

1. ESTAT DE LA QÜESTIÓ.

En els darrers anys ha crescut en tot el món la preocupació per la contaminació del sòl en zones on es crien porcs i aviram de manera intensiva. Els estudis se centren en disminuir l'impacte que produeixen en el medi ambient l'excés de nitrogen i fòsfor en les dejeccions dels animals.

El fòsfor és un mineral essencial en els animals, ja que influeix en el cicle energètic, en la formació d'ossos i com a regulador de la ingesta. El fòsfor present en els vegetals (base alimentària de les aus) es troba en forma d'àcid fític o fitat, molt poc disponible pels animals monogàstrics, degut a la manca o baixa activitat fitàsica en el tracte digestiu. Per tal de satisfer les necessitats dels animals, i donada la poca disponibilitat del fòsfor dels vegetals, s'addiciona fòsfor no fític a les dietes, sovint en excés. Per altra banda, degut a la prohibició de farines de carn i d'os en la Unió Europea, l'aportació de fòsfor ha de realitzar-se només en base a minerals i al fòsfor present en els vegetals. L'excés de fòsfor és excretat en part al medi ambient, apareixent problemes mediambientals, com l'eutrofició.

Per tal de minimitzar els problemes deguts a l'addició del fòsfor no fític, en els darrers anys s'ha anat incorporant fitasa microbiana en el pinso, enzim que a més de disminuir la quantitat de fòsfor no fític a afegir, permet mantenir la productivitat en els animals i disminuir l'excreció de fòsfor. La fitasa pot ser utilitzada en l'àmbit europeu ja que ha obtingut l'autorització pertinent per part de la Unió Europea, després de l'avaluació positiva com additiu feta per l'SCAN (Scientific Committee of Animal Nutrition), un cop passada una demostració de la seva eficàcia, podent-se trobar tota la informació sobre la fitasa en la plana web del comitè (http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scan/outcome_en.html).

Des de començaments de la dècada dels noranta, s'han escrit una quantitat important d'articles que impliquen l'acció de l'enzim fitasa. Els estudis s'han realitzat bàsicament en porcs i en dietes de moresc-soja, les quals tenen una activitat fitàsica endògena baixa o nul·la, descrivint-se clarament que la fitasa incrementa la digestibilitat i la biodisponibilitat de fòsfor des del fitat, redueix la quantitat de fòsfor no fític necessari per mantenir al màxim el creixement i la mineralització dels

ossos, i redueix en gran manera l'excreció fecal de fòsfor. També s'han descrit increments en la digestibilitat de minerals bivalents com el calci i el zinc, que es troben lligats al fitat.

El treball realitzat en aquesta tesi s'ha centrat en pollastres d'engreix o broilers, ja que a l'inici d'aquests estudis, la major part de treballs s'havia realitzat en porcs. El nostre estudi s'ha realitzat amb dietes amb cereals europeus, com el blat, l'ordi o el sègol, que presenten una activitat fitàsica endògena més elevada, així com alguns altres factors antinutritius, com per exemple, els polisacàrids no amilacis, ja que la majoria d'investigacions se centraven en dietes de moresc-soja. És pràctica habitual l'aplicació d'enzims degradadors dels polisacàrids no amilacis en les dietes que en presenten. Per això, també s'ha realitzat un estudi de la importància de les possible interaccions entre els enzims degradadors dels polisacàrids i la fitasa tant en la productivitat com en la biodisponibilitat dels minerals.

2. REVISIÓ BIBLIOGRÀFICA

2.1. Fòsfor

El fòsfor és un element imprescindible pel creixement dels animals, essent el mineral present en l'organisme animal del qual es coneixen més funcions. Aproximadament el 80% del fòsfor es troba en els ossos i les dents dels animals. La resta es distribueix en els teixits tous i fluids orgànics.

