	1.00
Premezcla de Minerales**	0.50
Bacitracina Zinc 10%	0.30
Antioxidante***	0.15
TOTAL	1000.00

Análisis calculado

Energía Metabolizable Kcal/kg	2950
Proteína cruda %	22.00
Fósforo disponible determinado %	0.15
Calcio total %	1.02
Metionina +Cistina Digestible %	0.92
Lisina Digestible %	1.39

*Premezcla de vitaminas por kg: Vitamina A 12,000,000 UI; Vitamina D3 2,500,000 UI; Vitamina E 15,000 UI; Vitamina K3 2,000mg/kg; Vitamina B1 2,250mg/kg; Vitamina B2 7,500mg/kg; Vitamina B3 45,000mg/kg; Vitamina B5 12,500mg/kg; Vitamina B6 3,500mg/kg; Vitamina B12 20mg/kg; Ácido Fólico 1,500mg/kg; Biotina 125mg/kg.

**Premezcla de minerales por 0.5kg: Yodo 300mg/kg; Selenio 200mg/kg; Cobalto 200 mg/kg; Hierro 50,000 mg/kg; Cobre 12,000 mg/kg; Zinc 50,000 mg/kg; Manganeso 110,000 mg/kg; Selenio 200 mg/kg.

***BHT (1.2%), BHA (9.0%) y Etoxiquin (4.8%).

5.4 MANEJO DE ANIMALES

Los pollos fueron pesados al inicio y al término del trabajo de investigación, llevándose además registro de consumo de alimento.

A los 21 días de edad, se sacrificaron el 60% de los animales; el método de sacrificio fue realizado como lo indica la norma NOM-033-ZOO-1995 y el panel de eutanasia 2000, por medio de la sujeción segura del animal y de inmediato la dislocación cervical de un solo movimiento para evitar dolor innecesario en los animales, se les extrajo la tibia izquierda y derecha, para determinar el contenido porcentual de cenizas, fósforo (AOAC, 2006) y la resistencia ósea (kg/cm^2) respectivamente. Para determinar la resistencia ósea, en la tibia se midió la fuerza para su rompimiento con la ayuda de un dinamómetro digital (IMADA MV 110). Este procedimiento se realizó, haciendo presión sobre la parte central del hueso hasta su rompimiento.

5.4 VARIABLES A ESTUDIAR

Las variables a estudiar fueron; ganancia de peso, eficiencia alimenticia, porcentaje de cenizas en tibias, porcentaje de fósforo inorgánico en tibias, resistencia ósea.

5.5 MODELO ESTADÍSTICO

Al final del experimento con los datos que se obtuvieron de ganancia de peso, eficiencia alimenticia, contenido de fósforo en tibias, % de cenizas en tibias y la resistencia ósea de las mismas, se realizaron análisis de varianza y la biodisponibilidad del fósforo se estimó con curvas estándar a través de regresiones lineales simples, utilizando un paquete computacional SSPS versión 16.0 ®, 2012 mediante el siguiente modelo:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X$$

Dónde:

Y = Variable de respuesta

β_0 = Ordenada al origen

β_1 = Coeficiente de regresión

X = % de Pi adicionado a la dieta

Para conocer el porcentaje de fósforo inorgánico liberado por las enzimas empleadas, se utilizaron las curvas estándar y se traspuso a la ecuación los valores obtenidos con las fitasas de la siguiente modelo:

$$X = (\beta_0 - Y) / \beta_1$$

Dónde:

X = % de Pi liberado por la enzima

β_0 = Ordenada al origen

Y = Ganancia de peso, eficiencia alimenticia, % de cenizas en tibias, % de fósforo en tibias, resistencia ósea de las mismas.

β_1 = Coeficiente de regresión

6. RESULTADOS

Los resultados promedio de ganancia de peso, que se obtuvieron durante los 14 días de experimentación se observan el Cuadro 4. Se aprecia que la suplementación de fósforo a partir de FMD o la suplementación de las fitasas mejoran la ganancia de peso. Se encontró una respuesta lineal ($P < 0.01$) en los tratamientos 1, 2, 3 y 4, esta respuesta en los niveles de fósforo en la ganancia de peso fue explicada por la ecuación $Y = 593.73 + 648.75x$ (Pi adicionado en la dieta).

CUADRO 4: Resultados de parámetros productivos (ganancia de peso) obtenidos de pollos de engorda (7-21 días de edad) en 14 días de experimentación.

TRATAMIENTO	Ganancia de peso (g)
1- Dieta basal sorgo-soya, deficiente en fósforo disponible (0.15%)	586 ^a
2- Como 1 + 0.08% de fósforo inorgánico a partir de FMD	649 ^{ab}
3- Como 1 + 0.16% de fósforo inorgánico a partir de FMD	713 ^b
4- Como 1 + 0.24% de fósforo inorgánico a partir de FMD	737 ^b
5- Como 1 + 500 FTU de fitasa microbiana de <i>Citrobacter braakii</i>	673 ^{ab}
6- Como 1 + 1000 FTU de fitasa microbiana de <i>Citrobacter braakii</i>	705 ^b
7- Como 1 + 500 FTU de fitasa microbiana de <i>Escherichia coli</i>	668 ^{ab}
8- Como 1 + 1000 FTU de fitasa microbiana de <i>Escherichia coli</i>	684 ^b
EEM	± 10.68

Diferente letra representa diferencia significativa ($P < 0.05$)

Al trasponer en la ecuación, los niveles de la fitasa microbiana proveniente de *Citrobacter braakii* a la concentración de 500 FTU, se encontró que esta liberó 0.12% de Pi. Con respecto a la fitasa microbiana procedente de *Escherichia coli* fue 0.11% de Pi ($P < 0.01$), como se muestra en la Figura 3.

En la Figura 4 se observa, empleando la misma ecuación de ganancia de peso, la cantidad de Pi liberado por las fitasas microbiana a una superdosis de 1000 FTU, donde la fitasa proveniente de *Citrobacter braakii* tuvo una liberación de 0.16% de Pi, mientras la fitasa procedente de *Escherichia coli* liberó 0.14% de Pi ($P < 0.01$).

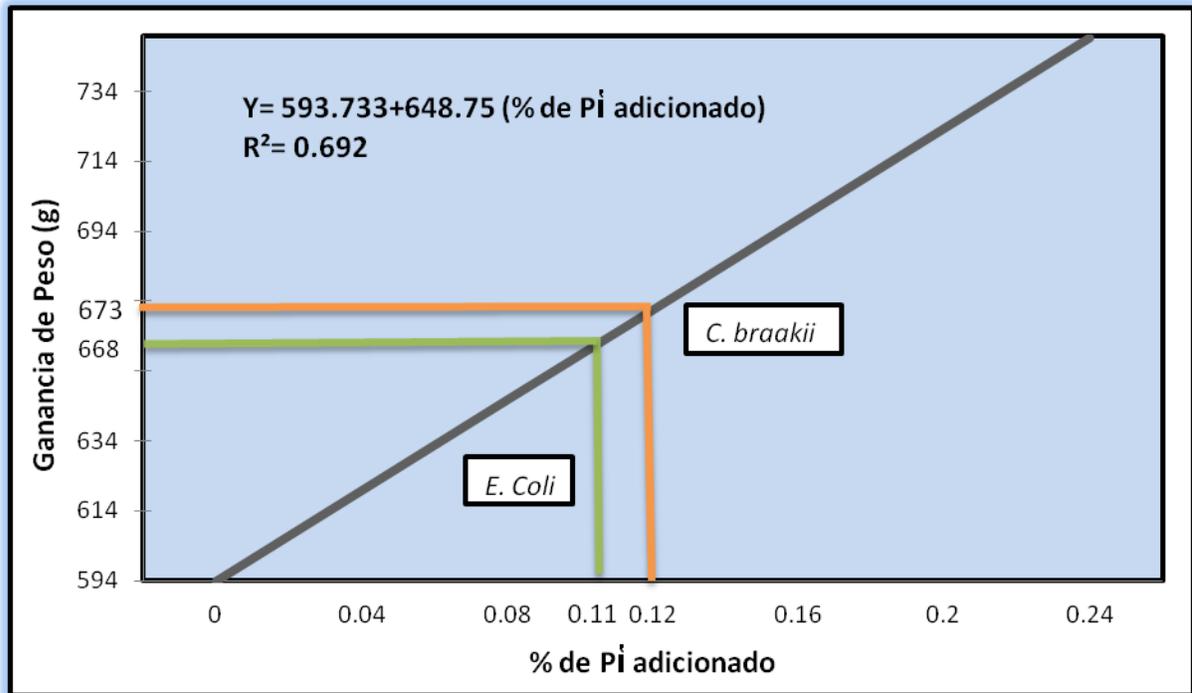


FIGURA 3: Porcentaje de Pi liberado con relación a la ganancia de peso de pollos, utilizando una dosis de 500 FTU de fitasas microbianas (*Citrobacter braakii* o *Escherichia coli*).

