

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

UTILIZAÇÃO DE FITASE EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE

Rafael Fontana Abs da Cruz

**Porto Alegre
2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

UTILIZAÇÃO DE FITASE EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE

Autor: Rafael Fontana Abs da Cruz

Monografia apresentada à Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial à obtenção da Graduação em Medicina Veterinária

**Orientador: Sergio Luiz Vieira
Coorientador: Liliane Borsatti**

Porto Alegre

2013/1

Agradecimentos

Aos meus pais, Ricardo e Vianeis, e as minhas irmãs, Gabriela e Paula, por todo o amor, carinho, paciência e apoio que me deram durante esta jornada. Agradeço especialmente os meus pais, pois, sem os seus esforços e sacrifícios eu não teria chegado aqui.

Ao professor Sergio Luiz Vieira, que me orientou parte da minha vida acadêmica, pelos ensinamentos, pela paciência e pelas orientações tanto para a graduação quanto para o mercado de trabalho.

À Faculdade de Veterinária e à UFRGS por ter proporcionado ensino gratuito e de qualidade.

Aos colegas de faculdade, por todas as horas boas e difíceis que passamos juntos.

Ao Aviário de Ensino e Pesquisa por ter se tornado minha segunda casa e por ter me apresentado a tantas pessoas especiais durante a minha graduação.

Aos meus colegas de estágio da pós-graduação Giovani Farina, Cesar Pontin, Barbara Mallmann, Rafael de Barros, André Favero, Diogo Taschetto, Daniel Antonioli, Catarina Stefanello; e da graduação Natacha, Gabriela, Silvana, Fúlvio, Jolvane, Guilherme, Henrique, Heitor e Natália pelo espírito de time e pela amizade.

À Liliane Borsatti pela ajuda e por aceitar ser co-orientadora deste trabalho.

Agradeço à Kahena por me apresentar o Leonardo, meu gatinho de estimação.

UTILIZAÇÃO DE FITASE EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE

Resumo

O fitato ou ácido fítico (hexafosfatado de mio-inositol) é a maior forma de estocagem de fósforo (P) na maioria das plantas. O P fítico está presente em grande quantidade nas paredes celulares dos grãos, mas é pouco aproveitado pelos monogástricos. A suplementação de P em dietas para aves é justificável, pois as aves não são capazes de hidrolisar o P fítico. A fitase é uma enzima capaz de desdobrar esta molécula, disponibilizando o P contido no fitato. Desta forma, é reduzida a inclusão de fontes inorgânicas de P na dieta e, conseqüentemente, o excesso deste na cama. O ácido fítico, através de pontes iônicas, tem a capacidade de quelar minerais, proteínas/aminoácidos e amido, causando um impacto negativo na digestibilidade destes nutrientes. A importância da sustentabilidade na produção animal cresceu nos últimos anos, tornando a fitase indispensável para a diminuição da concentração de P em mananciais e aquíferos. A fitase tem demonstrado ser economicamente, ecologicamente e nutricionalmente viável em dietas para frangos de corte.

Palavras-chave: Ácido fítico; fitato; fósforo.

PHYTASE UTILIZATION IN BROILER DIETS

Abstract

Phytate or phytic acid (myo-inositol hexakisphosphate) is the major storage form of Phosphorus (P) in most plants. The phytic P is present in large quantity in cell walls of grains, but it is not well utilized by monogastrics. P supplementation in poultry diets is justifiable, because poultry is not capable of hydrolyze phytic P. Phytase is an enzyme capable of hydrolyzing this molecule, providing the P restrained in phytate. Therefore, inclusion of inorganic sources of P in diets is reduced, thereafter excess of this mineral in litter. Phytic acid, through ionic bridges, is capable of forming complexes with minerals, protein/amino acids and starch, causing negative impacts on nutrients digestibility. The importance of sustainability in animal production grew in recent years, making phytase indispensable in order to reduce P concentration in watershed and aquifers. It has been proved that phytase is economically, ecologically and nutritionally viable in poultry diets.

Keywords: *Phytic acid; phytate; phosphorus.*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	ÁCIDO FÍTICO	8
2.1	Terminologia	8
2.2	Estrutura	8
2.3	Consequências do Ácido Fítico em Dietas para Aves	9
2.3.1	Efeitos na utilização de nutrientes.....	9
2.3.2	Efeitos no meio ambiente.....	10
3	FITASE	11
3.1	Histórico	11
3.2	Fontes de Fitase	11
3.2.1	Vegetal.....	11
3.2.2	Microbianas.....	11
3.3	Sítios de atividade	12
3.4	Hidrólise da Molécula de Ácido Fítico	13
3.4.1	Fatores que Afetam a Hidrólise de Ácido Fítico	13
3.4.1.1	Minerais.....	13
3.4.1.2	pH.....	14
4	IMPACTO DA UTILIZAÇÃO DE FITASE NO DESEMPENHO DE AVES	15
5	IMPACTO DA UTILIZAÇÃO DE FITASE NA DIGESTIBILIDADE DE PROTEÍNA/AMINOÁCIDOS	16
6	IMPACTO DA FITASE NO APROVEITAMENTO DE ENERGIA	17
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	18
	REFERÊNCIAS	19