El fòsfor actua en el metabolisme energètic com a component de substàncies riques en energia com l'ADP, ATP i la fosfocreatina. Les reaccions metabòliques dels carbohidrats, proteïnes i lípids es realitzen a través de compostos intermedis fosforilats. Forma part dels fosfolípids, que són importants en el transport dels lípids i el seu metabolisme, i com a component de les membranes cel·lulars. El fosfat forma part del RNA i DNA, components cel·lulars vitals, essencials per a síntesi proteica, i també forma part de sistemes enzimàtics com la cocarboxilasa i el NAD. En la llet i el rovell de l'ou existeixen proteïnes que contenen fòsfor, com la caseïna i la vitel·lina (Bondi, 1988). El metabolisme general del fòsfor, així com d'altres minerals com el calci i el magnesi, es troba en la figura 2.1.

La sang completa conté entre 35 i 45 mg de fòsfor per ml en forma d'ortofosfat (HPO_4^{2-} i H_2PO_4^-), la major part en les cèl·lules. Gran part del fòsfor del plasma està ionitzat, però una petita quantitat es troba formant complexos amb proteïnes, lípids i carbohidrats.

Figura 2.1. Diagrama esquemàtic del metabolisme del fòsfor. (Bondi, 1988)

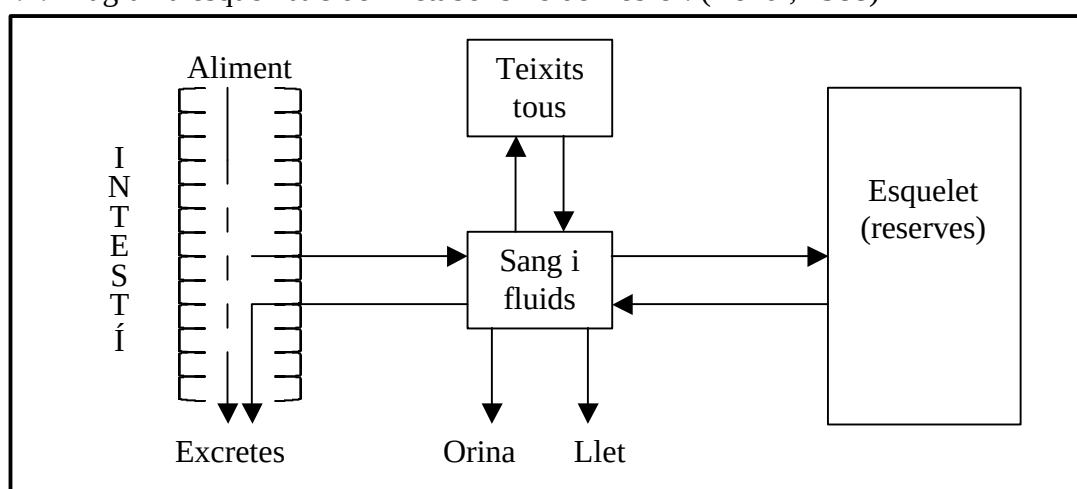
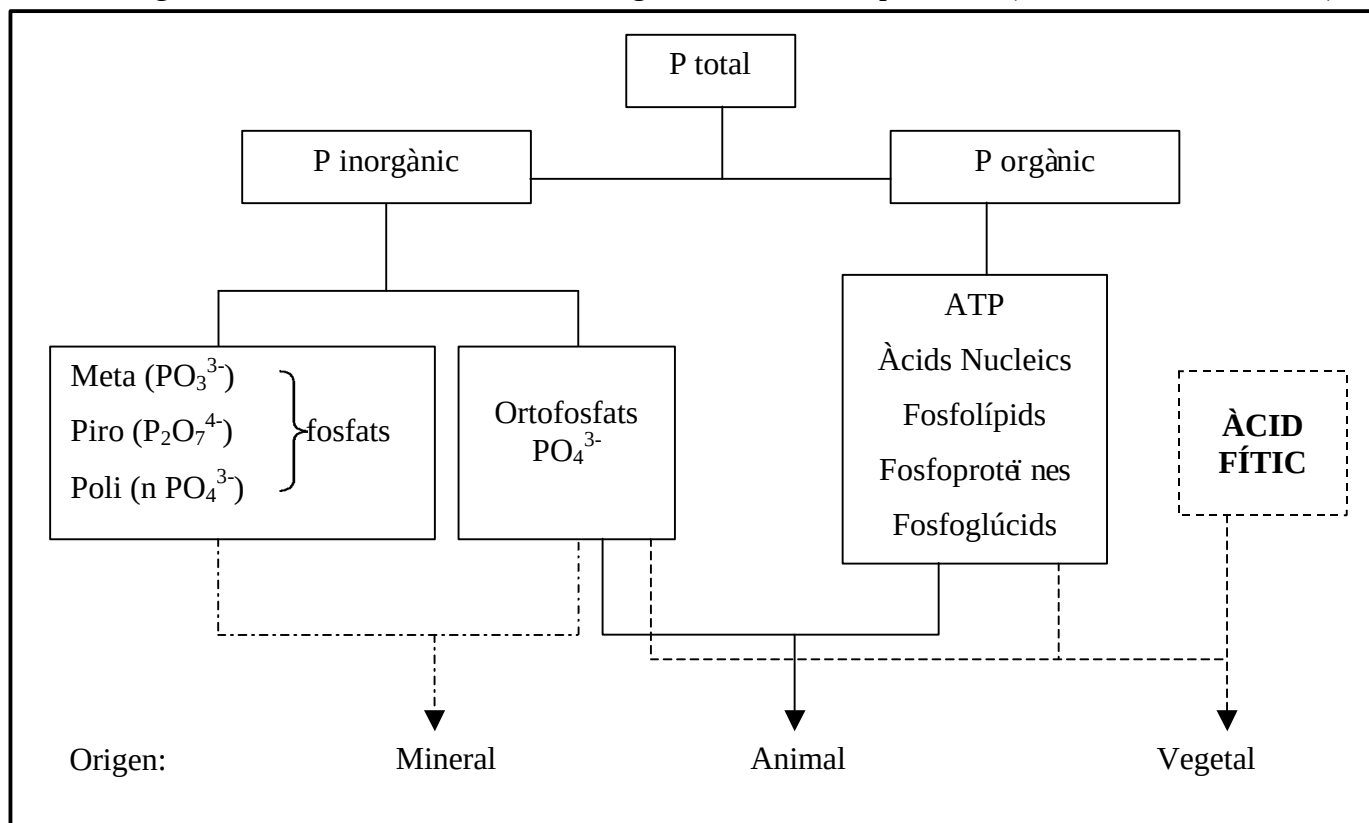