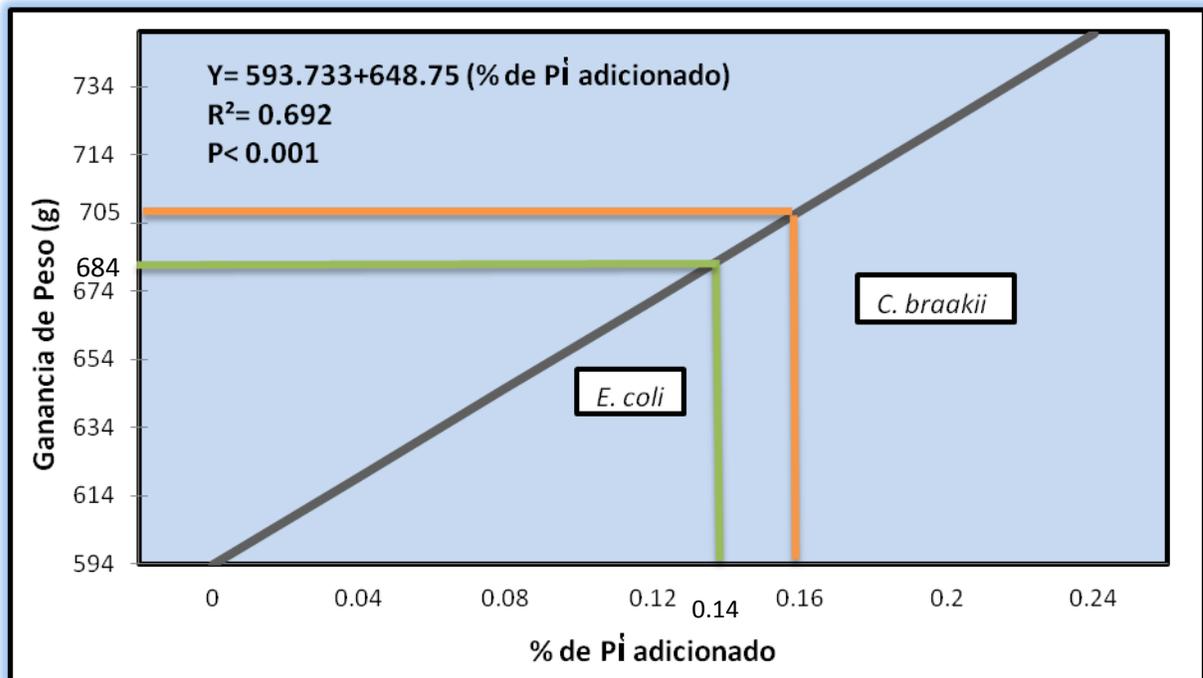


FIGURA 4: Porcentaje de Pi liberado con relación a la ganancia de peso de pollos, utilizando una superdosis de 1000 FTU de fitasas microbianas (*Citrobacter braakii* o *Escherichia coli*).

Los resultados promedio de la eficiencia alimenticia, que se obtuvieron durante los 14 días de experimentación se observan el Cuadro 5. Se aprecia que la suplementación de fósforo a partir de FMD o la suplementación de la fitasa mejoran la eficiencia alimenticia. Se encontró una respuesta lineal en los tratamientos 1, 2, 3 y 4, esta respuesta ($P < 0.01$) en los niveles de fósforo en la eficiencia alimenticia fue explicada por la ecuación $Y = 0.722 + 0.688x$ (Pi adicionado en la dieta).

CUADRO 5: Resultados de parámetros productivos (eficiencia alimenticia) obtenidos en pollos de engorda (7-21 días de edad) en 14 días de experimentación.

TRATAMIENTO	EFICIENCIA ALIMENTICIA (Kg:kg)
1- Dieta basal sorgo-soya, deficiente en fósforo disponible (0.15%)	0.69
2- Como 1 + 0.08% de fósforo inorgánico a partir de FMD	0.71
3- Como 1 + 0.16% de fósforo inorgánico a partir de FMD	0.73
4- Como 1 + 0.24% de fósforo inorgánico a partir de FMD	0.76
5- Como 1 + 500 FTU de fitasa microbiana de <i>Citrobacter braakii</i>	0.72
6- Como 1 + 1000 FTU de fitasa microbiana de <i>Citrobacter braakii</i>	0.75
7- Como 1 + 500 FTU de fitasa microbiana de <i>Escherichia coli</i>	0.72
8- Como 1 + 1000 FTU de fitasa microbiana de <i>Escherichia coli</i>	0.74
EEM	± 0.001

No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$)

Al trasponer en la ecuación, los niveles de la fitasa microbiana a la concentración de 500 FTU, *Citrobacter braakii* obtuvo una liberación de 0.11% de Pi y para la fitasa microbiana de *Escherichia coli* fue de 0.11% Pi (Figura 5).

En la Figura 6, se muestra el efecto de la adición de 1000 FTU de las fitasas microbianas con respecto a la eficiencia alimenticia, se observó un incremento de fósforo disponible de 0.06 unidades para la fitasa procedente de *Citrobacter braakii* obteniendo una liberación de 0.17% de Pi y 0.03 unidades para la fitasa de *Escherichia coli* teniendo un total de 0.14% de Pi.

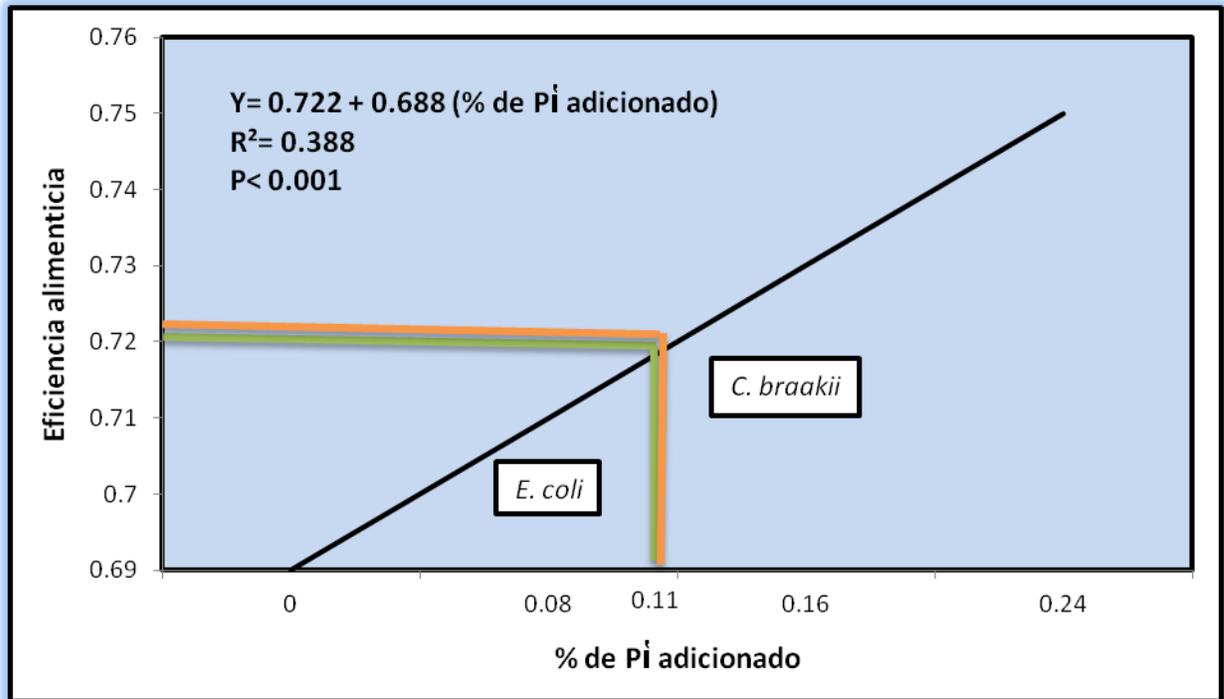


FIGURA 5: Porcentaje de Pi liberado con relación a la eficiencia alimenticia, utilizando una dosis de 500 FTU de fitasas microbianas (*Citrobacter braakii* o *Escherichia coli*).

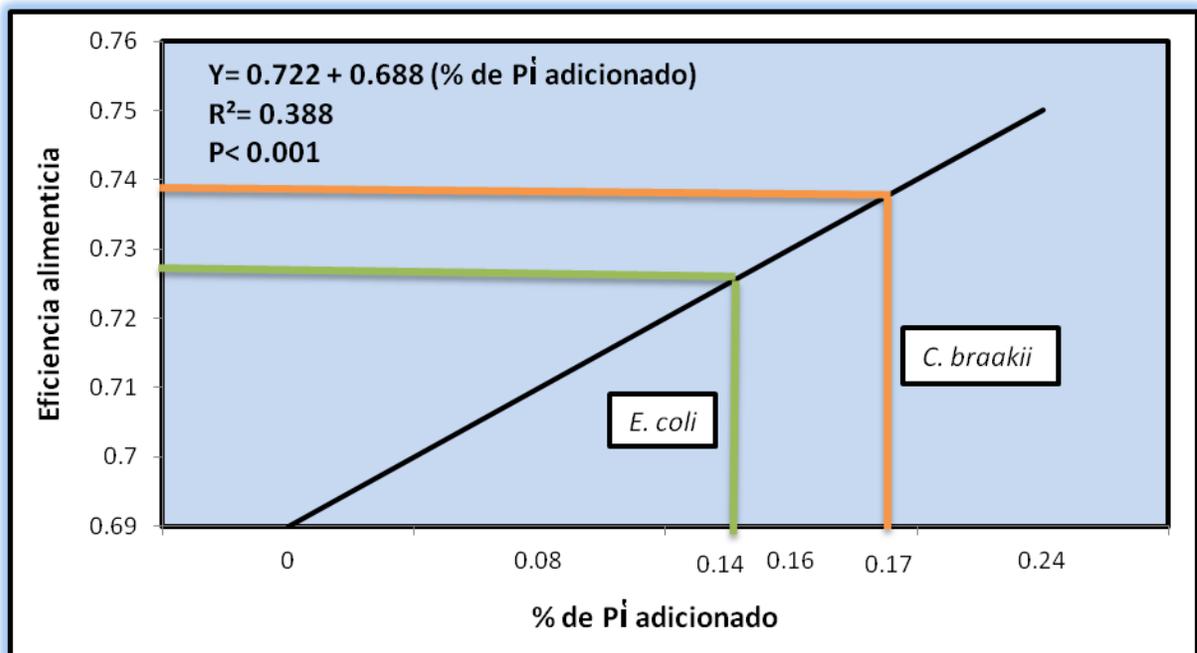


FIGURA 6: Porcentaje de Pi liberado con relación a eficiencia alimenticia, utilizando una superdosis de 1000 FTU de fitasas microbianas (*Citrobacter braakii* o *Escherichia coli*).