1. INTRODUÇÃO

O fitato ou ácido fítico (hexafosfatado de mio-inositol) é a maior forma de estocagem de fósforo (P) na maioria das plantas, sendo abundante nas sementes (YI-FANG ZENG, 2011). O Fósforo fítico (P Fit.) está presente em grande quantidade nas paredes celulares dos grãos, mas é pouco aproveitado pelos monogástricos.

A baixa digestibilidade do P fit. aumenta o custo de produção, pois se faz necessária a adição de outra fonte de fósforo disponível na formulação de rações para que as exigências nutricionais do frango sejam alcançadas. Além do aumento de custo, a baixa digestibilidade do fitato causa um grande impacto ambiental (MAENZ, 2001).

A presença de fitato na ração de frangos traz um grande impacto negativo na digestibilidade de diversos nutrientes. O Ácido fítico forma complexos de sais insolúveis com cátions (KUMAR, 2009). Os principais cátions indisponibilizados são minerais e aminoácidos, que diminuem significativamente suas digestibilidades e aumentam a excreção para o ambiente.

Para que ocorra o desdobramento do anel de mio-inositol e a utilização deste P fit. é necessário a utilização da enzima fitase, na qual não ocorre a produção pelos monogástricos ou esta é inexpressiva (SILVA et al., 2005). As fitases podem se diferenciar de acordo com o sítio inicial da hidrólise do fitato, sendo 6-fitase mais encontrado em plantas e 3-fitase produzidas por fungos.

Devido aos benefícios desta enzima tem-se utilizado largamente na indústria de frangos, sendo seu uso viável economicamente, ambientalmente e nutricionalmente (SILVA, 2008).

2. ÁCIDO FÍTICO

2.1 Terminologia

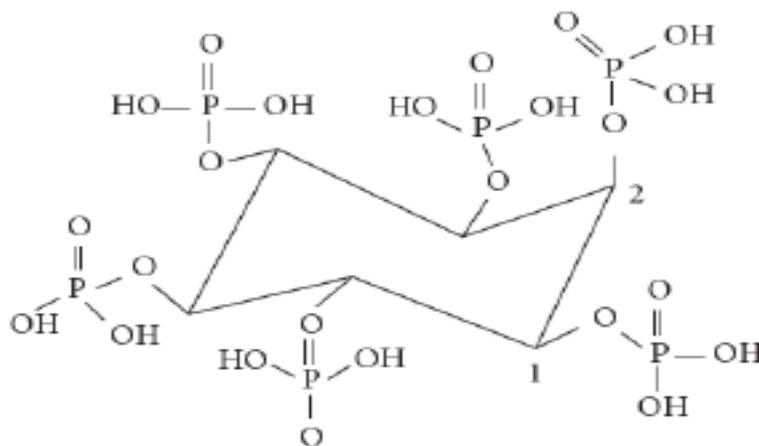
Existem três terminologias utilizadas para definir o substrato da fitase: fitato, fitina e ácido fítico. O fitato refere-se ao sal de ácido fítico (hexafosfato de mio-inositol; IP6). A fitina refere-se especificamente ao complexo de IP6 com potássio, magnésio e cálcio que ocorre em plantas, sendo o ácido fítico a forma livre de IP6 (SELLE & RAVIDRAN, 2007). No entanto, o termo fitato é utilizado, na área zootécnica, independentemente de sua forma (livre ou complexada) (NAVES, 2012).

2.2 Estrutura

Estruturalmente o ácido fítico consiste de um anel de mio-inositol completamente fosforilado. A estrutura desta molécula é compatível com uma alta capacidade de formar quelatos cátions multivalentes. Cheryan (1980) concluiu que ácido fítico forma complexos rapidamente, sendo o Zn^{2+} o complexo mais estável e seguido por Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} e Fe^{2+} em ordem decrescente de estabilidade. Ainda segundo este autor, o complexo depende de três fatores: (1) Concentração de ácido fítico; (2) concentração do mineral e (3) pH da solução.

O fitato possui cinco grupos fosfatos ligados equatorialmente ao mio-inositol (Figura 1). Segundo Lei e Porres (2003), há apenas um grupo fosfato ligado axialmente (C2), sendo este resistente a hidrólise enzimática, pois há preferência pelas enzimas dos grupos ligados equatorialmente.