Figura 2.2. Naturalesa del fòsfor contingut en les matèries primeres. (Rebollar i Mateos, 2000)



Els símptomes més habituals de la deficiència de fòsfor inclou la disminució del consum de pinso, un creixement pobre, debilitat, morbiditat i deficiència en els ossos (Saxena, 1996).

Avui en dia, el fòsfor del pinsos d'aviram prové principalment dels fosfats inorgànics, però també de les fonts vegetals i de les farines de peix. En la figura 2.2 es presenta un esquema de la natura del fòsfor en les diferents matèries primeres. El contingut en fòsfor de les matèries primeres usades en alimentació animal presenta un ampli interval de variació. En general, les llavors (grans de cereals, lleguminoses i oleaginoses) tenen un contingut més elevat que els farratges. Els subproductes del processament de grans (segó de blat, gluten de moresc o farines d'oleaginoses) són especialment rics en fòsfor, mentre que tubercles, arrels i bulbs són els més pobres. Els productes làctics i les matèries primeres d'origen animal que inclouen part de l'esquelet són els aliments amb majors nivells de P.

En matèries primeres d'origen vegetal el contingut en fòsfor depèn del tipus de sòl, varietat cultivada, estat de maduració, condicions de cultiu, climatologia, etc. (Ravindran i col., 1995). En

els productes d'origen animal el nivell de fòsfor varia en funció del contingut dels ossos. El nivell en els suplementes minerals depèn de múltiples factors com són el material d'origen, procés de fabricació i el grau de hidratació.

Taula 2.1. Percentatge de fòsfor total i de fòsfor fític i relació entre el fòsfor fític i el fòsfor total present en diferents matèries primeres vegetals.

	% P total ^a		% P fític ^a		$\frac{\text{P fític}}{\text{P total}} \times 100$ ^a	
	Eeckhout i De Paepe (1994)	Kirby i Nelson (1988)	Eeckhout i De Paepe (1994)	Kirby i Nelson (1988)	Eeckhout i De Paepe (1994)	Kirby i Nelson (1988)
Sègol	0.36	-	0.22	-	61	-
Triticale	0.37 ± 0.02	-	0.25 ± 0.02	-	67 ± 3.7	-
Blat	0.33 ± 0.02	0.41 ± 0.001	0.22 ± 0.02	0.29 ± 0.004	67 ± 4.8	70.7
Ordi	0.37 ± 0.02	-	0.22 ± 0.01	-	60 ± 2.4	-
Pèsols	0.38 ± 0.02	-	0.17 ± 0.03	-	45 ± 6.2	-
Segó de blat	1.16 ± 0.14	1.24 ± 0.004	0.97 ± 0.20	0.88 ± 0.008	84 ± 7.3	71.5
Segó i terceres de blat	0.80 ± 0.25	-	0.53 ± 0.14	-	66 ± 6.9	-
Segó d'arròs	1.71	1.79 ± 0.004	1.10	1.54 ± 0.001	64	85.7
Moresc	0.28 ± 0.03	0.29 ± 0.005	0.19 ± 0.03	0.21 ± 0.010	68 ± 5.9	71.7
Soja 48	0.61 ± 0.01	-	0.32 ± 0.02	-	52 ± 3.7	-
Soja	0.57 ± 0.02	0.69 ± 0.013	0.26 ± 0.02	0.39 ± 0.019	46 ± 5.1	56.5
Tramús	0.25	0.53	0.05	0.29 ± 0.006	20	54.3

^a valors de la mitjana més desviació estàndard.

En la Taula 2.1 es mostren valors de la concentració de fòsfor en diferents matèries primeres vegetals (Kirby i Nelson, 1988; Eeckhout i De Paepe, 1994), mentre que en la Taula 2.2 es mostren les concentracions i la disponibilitat de fòsfor present en diferents fonts inorgàniques d'origen mineral. Aquesta última depèn de la forma química dels diferents fosfats (per exemple, fosfat monocàlcic o bicàlcic) però també de les diferents tecnologies emprades en producció (CEFIC,

2002). La disponibilitat del fòsfor no fític d'origen vegetal (entre 25 i 50%, Sauveur, 1989) és més baixa que la que prové de fonts minerals (Taula 2.2), i per això, aquest últim tipus de fosfat és incorporat als pinsos, normalment en excés, doncs no perjudica la salut de l'animal. Precisament aquest excés de fòsfor no fític és excretat, provocant que augmenti la concentració en manera excessiva en el medi ambient.

Taula 2.2. Concentració de fòsfor en diferents fosfats inorgànics d'origen mineral (extreta de Cepero, 1992).