En el Cuadro 6, se muestran los resultados promedio del porcentaje de cenizas en tibias; donde se encontró una respuesta lineal a los diferentes niveles de fósforo a partir de FMD adicionados en la dieta ($P < 0.01$). Se observa que el porcentaje de cenizas aumenta con forme el porcentaje de fósforo en la dieta se incrementa; estos resultados fueron explicados por la siguiente ecuación: $Y = 43.993 + 24.429x$ (% Pi adicionado en la dieta).

CUADRO 6: Porcentaje de cenizas en tibias obtenidos de pollo de engorda (7-21 días de edad) en 14 días de experimentación.

TRATAMIENTO	% de Cenizas en Tibia
1- Dieta basal sorgo-soya, deficiente en fósforo disponible (0.15%)	42.78 ^b
2- Como 1 + 0.08% de fósforo inorgánico a partir de FMD	46.45 ^a
3- Como 1 + 0.16% de fósforo inorgánico a partir de FMD	48.62 ^a
4- Como 1 + 0.24% de fósforo inorgánico a partir de FMD	48.87 ^a
5- Como 1 + 500 FTU de fitasa microbiana de <i>Citrobacter braakii</i>	46.60 ^a
6- Como 1 + 1000 FTU de fitasa microbiana de <i>Citrobacter braakii</i>	48.71 ^a
7- Como 1 + 500 FTU de fitasa microbiana de <i>Escherichia coli</i>	46.50 ^a
8- Como 1 + 1000 FTU de fitasa microbiana de <i>Escherichia coli</i>	48.15 ^a
EEM	± 0.48

Diferente letra representa diferencia significativa ($P < 0.05$).

Al trasponer en la ecuación, la dosis de 500 FTU de la fitasa bacteriana procedente de *Citrobacter braakii*, se obtuvo una liberación de 0.11 % de Pi con respecto a la fitasa microbiana de *Escherichia coli* que fue de 0.10 % de fósforo inorgánico (Figura 7).

En la Figura 8, se muestra el efecto de la adición de 1000 FTU de las fitasas microbianas, se encontró que al incrementar la dosis, la cantidad de cenizas en tibias, fue equivalente a la liberación de 0.17% de Pi para la fitasa microbiana procedente de *Escherichia coli* y 0.19% para la fitasa microbiana procedente de *Citrobacter braakii*.

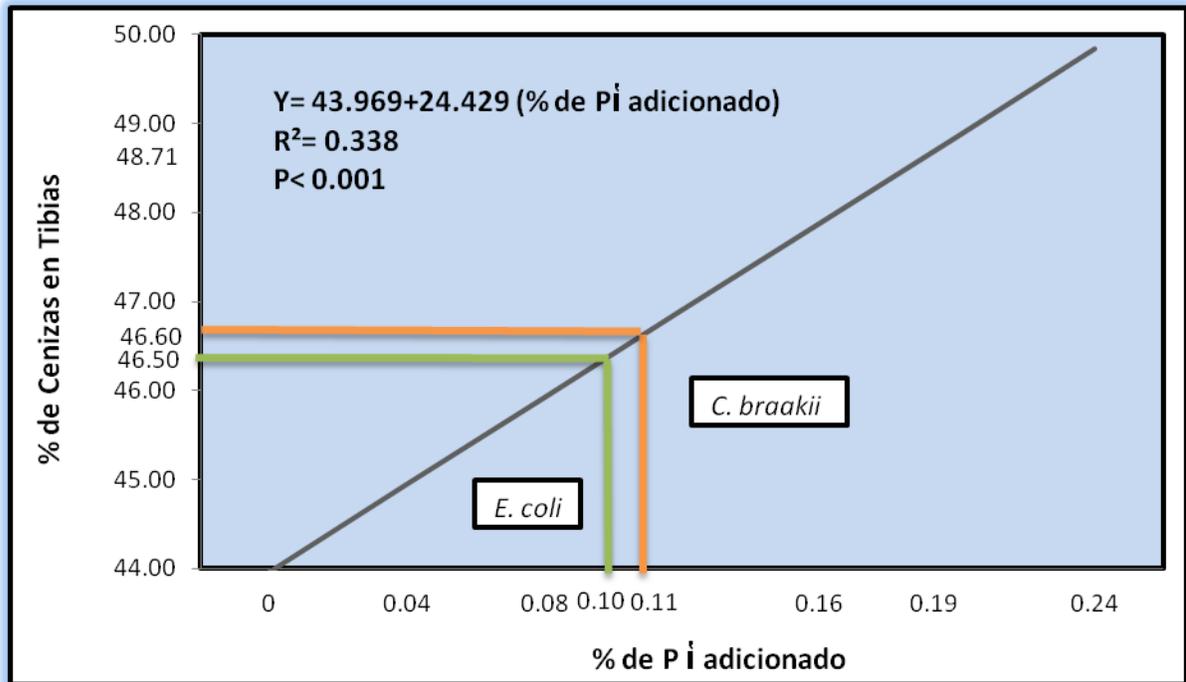


FIGURA 7: Porcentaje de Pi liberado con relación al porcentaje de cenizas en tibias utilizando una dosis de 500 FTU de fitasas microbianas (*Citrobacter braakii* o *Escherichia coli*).

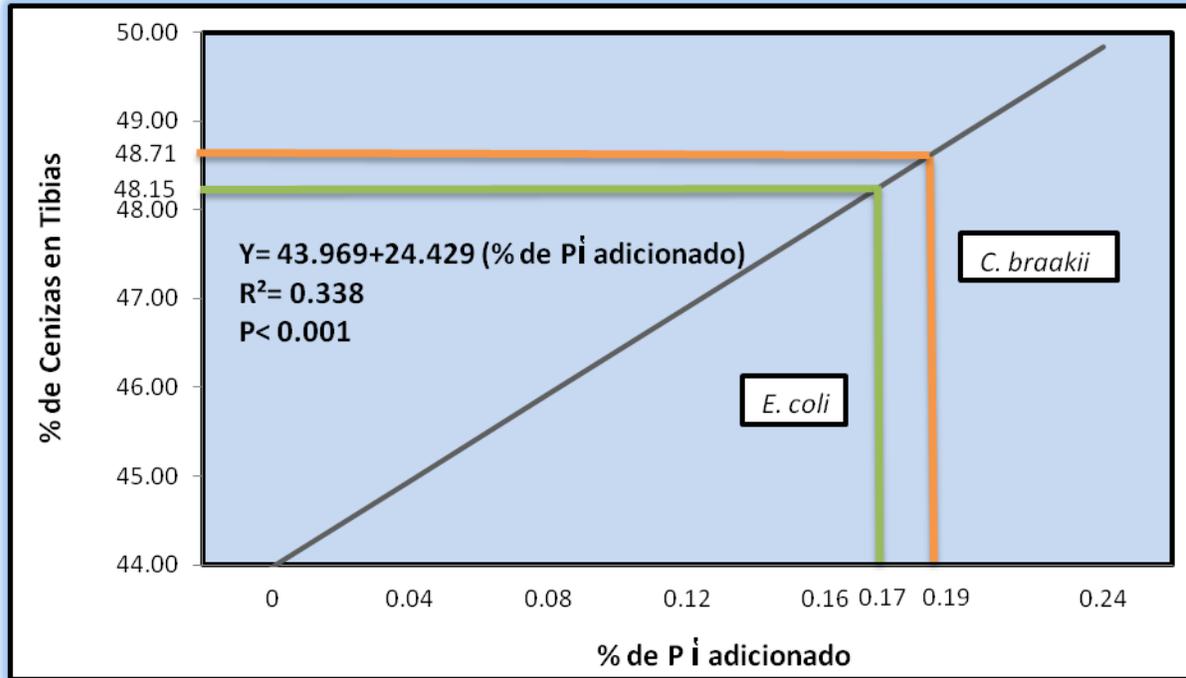


FIGURA 8: Porcentaje de Pi liberado con relación al porcentaje de cenizas en tibias utilizando una superdosis de 1000 FTU de fitasas microbianas (*Citrobacter braakii* o *Escherichia coli*).

Al analizar la cantidad de fósforo depositado en las tibias, se encontró que la dieta basal la cual no contenía fósforo inorgánico adicionado, obtuvo el porcentaje de fósforo inorgánico más bajo (7.07%), porcentaje que fue aumentando al incrementar la cantidad de Pi en la dieta a partir de FMD, obteniéndose con el tratamiento 4 (0.24% de Pi adicionado a partir de FMD) un 8.0% de fósforo en tibia (Cuadro 7). Estos resultados ($P < 0.01$) fueron explicados por la siguiente ecuación, donde el porcentaje de fósforo en tibias es $Y = 7.062 + 4.28x$ (% de Pi adicionado a la dieta). También se aprecia que la adición de fitasa a la dieta basal incremento el porcentaje de Pi en las tibias.