Figura 1: Estrutura do ácido fítico na conformação de cadeira



Fonte: QUIRREMBACH *et al*, 2009

O total de P fit. armazenado nas sementes varia conforme a espécie, clima, solo, adubação, idade e estágio de maturação do vegetal e melhoramento genético (NAVES, 2012). A Tabela 1 apresenta a quantidade de P total, P fit e a relação entre P fit. e fosforo disponível nos ingredientes utilizados nas dietas para frangos de corte.

Tabela 1 Ocorrência do P nos ingredientes utilizados na ração de frangos de corte

Ingrediente	% P total ²	% P fit. ²	% P fit. □ P dis. ³
Farelo de Arroz	1,67	1,43	85,6
Farelo de Arroz desengordurado	1,89	1,61	86,5
Milho	0,25	0,19	76,0
Farelo de Soja (45% PB ¹)	0,56	0,34	60,7
Farelo de Soja (48% PB ¹)	0,63	0,39	61,9
Soja integral tostada	0,52	0,33	63,4
Sorgo	0,26	0,18	69,2
Farelo de Trigo	0,97	0,64	65,9

¹ PB – Proteína bruta. ² Valores em matéria natural. ³ P dis. – Fósforo disponível calculado ou estimado. Adaptado de Rostagno *et al* (2011).

2.3 Consequências do ácido fítico em dietas para aves

2.3.1 Efeitos na utilização de nutrientes

O ácido fítico possui alto potencial para complexar nutrientes (íons e moléculas). O número de cargas iônicas no fosfato de mio-inositol influencia sua capacidade complexante e a desprotonação dos grupos fosfatos está intimamente ligada ao pH na qual a molécula se encontra (NAVES, 2012). O fitato forma complexos com cátions multivalentes, formando quelatos insolúveis quando em pH neutro (SELLE & RAVIDRAN, 2007). Os complexos formados são devido a carga negativa que o fitato se encontra, sendo os minerais catiônicos divalentes (Zn²⁺, Cu²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Mn²⁺, Ca²⁺ e Fe²⁺) os mais susceptíveis (KORNEGAY, 2001). A complexação ao fitato está diretamente relacionada ao grau de fosforilação do anel de mio-inositol (NAVES, 2012). Quanto maior o grau de fosforilação (forma hexafosfórica; IP6), maior será seu poder de formar quelatos e, conseqüentemente, menor será a absorção de nutrientes. Aproximadamente 90% dos anéis de mio-inositol presente nas sementes na forma hexafosfórica, sendo os outros 10% as frações penta, tetra e trifosfórica (NAVES, 2012).

Segundo Selle e Ravidran (2007), o fitato pode formar complexos insolúveis com aminoácidos/proteínas e amido, além dos minerais já citados. O desempenho das aves pode ser comprometido devido a dificuldade de absorção no intestino dos nutrientes complexados (LEI & PORRES, 2003).

2.3.2 Efeitos no meio ambiente

O fósforo presente nos dejetos de animais é a principal fonte de contaminação de rios e lagos nos Estados Unidos (DANIEL *et al.*, 1998). Em regiões que a produção animal ocorre de forma intensiva, o P presente nas excretas dos animais são incorporados a terra, podendo facilmente exceder a capacidade desta de absorver o mineral. Este excesso de fósforo no solo pode, através das chuvas, ser levado para lagos e rios, sendo que pequenas distâncias agravam a poluição por P (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001). Este excesso de P acelera a eutrofização, que resulta em aumento de algas e morte dos peixes (SARPLEY, 1999).

Simons *et al.* (1990) demonstraram o potencial da fitase microbiana ao combinar 1500 FTU kg⁻¹ com reduções de P (7,5 para 4,5 g/kg) e Ca (9 para 6 g/kg). Observou-se redução de 61% na excreção de P nos dois experimentos com frangos de corte.

Devido a baixa utilização de P fítico, as excretas de aves alimentadas com dietas vegetais apresentam alto teor deste mineral e alto poder de poluição. O maior aproveitamento deste nutriente se torna fator indispensável para a sustentabilidade da indústria avícola.

3 FITASE

3.1 Histórico

Apesar de se detectar a atividade da fitase a mais de um século, apenas em em 1962 foram feitas tentativas para a criação comercial da enzima na America do Norte (WODZINSKI & ULLAH, 1996). Segundo Nelson (1967), havia a preocupação com os efeitos negativos do fitato sobre a disponibilidade de Ca e P para frangos de corte. Apenas em 1991 houve a primeira enzima disponível comercialmente para nutrição animal, está foi uma medida adotada para se enquadrar a legislação holandesa que previa um limite para a poluição por P no meio ambiente (SELLE & RAVIDRAN, 2007).