Fosfat	Fòsfor total (%)	Disponibilitat mitja
bicàlcic hidratat	17.5 - 19	100
bicàlcic anhidre	21	87
monocàlcic	21 - 24	110
monobicàlcic	20	112
tricàlcic	19.5	86
monosòdic	19.8 - 25	106
bisòdic	8.5 – 21	107
monopotàssic	22.6	112
bipotàssic	17.7	108
monoamònic	26.7	95
diamònic	23.2	117
defluorinat	18	93
tripolifosfat Na	24.7	101
Fosf. Ca-Mg-Na	17.3	106
Àcid fosfòric	24-28	112
Fosfats de roca		
defluorinat	18	70
roca tova	18	56
Illa Curaçao	14.3	87

2.2. Calci.

Un mineral molt íntimament lligat al fòsfor és el calci. Normalment, els dos minerals s'estudien conjuntament ja que van units tant en els aliments com en el metabolisme de l'organisme. El calci

és l'element mineral més abundant dins l'organisme animal. El 99% de la quantitat total es troba en els ossos i les dents. La resta es troba en els fluids i els teixits tous de l'organisme.

El calci apareix com un ió lliure, unit a les proteïnes del sèrum i formant complexos amb àcids orgànics i inorgànics. El calci ionitzat resulta essencial per a funcions com la conducció de corrents nervioses i el manteniment de la contracció i relaxació muscular, inclòs el múscle cardíac. Pot actuar com activador o estabilitzador d'alguns enzims i és precís per a la coagulació normal de la sang.

La principal font de calci és el carbonat càlcic (CaCO_3). Altres fonts importants són les farines animals i els fosfats animals.

La forma hormonal de la vitamina D (1,25-dihidroxicolecalciferol) és la forma que regula el metabolisme del calci i del fòsfor. Quan la dieta és pobre en calci, se n'augmenta la producció, augmentant l'absorció i mobilització del fòsfor des dels ossos. La situació és a la inversa quan l'animal disposa de calci en excés en la dieta.

Els porcs i aus semblen ser tolerants a dietes amb quocients elevats de Ca:P. El quocient òptim per aquests animals varia entre 1:1 i 2:1, essent ben tolerats quocients inferiors a aquests i mal tolerats quocients superiors a 3:1 (Dieckmann i col., 2002).

La deficiència de calci en pollastres d'engreix té com a símptomes més habituals la disminució del consum de pinso, un creixement pobre, morbositat, deformitats dels ossos, augment de la velocitat metabòlica basal i una susceptibilitat augmentada a tenir hemorràgies internes (Saxena, 1996).

2.3. Fòsfor fític.

Cereals i llegums contenen quantitats significatives de fòsfor en forma d'àcid fític (mio-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis dihidrogen fosfat). Aquest àcid té diverses funcions fisiològiques i també influeix significativament en les propietats funcionals i nutricionals de cereals i llegums, i dels seus pinsos derivats, per complexació de proteïnes i minerals essencials (Reddy i col., 1989). Els termes

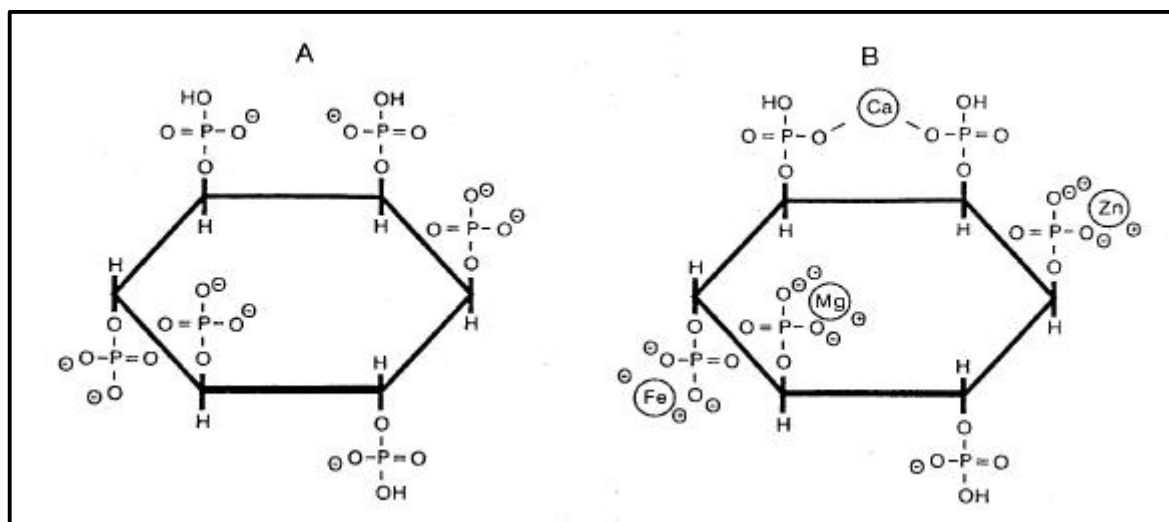
àcid fític, fitat i fitina es refereixen a l'àcid lliure, la sal i la sal de calci i magnesi, respectivament. Tot sovint, s'usa el nom d'àcid fític per a referir-se al fitat i a la inversa. També s'usa el nom d'àcid fític tant per la molècula de IP₆, com pels compostos intermedis de la seva hidròlisi (des de IP₅ fins a IP₁). En la figura 2.3, es pot observar una representació de la molècula d'àcid fític (A) i d'una sal (B).