CUADRO 7: Porcentaje de fósforo inorgánico en tibias obtenidos de pollo de engorda (7 a 21 días de edad) en 14 días de experimentación.

TRATAMIENTO	% de Pi en Tibia
1- Dieta basal sorgo-soya, deficiente en fósforo disponible (0.15%)	7.07
2- Como 1 + 0.08% de fósforo inorgánico a partir de FMD	7.29
3- Como 1 + 0.16% de fósforo inorgánico a partir de FMD	7.95
4- Como 1 + 0.24% de fósforo inorgánico a partir de FMD	8.00
5- Como 1 + 500 FTU de fitasa microbiana de <i>Citrobacter braakii</i>	7.51
6- Como 1 + 1000 FTU de fitasa microbiana de <i>Citrobacter braakii</i>	7.82
7- Como 1 + 500 FTU de fitasa microbiana de <i>Escherichia coli</i>	7.43
8- Como 1 + 1000 FTU de fitasa microbiana de <i>Escherichia coli</i>	7.91
EEM	± 0.09

No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$)

Al comparar las dos fitasas, trasponiendo en la ecuación los valores encontrados de fósforo en las tibias, se encontró que al adicionar 500 FTU de la fitasa microbiana proveniente de *Escherichia coli* tuvo una liberación de fósforo de 0.09% y con la fitasa proveniente de *Citrobacter braakii* se obtuvo 0.11% (como se muestra en la Figura 9).

En la Figura 10, al incrementar la dosis a 1000 FTU de cada una de las fitasas, se aumentó la cantidad de Pi liberado, para la fitasa de *Escherichia coli* se liberó 0.18% Pi, mientras que para la fitasa proveniente de *Citrobacter braakii* se liberó 0.19% Pi.

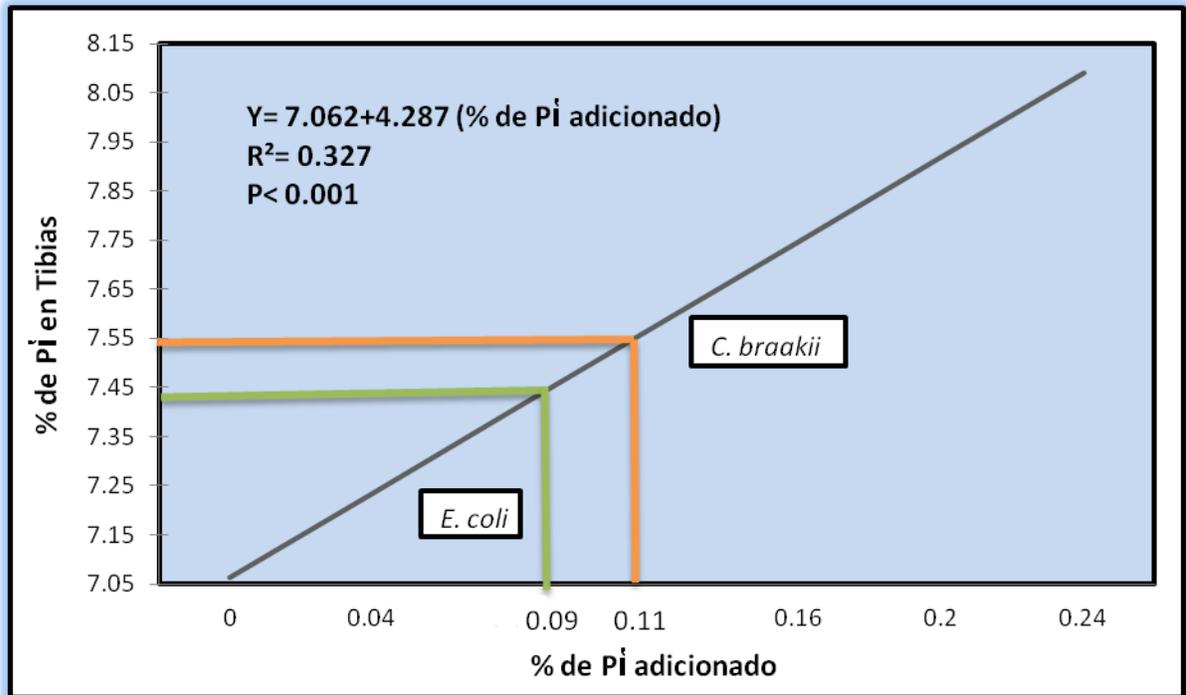


FIGURA 9: Porcentaje de Pi liberado con relación al porcentaje de Pi en tibias utilizando una dosis de 500 FTU de fitasas microbianas (*Citrobacter braakii* o *Escherichia coli*).

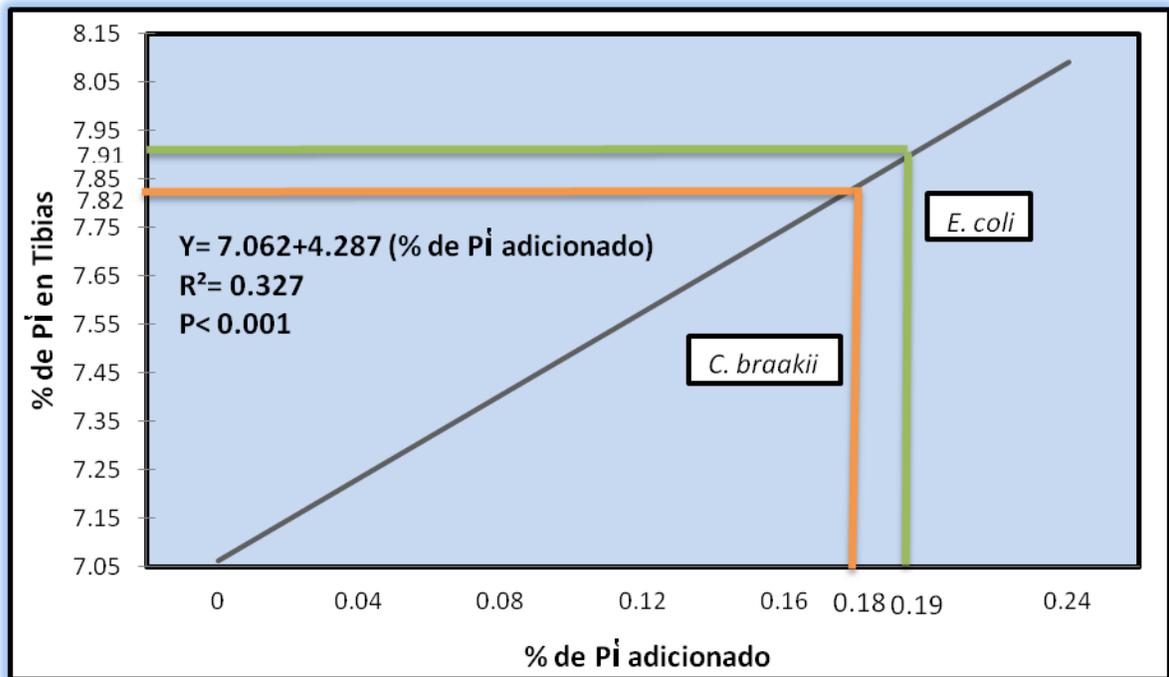


FIGURA 10: Porcentaje de Pi liberado con relación al porcentaje de Pi en tibias utilizando una superdosis de 1000 FTU de fitasas microbianas (*Citrobacter braakii* o *Escherichia coli*).

En el Cuadro 8, se observa la resistencia ósea que se obtuvo de las tibias, la cual aumentó al ir incrementándose los niveles de fósforo inorgánico a partir de FMD en la dieta basal ($P < 0.01$) con una respuesta lineal, los resultados se explican con la siguiente ecuación $Y = 10.14 + 54.156x$ (% Pi adicionado en la dieta).

CUADRO 8: Resistencia ósea (kg/cm^2) en tibias obtenidos de pollo de engorda (7 a 21 días de edad) en 14 días de experimentación.

TRATAMIENTO	Resistencia Ósea Kg/cm^2
1- Dieta basal sorgo-soya, deficiente en fósforo disponible (0.15%)	10.12 ^e
2- Como 1 + 0.08% de fósforo inorgánico a partir de FMD	14.45 ^d
3- Como 1 + 0.16% de fósforo inorgánico a partir de FMD	18.91 ^{bc}
4- Como 1 + 0.24% de fósforo inorgánico a partir de FMD	23.07 ^a
5- Como 1 + 500 FTU de fitasa microbiana de <i>Citrobacter braakii</i>	16.86 ^{bcd}
6- Como 1 + 1000 FTU de fitasa microbiana de <i>Citrobacter braakii</i>	19.68 ^{ab}
7- Como 1 + 500 FTU de fitasa microbiana de <i>Escherichia coli</i>	15.41 ^{cd}
8- Como 1 + 1000 FTU de fitasa microbiana de <i>Escherichia coli</i>	17.80 ^{bcd}
EEM	± 0.57

Diferentes letras representan diferencias significativas ($P < 0.05$)

Al trasponer en la ecuación, los valores con los niveles de la fitasa microbiana a la concentración de 500 FTU, *Citrobacter braakii* obtuvo una liberación de 0.12 % de Pi y para la fitasa microbiana de *Escherichia coli* fue de 0.10 % Pi (Figura 11).

En la Figura 12 aparece el efecto de la adición de 1000 FTU de las fitasas microbianas, en donde se observó que al incrementar la dosis, la resistencia ósea en tibias, fue equivalente a 0.14% de fósforo para la fitasa microbiana procedente de *Escherichia coli* y 0.18% para la fitasa microbiana procedente de *Citrobacter braakii*.