3.2 Fontes de fitase

3.2.1 Vegetal

As fitases vegetal tem a habilidade de hidrolisar o fitato, ocorrendo um aumento significativo na transformação de P fit. para P disp. (BAGHERI e GUEGUEN, 1985). A atividade desta fitase foi comprovada em uma grande quantidade de sementes, como: arroz, trigo, milho, soja, entre outros (REDDY *et al.*, 1982). Entretanto, a atividade da fitase das plantas varia conforme a espécie vegetal (SELLE & RAVIDRAN, 2007). Segundo revisão fitase, foi encontrada alta atividade de fitase em trigo e cevada, que contribui significativamente para o aumento da disponibilidade de P, sendo errado aplicar apenas um valor para P disp. baseado no P total e P fit. contidos nas dietas. Porém, a atividade da fitase vegetal nos dois principais ingredientes vegetais para dietas de frangos de corte (milho e soja) é muito baixa, não apresentando importância prática (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001).

A atividade no trato gastrointestinal da fitase oriunda das plantas é menor em relação a fitase microbiana (microbial fitase), isto se deve ao espectro ótimo de pH que a enzima é submetida (EECKHOUT & DE PAEPE, 1991). Em pH ácido, a fitase presente nas plantas sofre forte desnaturação e é mais susceptível a digestão proteolítica que as fitases microbianas (PHILLIPPY, 1999).

3.2.1 Microbianas

A fitase microbiana é encontrada em diversas bactérias, fungos e leveduras (HARLAND AND MORRIS, 1995). O primeiro a observar a hidrólise de P fit. através de

uma fitase microbiana foi Nelson *et al.* (1971), utilizando dietas a base de milho e soja contendo preparados de *Aspergillus*.

Os dois principais fatos que levaram a utilização de fitase a nível industrial e tornaram esta prática economicamente viável foram: a biotecnologia, modificando geneticamente fungos e a pressão para reduzir a excreção de P no meio ambiente (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001). Atualmente, a fitase utilizada comercialmente é baseado no gene encontrado no *Aspergillus niger* (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001).

A enzima produzida pelo *A. niger* var. *ficcum* é a fitase mais estudada. Inicialmente, a enzima foi descrita com um primeiro pH ótimo de 5,0 e o segundo à 2,5 (VAN HARTINGSVELDT *et al.*, 1993). Após, foi descoberta uma fitase distinta proveniente do mesmo *A. niger* var. *ficcum*, mas com pH ótimo em 2,5 e sem atividades em pH 5,0 (ULLAH & PHILIPPY, 1994).

A atividade de fitases termoestáveis foram descritas, estas oriundas de *Bacillus* sp. (KIM *et al.*, 1998) e *Aspergillus fumigatus* (PESAMONTES *et al.*, 1997). A fitase oriunda do *A. fumigatus* pode suportar temperaturas extremas de 100°C por 20 minutos ou 90°C por 120 minutos (PESAMONTES *et al.*, 1997). O gene para expressar está estabilidade em altas temperaturas foi clonado e expressado em *A. niger*. Há grande potencial comercial na Fitase proveniente de *A. fumigatus*, pois esta pode passar pelo processo de peletização sem que ocorra perda significativa em sua atividade (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001).

3.3 Sítio de atividade

Independente da fonte de fitase (microbiana ou derivada de plantas) a atividade da fitase é, predominantemente, no estômago (KEMME *et al.*, 1998; YI & KORNEGAY, 1996). Jejuno e íleo apresentam baixa atividade da fitase, isto deve-se ao pH básico (6,5 -7,6) destas porções do intestino. Há também a inativação da fitase pelas enzimas proteolíticas presentes no suco pancreático (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001).

Segundo Bedford e Partridge (2001), 69 a 86% da atividade de uma fitase microbiana foi detectada no papo e 31 a 38% no proventrículo, sem que houvesse detecção da atividade no intestino delgado.

3.4 Hidrólise da molécula de ácido fítico

Existem duas categorias de fitases utilizadas na dietas para frangos de corte. A sua classificação depende do sítio em que ocorre a iniciação da hidrólise do fitato. 3-fitases (EC 3.1.3.8) liberam, preferencialmente, o primeiro ortofosfato contido na posição C3 do fitato, enquanto a 6-fitases (EC 3.1.3.26) inicia a desfosforilação na posição C6 do anel de mioinositol hexafosfatado (RAGON *et al.*, 2008).

A hidrólise de fitato, pela fitase, é um processo serial, portanto cada intermediário fosfatado do mio-inositol é liberado do sítio ativo da enzima, mas pode ser substrato para a hidrólise seguinte (NAVES, 2012).

Em teoria, a hidrólise enzimática completa do fitato gera uma série de fosfatos de mio-inositol menores (IP6→IP5→IP4→IP3→IP2→IP1), por meio de uma série de reações de desfosforilações, para produzir o mio-inositol e seis P inorgânicos (GREINER *et al.*, 2002). É importante notar que o grupo axial na posição C2 é relativamente refratário à ação da enzima (WODZINSKI & ULLAH, 1996), conseqüentemente, é mais comum a liberação de cinco P inorgânicos e a permanência do anel de mio-inositol monofosfatado (IP1) (SELLE & RAVIDRAN, 2007).

3.4.1 Fatores que afetam a hidrólise de ácido fítico

3.4.1.1 Minerais

Diversos trabalhos demonstram que a digestibilidade de P fit. varia conforme a concentração de minerais nas dietas. Aumentando o nível dietético de Ca, ocorre a diminuição da digestibilidade de P fit. em ratos (NELSON & KIRBY, 1979) e aves (SCHEIDELER & SELL, 1987). Aumentando a concentração de cátions multivalentes, como o cálcio, ocorre a ligação do fitato com os minerais e formação de compostos insolúveis, o qual é resistente à ação da fitase (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001). Diminuindo o nível de Ca (1% → 0,5%) em dietas com baixa concentração de P, aumenta-se a digestibilidade de P fit. em 15% em dietas para aves (MOHAMMED *et al.*, 1991).

Estudos *In Vitro* tem demonstrado que os minerais prejudicam a eficiência da fitase de origem microbiana (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001). Em pH neutro, os minerais com maior potencial de inibir a hidrólise do fitato são: Zn²⁺, Fe²⁺, Mn²⁺, Fe³⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺ (MAENZ *et al.*, 1999). Diminuindo o pH, ocorre uma severa inibição nos efeitos adversos dos

minerais, de acordo com o modelo fitato-mineral pH dependente (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001).

3.4.1.2 pH

O baixo pH no proventrículo das aves favorece a protonação de grupos de baixa acidez do fitato (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001). o pH ótimo para a atividade de fitase, em torno de 5, é abaixo do pH favorável para as formação dos complexos fitato-mineral que são rsistentes a ação da fitase (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001). Segundo Maenz (1999), 0,5 M de Ca *in vitro* com pH 5 foi ineficaz para inibir a atividade da fitase microbiana, já 0,005 M de Ca com pH 7,5 inibiu completamente a enzima. A hidrólise da molécula de fitato durante sua passagem pelo trato gastrointestinal varia conforme o pH e tempo de permanência no proventrículo (KEMME *et al.*, 1998).

A contribuição da fitase produzida no intestino de monogástricos é limitada pela formação complexos insolúveis, pois a formação da enzima ocorre anteriormente ao acesso desta ao seu substrato (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001)

4 IMPACTO DA UTILIZAÇÃO DE FITASE NO DESEMPENHO DE AVES

Segundo Simons *et al.* (1990), a adição de 1500 FTU kg⁻¹ em dietas contendo 4,5g kg⁻¹ de P total aumentou o ganho de peso (733g contra 338g) e melhorou a conversão alimentar (1,5 contra 1,85) de frangos de corte de 0 a 24 dias. De acordo com Cabahug *et al.* (1999), a adição de 400 e 800 FTU kg⁻¹ de fitase em dietas contendo 2,3g kg⁻¹ de P disponível aumentou o ganho de peso (18,8%), diminuiu a conversão alimentar (7,9%) e aumentou consumo de ração (9%) em frangos de 7 a 25 dias de idade. Entretanto, a respostas de frangos recebendo dietas com 4,5g kg⁻¹ de P disponível são mais modestas (5,0 , 0 , 5,0%, respectivamente), com interação negativa entre níveis de P não fítico e adição de fitase para ganho de peso.

Altos níveis nutricionais podem mascarar os fatores anti-nutricionais do fitato, sem que ocorra uma melhor resposta para a suplementação de fitase (SELLE & RAVIDRAN, 2007). Conseqüentemente, há necessidade de diminuir as especificações nutricionais e igualar o desempenho com a suplementação de fitase. Esta fórmula já demonstrou ser economicamente viável (SELLE *et al.*, 2003).

Shirley e Edwards (2003), investigaram a suplementação de fitase em dietas a base de milho e soja (4,6 g kg⁻¹ de P total; 2,72 g kg⁻¹ de P fit.). Houve inclusão de diferentes concentrações de fitase, sendo 12.000 FTU kg⁻¹ o nível máximo. O aumento da inclusão de fitase aumentou significativamente a degradação do fitato no trato gastrointestinal. Além disso, ocorreu um aumento significativo na retenção de P, cinzas da tíbia, ganho de peso, conversão alimentar, energia metabolizável aparente e retenção de Ca. O nível máximo de inclusão de fitase neste experimento obteve, numericamente, os maiores resultados.