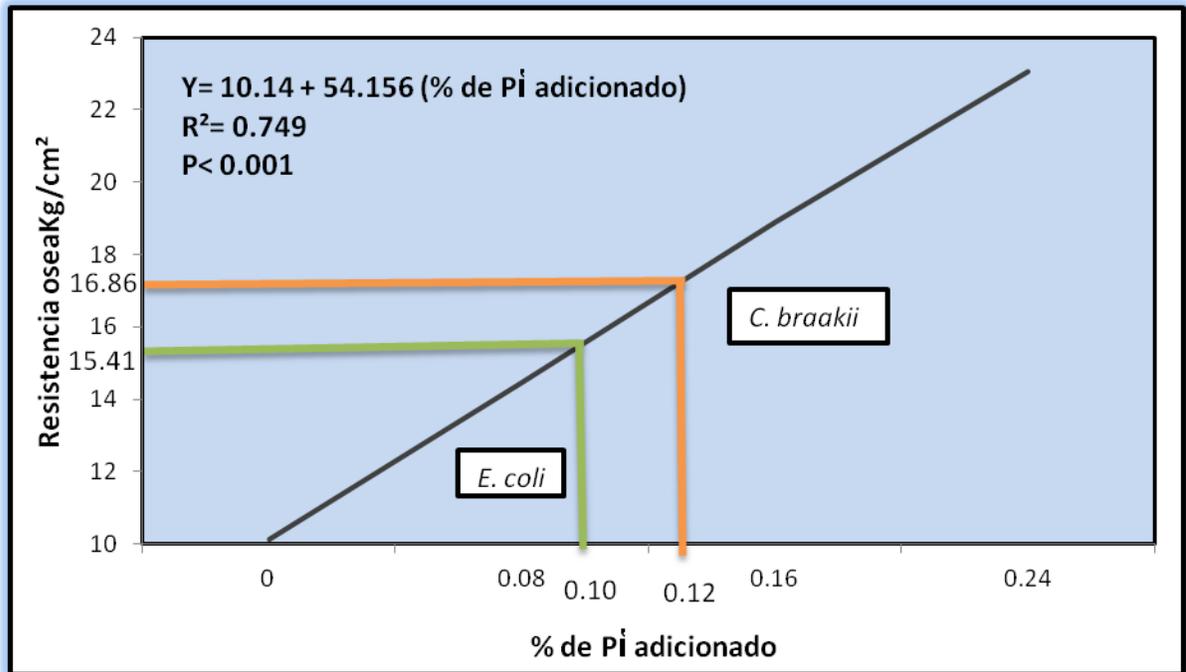


FIGURA 11: Porcentaje de Pi liberado con relación a la resistencia ósea, utilizando una dosis de 500 FTU de fitasas microbianas (*Citrobacter braakii* o *Escherichia coli*).

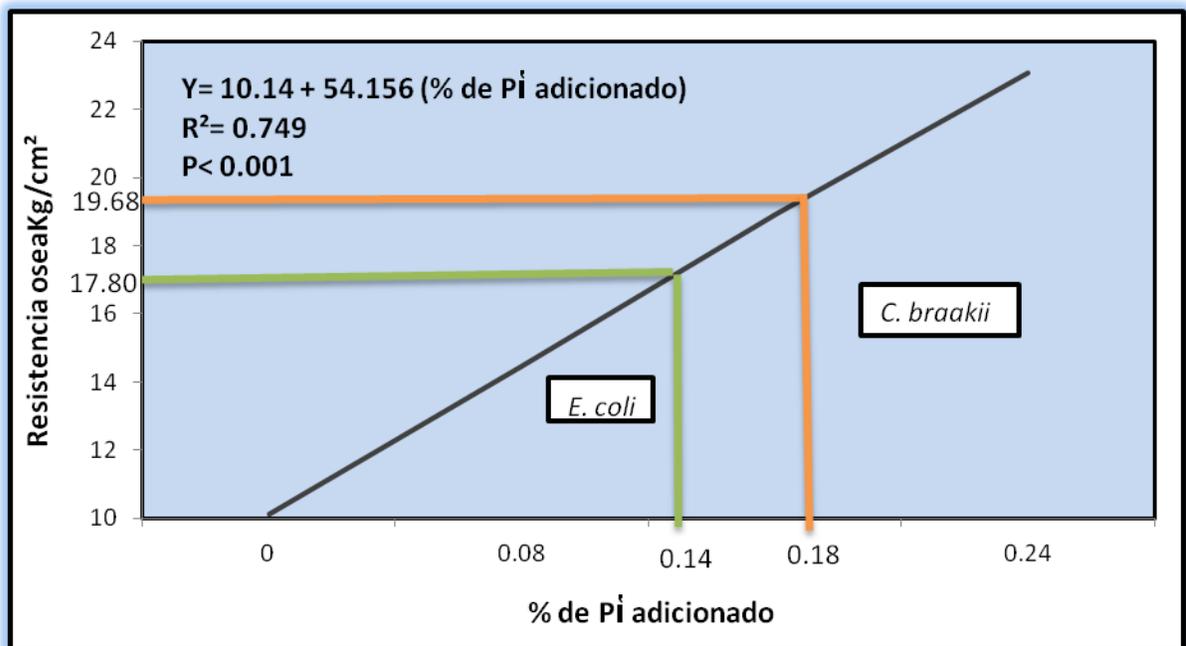


FIGURA 12: Porcentaje de Pi liberado con relación a la resistencia ósea, utilizando una superdosis de 1000 FTU de fitasas microbianas (*Citrobacter braakii* o *Escherichia coli*).

En el Cuadro 9, se presentan los promedios de los porcentajes de fósforo inorgánico liberados por las fitasas microbianas en las variables ganancia de peso, % de cenizas en tibias, % de Pi en tibias y resistencia ósea; se encontró que la fitasa microbiana procedente de *Citrobacter braakii* liberó en promedio 0.01% más de Pi que la de *Escherichia coli* en la dosis de 500 FTU. En las superdosis (Cuadro 10) aplicadas en la dieta se observa que la diferencia fue de 0.02% entre las fitasas empleadas, siendo mayor la cantidad de Pi liberado por la fitasa proveniente de *Citrobacter braakii*.

CUADRO 9: Porcentaje de fósforo inorgánico liberado por las fitasas de origen microbiano provenientes de *Citrobacter braakii* y *Escherichia coli*, en los parámetros evaluados en pollos de engorda en 14 días de experimentación utilizando una dosis de 500 FTU de fitasa por tonelada.

	DOSIS 500 FTU					
FITASA	GANANCIA DE PESO (g)	EFICIENCIA ALIMENTICIA Kg:Kg	% DE CENIZAS EN TIBIA	% DE Pi EN TIBIAS	RESISTENCIA ÓSEA Kg/cm ²	PROMEDIO
<i>Citrobacter braakii</i>	0.12	0.11	0.11	0.11	0.12	0.11
<i>Escherichia coli</i>	0.11	0.11	0.10	0.09	0.10	0.10

CUADRO 10: Porcentaje de fósforo inorgánico liberado por las fitasas de origen microbiano provenientes de *Citrobacter braakii* y *E. coli*, en los parámetros evaluados en pollos de engorda en 21 días de experimentación utilizando una superdosis de 1000 FTU de fitasa por tonelada.

	DOSIS 1000 FTU					
FITASA	GANANCIA DE PESO (g)	EFICIENCIA ALIMENTICIA kg:kg	% DE CENIZAS EN TIBIA	% DE Pi EN TIBIAS	RESISTENCIA ÓSEA Kg/cm ²	PROMEDIO
<i>Citrobacter braakii</i>	0.17	0.17	0.19	0.18	0.18	0.18
<i>Escherichia coli</i>	0.14	0.14	0.17	0.19	0.14	0.16

7. DISCUSIÓN

El fósforo contribuye con aproximadamente el 1% del peso vivo del animal y de esta cantidad 80-85% del fósforo presente en el organismo animal se localiza en el esqueleto como fosfato cálcico $[Ca_3 (PO_4)_2]$ e hidroxiapatita $[Ca_{10} (PO_4)_6(OH)_2]$ y 15-20% en forma orgánica en los tejidos muscular, nervioso y los eritrocitos. También, se necesita para la formación de fosfolípidos, que es una manera por la cual los ácidos grasos se incorporan a través de las membranas de las células y de los organelos. Además participa en el metabolismo de los hidratos de carbono y grasas; es constituyente de varios sistemas enzimáticos y forma parte de los ácidos nucleicos, que son componentes celulares esenciales para la síntesis de proteínas; y las sales amortiguadoras formadas de fósforo permiten el equilibrio ácido-base (Cuca et al, 2009). Por lo que este mineral es clasificado como esencial, por lo que un suministro inadecuado puede ocasionar disminución en el comportamiento productivo de las aves.

El contenido de fósforo en la dieta basal experimental que se empleó en el presente estudio fue de 0.15%, lo que afectó la ganancia de peso; conforme se aumentó la cantidad de Pi en la dieta, la ganancia de peso incrementó de manera gradual; efecto que describe de manera similar Broz et al. (2002) al evaluar este parámetro productivo con diferentes niveles de fósforo (menores a 0.45% Pi) en la dieta, las aves tuvieron un mayor consumo de alimento y mayor ganancia de peso al acercarse al requerimiento.