O aumento do nível de P nas dietas impede a melhora do desempenho frente a crescentes níveis de inclusão de fitase (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001). Existem duas explicações para este acontecimento: o P inorgânico, hidrolisado pela fitase, inibi a atividade catalítica da fitase (GREINER *et al.*, 1993). O segundo afirma que a liberação de P, induzida pela fitase, pode incitar um desbalanço de Ca e P no trato gastrointestinal. Uma inclusão de níveis maiores de fitase pode ser benéfico para dietas de frangos, mas existe a necessidade de modificar P, Ca e, possivelmente, outros nutrientes para obter as vantagens (SELLE & RAVIDRAN, 2007).

5 IMPACTO DA UTILIZAÇÃO DE FITASE NA DIGESTIBILIDADE DE PROTEÍNA/AMINOÁCIDOS

Segundo Selle e Ravidran (2007), quatro principais fatores contribuem para a aumentar a digestibilidade de proteína/aminoácidos em dietas suplementadas com fitase: (1) a escolha do marcador utilizado em experimentos de digestibilidade, (2) diferença entre os tipos de ingredientes, (3) concentrações de Ca e P disp. e (4) e, possivelmente, o balanço eletrolítico.

De acordo com Selle *et al.* (2000), sugere-se que ocorra formação de complexos proteína-fitato no trato gastrointestinal, no qual é refratário a ação da pepsina. Evidências sugerem que a ingestão de fitato pode causar hiperprodução de mucina e a diminuição da atividade enzimática no trato gastrointestinal de galinhas (LIU *et al.*, 2008). Diversos estudos afirmam que o fitato aumenta a excreção endógena de minerais e aminoácidos em frangos de corte, enquanto a fitase reduz estas perdas (COWIESON *et al.*, 2004; COWIESON & REVIDRAN, 2007).

A carga negativa do fitato interage com aminoácidos básicos (lisina, histidina e arginina) formando complexos proteína-fitato quando o pH do intestino é menor que o ponto isoelétrico das proteínas (COSGROVE, 1966).

Segundo Bedford e Partridge (2001), a formação deste complexos ocorre em duas fases: a fase inicial rápida, onde o fitato se liga a proteína através de fortes atrações eletrostáticas. Esta fase é seguida de interações lentas entre as proteínas, culminando com a precipitação do complexo fitase-proteína, pois este excede o seu tamanho crítico. Em frangos, este evento ocorre mais comumente em condições ácidas, principalmente no proventrículo. Como a ativação da fitase acontece inicialmente no papo, ocorre a prevenção parcial deste complexo, pois o fitato está parcialmente hidrolisado. De acordo com Selle *et al.* (2000), o complexo proteína-fitato é refratário a ação da pepsina, contribuindo para a diminuição da digestibilidade.

6 IMPACTO DA FITASE NO APROVEITAMENTO DE ENERGIA

Em dietas a base de trigo e sorgo para frangos de corte, a fitase tem demonstrado aumento significativo na energia metabolizável (EM) (RAVIDRAN *et al.*, 2000, SELLE *et al.*, 1999). Segundo Bedford e Partridge (2001), a suplementação com fitase aumenta, em média, 2,8% a EM sobre os grupos não suplementados.

Camden *et al.* (2001), utilizou duas fitases diferentes em dietas a base de milho e farelo de soja para frangos. Houve aumento do coeficiente de digestibilidade ileal de gordura em 3%, proteína em 2,6% e amido em 1,4%. O aumento da utilização de energia é devido ao incremento na digestibilidade de gordura, proteína e amido.

Há evidências que o ácido fítico forma complexos com o amido diretamente ou indiretamente, através do complexo fitato-proteína-amido (THOMPSON, 1988). Segundo Cawley e Mitchell (1968), o fitato é um potente inibidor da α -amilase, diminuindo a digestibilidade do amido.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de fitase em dietas para aves demonstrou ser um método eficaz na utilização do fósforo presente na forma de ácido fítico. O uso da fitase proporciona redução nos custos da ração através da diminuição do uso de ingredientes inorgânicos para suprir as exigências alimentares de frangos de corte. Além disso, o ácido fítico no trato gastrointestinal de monogástricos têm diversos fatores anti-nutricionais, diminuindo a utilização de minerais, aminoácidos/proteínas e energia.

Os fatores anti-nutricionais são dependentes de algumas variáveis: a concentração de fitase utilizada, a relação de Ca e P da dieta, a concentração de ácido fítico na dieta, o método de processamento da ração e a atividade da fitase vegetal presente na semente. O pH e a temperatura são fatores determinantes para que ocorra a formação do complexo fitato-mineral/aminoácido/proteína ou amido.

A presente preocupação com a produção sustentável de frangos torna a fitase um aditivo indispensável nas dietas, pois comprovadamente diminui a excreção de fósforo e, conseqüentemente, a poluição de lagos e rios.

Referências

- BAGHERI, S.; GUEGUEN, L. Effect of wheat bran and pectin on the absorption and retention of phosphorus, calcium, magnesium and zinc by the growing pig. **Reproductive Nutrition Development**, v. 25, p. 705-716, 1985.
- BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm animal nutrition**. Oxfordshire: UK, 2001. 407 p.
- CABAHUG, S.; RAVINDRAN, V.; SELLE, P.H.; BRYDEN, W.L. Response of broiler chickens to microbial phytase as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorus levels. I. Effects on bird performance and toe ash content. **British Poultry Science**, v. 40, p. 660–666, 1999.
- CAWLEY, R.W.; MITCHELL, T.A. Inhibition of wheat amylase by bran phytic acid. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 19, p. 106–108, 1968.
- CAMDEN, B.J.; MOREL, P.C.H.; THOMAS, D.V.; RAVINDRAN, V.; BEDFORD, M.R. Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize–soya-bean meal diets for broilers. **Animal Science**, v. 73, p. 289–297, 2001.
- CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 13, p. 297-335, 1980.
- COSGROVE, D.J. The chemistry and biochemistry of inositol polyphosphates. **Pure and Applied Chemistry**, v. 16, p. 209–224, 1966
- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 45, p. 101–108, 2004.
- COWIESON, A.J.; RAVINDRAN, V. Effect of phytic acid and phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of growing broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v. 98, p. 745–752, 2007.
- DANIEL, T.C.; SHARPLEY, A.N.; MYERS, T.C. ³¹P-nuclear magnetic resonance-pH titrations of myo-inositol hexaphosphate, **Carbohydrate Resource**, v.46, p. 159-171, 1976.
- EECKHOUT, W.; DE PAEPE, M. The quantitative effects of an industrial microbial phytase and wheat phytase on the apparent phosphorus absorbability of a mixed feed by piglets. **Medical Faculty Landbouww Rijksuniv**, v. 56, p. 1643–1647, 1991.
- GREINER, R.; KONIETZNY, U.; JANY, K.D. Purification and characterization of two phytases from *Escherichia coli*. **Arch Biochem Biophys**, v. 303, p. 107–113, 1993.
- GREINER, R., FAROUK, A., ALMINGER, M.L., CARLSSON, N. The pathway of desphosphorylation of myo-inositol hexakisphosphate by phytate-degrading enzymes of different *Bacillus* spp. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 48, p. 986-994, 2002.
- HARLAND, B.F.; MORRIS, E.R. Phytate: a good or a bad food component. **Nutrition**

Research, v. 15, p. 733–754, 1995.

KEMME, P.A.; JONGBLOED, A.W.; MROZ, Z.; BEYNEN, A.C. Diurnal variation in degradation of phytic acid by plant phytase in pig stomach. **Livestock Production Science**, v. 54, p. 33-44, 1998.

KIM, Y.; KIM, H.; BAE K.S.; YU, J.H; OH, T.K. Purification and properties of a thermostable phytase from *Bacillus* sp. DS11. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 22, p. 2-7, 1998.

LEI, X.G.; PORRES, J.M. Phytase enzymology, applications, and biotechnology. **Biotechnology Letters**, v. 25, p. 1787-1794, 2003.

LIU, N.; RU, Y.J.; Effect of phytate and phytase on the ileal flows of endogenous minerals and amino acids for growing broiler chickens fed purified diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 156, p. 126-130, 2010.

MAENZ, D.D.; ENGELE-SCHAAN, C.M.; NEWKIRK, R.W.; CLASSEN, H.L. The effect of minerals and mineral chelators on the formation of phytase-resistant and phytase-susceptible forms of phytic acid in solution and in a slurry of canola meal. **Animal Feed Science and Tecnology**, v. 81, p. 177-192, 1999.

MOHAMMED, A.; GIBNEY, M.J.; TAYLOR, T.G. The effects of dietary levels of inorganic phosphorus, calcium and cholecalciferol on the digestibility of phytate-P by the chick. **British Journal of Nutrition**, v. 66, p. 251-259, 1991.

NAVES, L.P. **Metodologias para quantificar fitato e uso de fitases em rações para frangos de corte**. 2012. 152 f. Dissertação (Doutorado em Zootecnia)-Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2012.

NELSON, T.S. The utilization of phytate phosphorus by the chick - a review. **Poultry Science**, v. 46, p. 862–871, 1967.

NELSON, T.S. AND KIRBY, L.K. Effect of age and diet composition on the hydrolysis of phytate phosphorus by rats. **Nutrition Reports International**, v. 20, p. 729-734, 1979.

NELSON, T.S.; SHIEH, T.J.; WODZINSKI, R.J.; WARE, J.H. Effect of supplemental phytase on the utilization of phytate phosphorus by chicks. **Journal of Nutrition**, v. 101, p. 1289–1293, 1971.