Driver et al. (2006) realizaron registros de ganancia de peso, consumo de alimento y eficiencia alimenticia a edades de 14 y 28 días de edad, utilizando dietas deficientes de fósforo (menores de 0.42%), los parámetros productivos mejoraron, a mayor cantidad de fósforo en la dieta y mayor utilización de la energía e incremento de la digestibilidad del almidón, así como el metabolismo del nitrógeno y por ende la utilización de la proteína dietética. Acosta (2008) obtiene resultados similares a los registrados en el presente estudio al utilizar dietas con fósforo disponible menor a 0.42%; al emplear dietas con bajas cantidades de fósforo disponible determinó, que un bajo nivel de fósforo disponible influye negativamente en el peso vivo y la ganancia de peso en los pollos de engorda.

El nivel óptimo biológico de fósforo disponible en la dieta para máxima ganancia de peso en el período de 1 a 21 días de edad sugerido por Julian y Summers (1985) y Perney et al. (1993), es de 0.46%. Este resultado es similar al 0.45%

sugerido por el NRC (1994), pero diferente a otros autores como Sainsbury (1992) y Ardón y Barillas (1995) quienes encuentran 0.5%, como el óptimo. Hay que tener presente que esta discrepancia se puede deber a que los últimos autores usaron roca fosfórica que quizá tuvo una menor disponibilidad de fósforo. Esto confirma que es necesario analizar aquellos factores que intervienen cuando se obtienen diferencias en los resultados y que quizás se deban, como lo mencionan Sauver y Pérez (1985), a las diferentes condiciones en que se llevan a cabo los experimentos, al tipo de pollos y a las fuentes de fósforo utilizadas.

El incremento que se mostró en el porcentaje de cenizas en tibias de pollo con diferentes niveles de fósforo inorgánico incluido, sugirieron un incremento en su mineralización por este elemento, la relación que se obtuvo en el porcentaje de cenizas y el fósforo incluido en la dieta es de gran utilidad para mostrar la retención de fósforo en los huesos; resultados similares mostraron entre otros Martínez (2006) y Beltrán (2000) y destacan la importancia del fósforo para evitar raquitismo.

Al reducir los niveles de fósforo inorgánicos en la dieta, disminuye la resistencia a la rotura y el porcentaje de cenizas en tibias, esto debido a que el 80% del fósforo total del organismo es depositado en tejido óseo: en donde, entre otras funciones, participa en la formación, mantenimiento y cambios en su estructura (Settle, 2010), dándole así al hueso características como dureza y resistencia ósea, datos que coinciden con los obtenidos por Frost y Roland (1991). Por otro lado Applegate (2003) reporta animales con problemas en patas en dietas deficientes en fósforo (0.30%) señala que su deficiencia puede causar discondroplasia tibial en los pollos de engorda.

No se observaron signología de raquitismo por deficiencia de fósforo inorgánico en los pollos empleados en el presente estudio, alimentados con los niveles por debajo a 0.45% de fósforo inorgánico, debido a que los primeros siete días de edad se les proporcionó una dieta balanceada que cubrió las recomendaciones nutricionales que establece el manual de manejo de la estirpe que se utilizó durante la investigación, datos que difieren de lo obtenido por distintos autores (Edwards, 1993; Ardon, 1995); donde mencionan elevada mortalidad (53%) y problemas de raquitismo a finales de la tercera semana al emplear dietas con menor cantidad de fósforo disponible desde el día uno de vida de las aves utilizadas en su estudio.

Se encontró que el peso, porcentaje de cenizas en hueso y porcentaje de fósforo inorgánico en tibias con respecto a la resistencia del hueso, es una herramienta también para medir la liberación de fósforo por las fitasas.

Los resultados mostraron que la adición de fitasas microbianas procedentes de *Citrobacter braakii* o *Escherichia coli* mejoraron la biodisponibilidad del fósforo proveniente del fósforo fítico de la pasta de soya y el sorgo que se emplearon en las dietas experimentales, esto indica que las fitasas hidrolizaron el fósforo fítico haciéndolo más disponible para los pollos, resultados similares reportan muchos autores entre otros Kornegay y Sebastian (1996).

Méndez (2010) reporta la utilización práctica de 500 FTU lo equivalente a 100 gramos del producto comercial por tonelada de alimento, con esto se puede reducir el aporte de fósforo disponible en 0.1%.

Hadden (2009) obtiene resultados similares en peso al evaluar 500 FTU en alimentos de pollos de engorda, la liberación de nutrientes fueron 0.13% tanto para calcio como para fósforo disponible. Sin embargo para las fitasas fúngicas que normalmente son formuladas a niveles de 500 – 750 FTU, el nivel de liberación es muy inferior demostrando la superior eficiencia de las fitasa bacterianas. Al adicionar fitasas en los alimentos balanceados es usual reformular la dieta al considerar los nutrientes liberados por la enzima. En el caso de las fitasas el principal cambio se hace con los niveles de calcio y fósforo, esto determina el costo: beneficio de la fitasa.

Se encontraron diferencias en la cantidad de fósforo liberado entre las fitasas empleadas. Las fitasas que se evaluaron en el presente estudio son de última generación derivadas de bacterias, el carbono del anillo inositol donde comienza la desfosforilación es en 6-fitasa, la mayor actividad de la fitasa en un pH óptimo de 2-4, la fitasa derivada de *E. coli* no cuenta con recubrimiento, por otro lado la fitasa derivada de *Citrobacter braakii* cuenta con recubrimiento característica que puede explicar la diferencia en las unidades de fósforo liberado entre ellas.

El uso de una superdosis de fitasa incrementó la ganancia de peso, el porcentaje de cenizas en tibia, porcentaje de fósforo en tibias y la resistencia ósea; resultados similares describen Shirley y Edwards (2003) demostrando la capacidad de una fitasa cuando se utiliza en altas dosis de inclusión para mejorar el rendimiento respecto a un alimento control.

Cunha (2012) reporta que normalmente la tasa estándar de inclusión de fitasas en dietas para pollo de engorda es de 500 FTU. Considerando los precios actuales de las fuentes de fósforo utilizadas en la actualidad la tasa económica óptima de inclusión de fitasas es de 1000 FTU.

Shaw et al. (2011) Mencionan que al evaluar una dosis de 500 FTU de una fitasa microbiana en dietas con 0.22% de Pi obtuvieron un incremento en la ganancia de peso, y la mineralización en tibias, al aumentar la dosis a 1000 FTU la cantidad de fósforo que liberó la enzima aumento en 0.07%, obteniéndose resultados muy similares a los encontrados en el presente estudio. Los mismos autores utilizaron una tercera dosis de fitasa microbiana de 2000 FTU con la misma cantidad de fósforo en la dieta (0.22%) sin obtener diferencias significativas entre esta dosis y la utilización de 1000 FTU.

El término de superdosis se puede interpretar como un aumento moderado de los niveles de inclusión de fitasa, con el desplazamiento adecuado de varios nutrientes en la formulación de alimentos, por otro lado puede interpretarse como el uso de la fitasa por encima de la formulación o incluso puede considerarse como una estrategia más compleja que implica el uso de dosis altas de fitasa para llegar a sustituir como fuente de fósforo harinas de origen animal costosas, con alternativas a ingredientes vegetales más baratos. Se han realizado diversas investigaciones y estudios comerciales que muestran que se puede ver una mejoría de 4 a 5 puntos en los índices de conversión alimenticia corregida por peso en pollos de engorda, con niveles altos de fitasa (Bedford, 2010). En este estudio se incrementó un 62.5% para la fitasa proveniente de *Citrobacter braakii* y 61.5% para la fitasa proveniente de *Escherichia coli*, la eficiencia de fósforo a partir del fitato, al aumentar la dosis de 500 FTU a 1000 FTU.

Utilizar una alta concentración de fitasa en las dietas, en busca de una rápida reducción de la concentración de fitato en el estómago o proventrículo, reduciendo así el efecto anti-nutricional. En este acercamiento, cuando se hidroliza el fitato se liberan más moléculas de fósforo que pueden ser absorbidas por los animales, esto es importante, más fósforo mejora el desempeño y está relacionada con la reducción de los efectos anti-nutricionales del fitato y no a un aumento de la digestibilidad del fósforo. Este enfoque es lo opuesto a lo que normalmente se recomienda al comparar o a evaluar a las diferentes fitasas. En este caso, la enzima debe ser incluida en la dieta, la enzima mejorará el desempeño y cenizas en huesos como resultado de una alta digestibilidad del fósforo (Bedford, 2010).

De esta manera, es primordial recordar que se está tratando de lograr la máxima hidrólisis del fitato, de tal forma que el tipo de fitasas, niveles de dosificación y el contenido de fitato de la dieta van a tener un papel importante en la respuesta del desempeño (Wyatt et. al.,2013).

8. CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos en el presente estudio y las condiciones experimentales empleadas, se puede concluir lo siguiente:

- La inclusión de fósforo inorgánico en dietas deficientes de este nutriente para pollos de engorda de 7-21 días de edad, como era de esperarse incrementó la ganancia de peso, el porcentaje de cenizas en tibias, el porcentaje de fósforo en tibias y la resistencia en hueso.
- La adición de la fitasa microbiana procedente de *Citrobacter braakii* a la dosis de 500 FTU liberó 0.11 % de fósforo disponible en la dieta.
- La superdosis de 1000 FTU de fitasa proveniente de *Citrobacter braakii*, incrementó 62% más de fósforo disponible (de 0.11% incrementó a 0.18% de Pí), con base en la ganancia de peso, porcentaje de cenizas en tibias, porcentaje de fósforo en tibias y la resistencia ósea, en dietas sorgo-soya para pollo de engorda de 7-21 días.
- La adición de la fitasa microbiana procedente de *Escherichia coli* a la dosis de 500 FTU liberó 0.10 % de fósforo disponible en la dieta.
- La superdosis de 1000 FTU de fitasa proveniente de *Escherichia coli*, la cantidad de fósforo liberado se incrementó a 0.16%, aumentaron 61% más de fósforo disponible, con base en la ganancia de peso, porcentaje de cenizas en tibias, porcentaje de fósforo en tibias y la resistencia en huesos en dietas sorgo-soya para pollo de engorda de 7-21 días.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- ACOSTA A. Evaluación de una fuente de fósforo nacional y enzimas fitasas en la respuesta productiva-metabólica de pollos y gallinas ponedoras. Tesis de grado Doctorado en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana Cuba, 2008 pp. 89-99.
- 2- AGTE, V., JAHAGIRDAR, M. Y CHIPLONKAR, S. Apparent absorption of eight micronutrients and phytic acid from vegetarian meals in ileostomized human volunteers. USA. Edit. Nutrition 2005; Vol. 21. Pp 678-685.
- 3- ANDERSON, R.J. Contribution to the chemistry of phytin. *J. Biol. Chem.*, 1994, 17-171.
- 4- APPLGATE T. Water soluble phosphorus in fresh broiler litter is dependent upon phosphorus concentration fed but not on fungal phytase supplementation. *Poult Sci.* 82:1024; 2003.
- 5- ARDON G.A; BARILLAS A. Efecto del nivel de fósforo en la ganancia de peso de pollos de engorda. Tesis profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chapingo, México, 1995.
- 6- Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. AOAC Int., Gaithersburg, MD., 2006
- 7- AUMAN, S.K Increasing Dietary Phosphorus Retention and Decreasing Fecal Phosphate Excretion in Modern Commercial Broilers. Disertación doctoral. North Carolina State University. North Carolina, 2003. Pp 179.
- 8- AUGUSPURGER N.R. WEBEL D.M. Efficacy of an E. coli phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in Young chicks and pigs. *J An Sci* 81; 474-483. 2003.
- 9- BARRIENTOS, L.; SCOTT, J.J.; MURTHY, P.P.N., Specificity of Hydrolysis of Phytic Acid by Alkaline Phytase from Lily Pollen. *Plant Physiology*, 106: 1489-1495, 1994.
- 10-BEDFORD, M.R. and PARTRIDGE, G.G. (2010). Enzymes in Farm Animal Nutrition. Wallingford, Oxon, UK, CABI Publishing.
- 11-BELTRAN L.J. Estimación del nivel de fósforo con y sin adición de fitasa; *Archivo Latinoamericano. Producción animal.* 2000; 8 (1): 1-7.
- 12-BRENES, J., VIVEROS, A., Y BRENES, A. (2002) Los enzimas en nutrición porcina (II) *Producción Animal.*, 181, 4-18
- 13-BROZ. Feeding strategies to reduce phosphorus excretion in poultry. Germany 2002.
- 14-CORTÉS, C.A., ÁVILA GE. Evaluación de la presencia de una fitasa microbiana (*Peniophora lycii*) en dietas sorgo-soya deficientes en fósforo,

- para los pollos de engorda, sobre la digestibilidad ileal de proteína, aminoácidos y energía metabolizable. *Revista Veterinaria México*, 38(1) 2007.
- 15-COWIESON A.J., Bedford M.R. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chicken. 2004
 - 16-CUCA G.M., ÁVILA G.E., PRO M.A. Alimentación de las aves. Universidad Autónoma de Chapingo; México, 2009.
 - 17-CUCA G.M., DE LA ROSA C.G., PRO M.A. Disponibilidad del fósforo de la pasta de soya y sorgo-gluten de maíz, adicionadas con fitasas en pollo de engorda en iniciación. *Técnica Pecuaria*; México 2003.
 - 18-CUNHA M. Aplicación de enzimas en alimentos balanceados y su desempeño productivo en aves. XXXVII Convención Nacional ANECA 2012; 2012.
 - 19-DONAYRE, J. ¿Cómo elegir Fitasa? – Un nuevo enfoque dentro de la Formulación de Raciones. Promoción y Desarrollo – Química Suiza S.A .2010
 - 20-DRIVER J.; ATENCIO A.; EDWARDS H.; PESTI G. Improvements in nitrogen corrected apparent metabolizable energy of peanut meal in response to phytase supplementation. *Poult Sci.* 85:96.
 - 21-EDWARDS H.M. Dietary 1,25 dihydroxicholecalciferol supplementation increases natural phytate phosphorus utilization in chickens. *J.Nutr* 123:562. 1993.
 - 22-FEDNA. Fundación Española para el Desarrollo de la nutrición Animal. Tablas de ingredientes para piensos; fosforo. Noviembre 2012 (citado enero 2013). Disponible en: <http://fundacionfedna.org>
 - 23-FRONTALA, C., ROS, G. Y MARTÍNEZ, C. Empleo de fitasas como ingrediente funcional en alimentos. Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo, Murcia, España. 2010.
 - 24-FROST TJ; ROLAND S.R. The influence of various calcium and phosphorus levels on tibia strength and eggshell quality of pullets during peak production. *Poult. Sci*, 1991; 70: 963-969.
 - 25-GERHARD N.L. Obtención de enzima fitasa a partir de una cepa del hongo *Aspergillus ficuum*, por medio de la fermentación en sustrato sólido y sumergido. Tesis de grado. Universidad Austral de Chile. Valdivia- Chile. 2006.
 - 26-GREINER, R., KONIETZNY, U. Y JANY K.-D. (1993) Purification and characterization of two phytases from *Escherichia coli*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 260, 215-221.
 - 27-IBM®SPSS® STATISTICS, VER. 17.0©COPYRIGHT.2007.

- 28-Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Tláhuac: cuaderno de información básica delegacional. INEGI, México 1992.
- 29-IRVING, G.C. J. y COSGROVE, D.J. (1972) Inositol phosphate phosphatases of microbiological origin: the inositol pentaphosphate products of *Aspergillus ficuum* phytases. *J. Bacteriol.*, 112, 434-438.
- 30-JULIAN J.R; SUMMERS J; WILSON J.B. Righth ventricular failure and ascities in broiler chickens caused phosphorus-deficient diets. *Avian Diseases*, 1985; 30: 453-459.
- 31-KEMME, P. 2000. Phytate and phytases in pig nutrition. PhD Thesis. Agricultural University of Wageningen, Países Bajos. pp 32-38.
- 32-KHAN, N. Properties and performance of phytase from *Peniophora lycii*. In: 3rd Abstracts of lectures and posters. European Symposium on Feed Enzymes: 35. Noordwijkerhout, the Netherlands. 2000.
- 33-KORNEGAY, E.T. Y QIAN, H. Replacement of inorganic phosphorus by microbial phytase for young pigs fed on a maize-soybean-meal diet. *Br. J. Nutr.*, 76, 563-578. 1996.
- 34-KORNEGAY, E. T. Application of phytase for retention of nonphosphorus nutrients. *Proc. 46th Maryland Nutr. Conf.*, pp. 83-103. 1999.
- 35-LASSEN, S.F., BREINHOLT, PETER, J., ØSTERGAARD, R., BRUGGER, R., BISCHOFF, A., WYSS, M. Y FUGLSANG, C.C. (2001) Expression, Gene Cloning, and Characterization of Five Novel Phytases from Four Basidiomycete Fungi: *Peniophora lycii*, *Agrocybe pediades*, a *Ceriporia* sp., and *Trametes pubescens*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, 4701–4707.
- 36-LIEBERT, F., WECKE, C. y SCHÖNER, F. 2002. 1st Symposium on Enzymes in Animal Nutrition. Ed. C. Wenk y M. Boessinger. Karthause Ittingen, Suiza. pp: 202-205.
- 37-MAENZ, D.D. Y CLASSEN, H.L. (1998) Phytase activity in the small intestinal brush border membrane of the chicken. *Poult. Sci.*, 77, 557-563.
- 38-MARTÍNEZ, A.C, PARSONS C.M, BAKER DH. Effect of microbial phytase and citric acid on phosphorus bioavailability, apparent metabolizable energy and amino acid digestibility in distillers dried grains with splubles in chicks. *Poult. Sci.* 2006; 85: 470-475.
- 39-MARTÍNEZ, J.L. Aspectos fundamentales de las fitasas. Investigación Científica de la Universidad de Aguascalientes. 2013. No. 57 pp. 58-63.
- 40-MARTÍNEZ R.I. Evaluación del efecto de una fitasa y ácido láctico en dietas a base de sorgo y pasta de soya sobre la utilización de fósforo, calcio y zinc en gallina de postura. Tesis de grado. UNAM, FMVZ. México D.F. 2013.
- 41-MATEOS, J. et al. El fósforo en nutrición animal. Necesidades, valoración de materias primas y mejora de la disponibilidad. Consultas y Servicios