PESAMONTES, L.; HAIKER, M.; WYSS, M.; TESSIER, M.; VAN LOON, A.P.G.M. Gene cloning, purification and characterization of a heat-stable phytase from fungus *Aspergillus fumigates*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, p. 1696-1700, 1997.

PHILLIPPY, B.Q. Susceptibility of wheat and *Aspergillus niger* phytases to inactivation by gastrointestinal enzymes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 1385-1388, 1999.

- QUIRRENBACH, H. R.; KANUMFRE, F.; ROSSO, N.D.; FILHO, M.A.C. Comportamento do ácido fítico na presença de Fe(II) e Fe(III). **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 24-32, 2009.
- RAGON, M.; AUMELAS, A.; CHEMARDIN, P.; GALVEZ, S.; MOULIN, G.; BOZE, H. Complete hydrolysis of *myo*-inositol hexakisphosphate by a novel phytase from *Debaryomyces castellii* CBS 2923. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 78, p. 47-53, 2008.
- RAVINDRAN, V.; CABAHUG, S.; RAVINDRAN, G.; SELLE, P.H.; BRYDEN, W.L. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorus levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutrient retention. **British Poultry Science**, v. 41, p. 193–200, 2000.
- REDDY, N.R.; SATHE, S.K.; SALUNKHE, D.K. Phytates in legumes and cereals. **Advances in Food Research**, v. 28, p. 1–91, 1982.
- SCHEIDELER, S.E; SELL, J.L. Utilization of phytate phosphorus in laying hens as influenced by dietary phosphorus and calcium. **Nutrition Reports International**, v. 35, p. 1073-1081, 1987.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V.; CALDWELL, R.A.; BRYDEN, W.L. Phytate and phytase: consequences for protein utilisation. **Nutrition Research Reviews**, v. 13, p. 255–278, 2000.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V.; PITTOLO, P.H.; BRYDEN, W.L. An evaluation of microbial phytase in sorghum-based broiler diets. **Australian Poultry Science Symposium**, v. 11, p. 97–100, 1999.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V.; PITTOLO, P.H.; BRYDEN, W.L. Effects of phytase supplementation of diets with two tiers of nutrient specifications on growth performance and protein efficiency ratios of broiler chickens. **Asian–Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 16, p. 1158–1164, 2003.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V.; Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 135, p. 1-41, 2007
- SHARPLEY, A. Agricultural phosphorus, water quality and poultry production: are they compatible? **Poultry Science**, v. 78, p. 660–673, 1999.
- SHIRLEY, R.B.; EDWARDS, H.M. Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. **Poultry Science**, v. 82, p. 671–680, 2003.
- SILVA, H.O. Efeito da fitase sobre a excreção e teor de minerais nos ossos de suínos na fase de crescimento. **Agropecuária Técnica**, v. 26, p.54-59, 2005.
- SILVA, Y.L.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F; ZANGERONISMO, M.G.; FIALHO, E. T. Níveis de proteína e fósforo em rações com fitase para frangos de corte, na fase de 14 a 21 dias de idade. 2. Valores energéticos e digestibilidade de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 469-477, 2008.

SIMONS, P.C.M.; VERSTEEGH, H.A.J.; JONGBLOED, A.W.; KEMME, P.A.; SLUMP, P.; BOS, K.D.; WOLTERS, M.G.E.; BEUDEKER, R.F.; VERSCHOOR, G.J. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 64, p. 525–540, 1990.

THOMPSON, L.U. Antinutrients and blood glucose. **Food Technology**, v. 42, p. 123–131, 1988.

ULLAH, A.H.J.; PHILLIPPY, B.Q. Substrate selectivity in *Aspergillus ficuum* phytase and acid phosphatase using myo-inositol phosphates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 423-425, 1994.

VAN HARTINGSVELDT, W.; VAN ZEIJL, C.M.; GORIKA, R.J.; SUYKERBUYK, M.E.; LUITEN, R.G.; VAN PARIDON, P.A.; SELTEN, G.C.; VEENSTRA, A.E.; VAN GORCOM, R.F. Cloning, characterization and over expression of the phytase-encoding gene (*phyA*) of *Aspergillus niger*. **Gene**, v. 127, p. 87-94, 1993.

WODZINSKI, R.J.; ULLAH, A.H.J.; Phytase. **Advances in Applied Microbiology**, v. 42, p. 263–303, 1996.

ZENG, Y.; KO, T.; LAI, H.; CHENG, Y.; WU, T.; MA, Y.; CHEN, C.; YANG, C.; GUO, R.; LIU, J. Crystal structures of *Bacillus* Alkaline Phytase in complex with divalent metal ions and inositol hexasulfate. **Journal of Molecular Biology**, v. 409, p. 214-224, 2011.