- Agropecuarios, S.L. Departamento de Producción Animal. ETSIA, UPM. XV Curso de Especialización, avances en nutrición y alimentación animal.
- 42-MCDOWELL, L.R. Minerals in Animal and Human Nutrition. Ed. McDowell Academic Press, New York. 1992 pp. 27-77.
- 43-MÉNDEZ, J. Fitasas en avicultura. Consultas y Servicios Agropecuarios, S.L. Departamento de Producción Animal. ETSIA, UPM. XIV Curso de Especialización, avances en nutrición y alimentación animal. FEDNA 2007: 12-22.
- 44-MÉNDEZ, J., Avances en nutrición y alimentación animal. España: COREN S.C.L. Ourense, 2007.
- 45-MÉNDEZ, J. Fitasas en avicultura. XIV Curso de Especialización. Avances en nutrición y alimentación animal. 2010 <http://www1.etsia.upm.es>.
- 46-MENDEZ J. Fitasas en la avicultura. XIV Curso de Especialización. Avances en la Nutrición y Alimentación Animal. 2008.
- 47-NRC (1994) Nutrient requirements of poultry. 9th revised ed. National Research Council, National Academy Press, Washington D.C.
- 48-PEERS, F.G. (1953) The phytase of wheat. *Biochem. J.*, 53, 102-110.
- 49-PEÑAFIEL H. H. Uso de fitasas en la producción de pollo broiler. Tesis de grado de Ingeniero Agronomo. Escuela Superior Politécnica de Chimboraza, Riobamba Ecuador, 2012.
- 50-PERNEY K.M, CANTOR A.H, STRAW M.L, HERKELMAN K.L. The effect of dietary phytase on growth and phosphorus utilization of broiler chick. *Poult. Sci* 1993; 72: 2106-2114.
- 51-POINTILLART, A. (1994). Phytates, phytases: leur importance dans l'alimentation des monogastriques. *INRA Prod. Anim. Nutr.*, 68, 1-9.
- 52-REBOLLAR, P.G, et al. El fósforo en nutrición animal. Necesidades, valoración de materias primas y mejora de la disponibilidad. Consultas y Servicios Agropecuarios, S.L. Departamento de Producción Animal. ETSIA, UPM. XV Curso de Especialización, avances en nutrición y alimentación animal. FEDNA 1999: 16-64.
- 53-REBOLLAR, P. Y MATEOS, G. El fósforo en nutrición animal. Necesidades, valoración de materias primas y mejora de la disponibilidad. XV Curso de Especialización, avances en nutrición y alimentación animal. <http://www.ucv.ve>. 2010.
- 54-RIGON, M.; GREINER, R.; RODRIGUEZ, J.; WOICIECHOWSKI, A.; PANDEY, A.; THOMAZ, V.; SOCCOL, C., Phytase production using citric pulp and other residues of the agroindustry in SSF by fungal isolates. *Food Technology Biotechnology*, 46(2): 178–182, 2007.
- 55-ROBINSON, D. (1991) Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos Ed. Acibia, Zaragoza 531 pp.

- 56-ROMERO, C.; SALAS, M.; GARCÍA, A.C.; MENDOZA, G.; PLATA, F.X.; CERVANTES, M.; VIANA, T.; MORALES, A., Efecto de una fitasas en la digestibilidad y actividad de la tripsina y quimiotripsina en cerdos destetados. *Archivos de Zootecnia*, 58(223): 363-369, 2008.
- 57-ROSTAGNO, H. S., Tabela Brasileira para aves e suínos – Composição de alimentos e exigências nutricionais. 2ª Edição, 2005
- 58-Sacrificio humanitario de los animales domesticos y silvestres. Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995.
- 59-SAEZ P.J. (2003) Utilización digestiva de dietas con distintos niveles de inclusión de harina de lupino (*Lupinus albus*) en juveniles de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Tesis de grado Esc. de acuicultura y Cs. Veterinarias. Facultad de Ciencias. Univ. Católica de Temuco. Temuco, 69 pp.
- 60-SAINSBURY D. Poultry health and management. 3rd ed. Blackwell Scientific Publication Malden MA. 1992.
- 61-SAUVEURB, PEREZ J.M. Alimentación mineral de los animales monogástricos: cerdos, conejos y aves. INRA. Mundi-Prensa. Madrid España. P 43. 1985.
- 62-SELLE P.H. Microbial phytase in poultry nutrition, *Anim Feed Sci Technol*, 135 1-41. 2007.
- 63-SELLE P.H, CANDOGAN D.J, BRYDE W.L. Implications of sorghum in broiler chicken nutrition. *Anim Feed Sci, Technol* 2010; 156(3): 54-57.
- 64-SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S.; CHAVEZ, E. Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry in nutrition: A review. **World Poults**. *Sci. J.* 54:27-47. 1998.
- 65-SHAW A.L, HESS J.B, BLAKE J.P. Assessment of an experimental phytase enzyme product on live performance, bone mineralization and phosphorus excretion in broiler chickens. *Poult. Sci.* 2011; 20: 561-566.
- 66-SHIRLEY R.B, EDWARD H.M Jr. Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. *Poult. Sci.* 2003; 82: 671-680.
- 67-SOTELO, Á.; MENDOZA, J.; ARGOTE, R.M., Contenido de ácido fítico en algunos alimentos crudos y procesados. Validación de un método colorimétrico. *Revista de la Sociedad de Química de México*, 43(4): 301-306, 2002.
- 68-THOMLINSON, R.V. y BALLOU, C.E. (1962) *myo*-Inositol polyphosphate intermediates in the dephosphorylation of phytic acid by phytase. *Biochemistry.*, 1,166-171.
- 69-TURNER, B., PAPHÁZY, M.J., HAYGARTH, P.M. y MCKELVIE I.D. (2002) Inositol phosphates in the environment. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, 357, 449–469

- 70-VAN DER KAAJ, J. y VAN HAASTERT, P.J. (1995) Stereospecificity of inositol hexakisphosphate dephosphorylation by *Paramecium* phytase. *Biochem. J.*, 312, 907-910.
- 71-VIVEROS, A., ARIJA, I., CENTENO, C. Y BRENES, A. Efecto de la administración de fitasas de origen vegetal y microbiano sobre la utilización del fósforo en pollos broilers. Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Ciudad Universitaria, Madrid. 2002.
- 72-WYATT F.A. Superdosis de fitasas en dietas para aves. Ab Vista NAFTA.
- 73-WYSS, M., BRUGGER, R., KRONENBERG, A., REMY, R., FIMBEL, R., OESTERHELT, G., LEHMAN, M. Y VAN LOON, A. P.G.M. (1999a) Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 367-373.

10. ANEXOS

10.1 FICHA TÉCNICA DE FITASA *Citrobacter braakii*

Opción ideal para alimentos peleteados ya que constituye la fitasa de mayor termoestabilidad disponible (hasta 95°C). Posee propiedades de manipulación superiores, libre de polvo ya que los gránulos están recubiertos con la enzima distribuida dentro de la matriz, con una excelente fluidez y capacidad de mezclado.

BENEFICIOS

- ✓ Liberación consistente del P del fitato que reduce la necesidad de otras fuentes de P para cubrir los requerimientos de los animales.
- ✓ Fuente de P con la mejor relación costo-beneficio para un negocio sustentable.
- ✓ Reduce la contaminación del suelo por P proveniente de la degradación de fitato no digerido en áreas intensivas de producción animal.

DESCRIPCIÓN

Presentación física: Granular y líquida.

RECOMENDACIONES DE USO

- Pollos, Pavos, Patos y Lechones: Añadir directamente al alimento o vía pre-mezcla 100g./ton (500 FTU).
- Gallinas de Postura: Añadir directamente al alimento o vía pre-mezcla 60g./ton (300 FTU).
- Superdosis recomendada: el doble de la cantidad antes mencionada.

Liberación de fósforo disponible 0.15% (500 FTU) y 0.18% (1000 FTU)



10.2 FICHA TÉCNICA DE FITASA *Escherichia coli*

Fitasa mejorada de última generación desarrollada para usarse en alimentos para animales. Enzima que degradará el fitato que se encuentra en los ingredientes vegetales, liberando fósforo que de otra forma sería indisponible. Esta también facilitará la liberación de iones de calcio (y otros minerales) que podrían normalmente quelatarse con el fitato y por lo tanto no ser disponibles para su absorción.

BENEFICIOS

- ✓ Mayor actividad de la fitasa dentro de la zona de pH óptimo (2-4)
- ✓ Alta afinidad por el sustrato por lo tanto una mayor hidrólisis del fitato
- ✓ Mayor termo tolerancia intrínseca, sin recubrimiento para una liberación más rápida
- ✓ Ofrece la mayor liberación de fósforo disponible, calcio y sodio del mercado

DESCRIPCIÓN

- Presentación física: Granular y líquida
- Embalaje: Bolsas de diferente pesaje
- Características: Producto granular de color café claro
- Actividad mínima garantizada: Producto con 5000 FTU/g
- Almacenamiento: Temperatura ambiente a 23°C; 12 meses
- Recomendaciones de estabilidad: Se recomienda no exceder la temperatura del acondicionador y peletización por arriba de 90°C, en la presentación granular. Si la temperatura es mayor, aplicar en forma líquida post-peleteo.

RECOMENDACIONES DE USO

- Pollos, Pavos, Patos y Cerdos: Añadir directamente al alimento o vía pre-mezcla 100g./ton (500 FTU).
- Gallinas de Postura: Añadir directamente al alimento o vía pre-mezcla 60g./ton (300 FTU).

Liberación de fósforo disponible 0.15% (500 FTU)



10.3 COSTO-BENEFICIO

La cantidad de fósforo inorgánico que liberó cada una de las fitasas comerciales en las dos dosis estudiadas, representa una reducción del costo de producción del pollo al disminuir la cantidad de fosfato monodivalente en la dieta.

Tipo fitasa	% de Pi liberado promedio	Kg de FMD/ton
<i>Citrobacter braakii</i>	0.11	5.24
<i>Escherichia coli</i>	0.10	4.76
<i>Citrobacter braakii</i>	0.18	8.57
<i>Escherichia coli</i>	0.16	7.62