La concentració de l'àcid fític en els pinsos depèn en gran manera de la part de la planta de la que deriven les matèries primeres; però també pot variar depenent de molts factors, com el grau de maduració, el grau de processament, la varietat, els factors climàtics, la disponibilitat d'aigua, factors del sòl, localització i l'any de collita (Ravindran i col., 1995).

En cereals, el fitat no està uniformement distribuït dins el gra, i està associat amb components morfològics de la llavor. En l'endosperma del gra de blat i d'arròs no hi ha una gran presència de fitat, però es troba concentrat en les capes del germen i l'aleurona de les cèl·lules de la llavor. L'endosperma del moresc té petites quantitats de fitat. En llegums, el fitat està distribuït per tot el cotiledó i localitzat dins les inclusions subcel·lulars dels cossos proteics.

En la Taula 2.1 es mostren valors del contingut de fòsfor fític de diferents matèries primeres emprades en la pràctica habitual de la fabricació de pinsos. El percentatge de fòsfor fític sobre el fòsfor total presenta un ampli rang de variació, amb valors entre el 60 i el 80% pels cereals i els seus subproductes, i d'entre el 30 i el 70% per la resta d'ingredients habituals.

Figura 2.3. Representació esquemàtica de l'àcid fític (A) i d'una sal amb diferents metalls quelats (B). (Schinkell, 1999)



L'àcid fític és un component essencial de totes les llavors, on constitueix una reserva de fòsfor i altres minerals durant la germinació (Wodzinski i Ullah, 1996). L'àcid fític té moltes aplicacions. Graf (1986) presenta en una revisió al voltant de 59 aplicacions diferents, com la prevenció de càries dental o un ús com a agent hipocolesteròmic. La principal característica d'aquestes aplicacions va lligat amb la capacitat de quelar metalls, interaccionar electrostàticament amb proteïnes o la seva gran afinitat per la hidroxiapatita, especialment per la de calci $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})]$, (component que dóna rigidesa a l'os i dents, ja que suposa més d'un 70% de la massa òssia i de la dent).

Degut a la gran capacitat per quelar, l'àcid fític forma sals insolubles a pH neutre amb nombrosos cations di- i trivalents (Ca, Mg, Zn, Cu, Co, Fe, Mn) (Sauveur, 1989), dificultant la seva absorció a nivell intestinal. És degut a això que se'l considera un antinutrient en alimentació, com descriuen alguns autors, per exemple Graf i col. (1987).

L'àcid fític també pot formar complexos insolubles amb proteïnes i midó (Ravindran i col., 1999b).

La interacció de l'àcid i les proteïnes és de tipus iònic i depenent del pH:

- a pH baix, s'uneix amb els residus bàsics (grup amino) de la lisina, arginina i histidina.
- a pH neutres, se solubilitzen els complexos anteriors i s'uneix amb el grup carboxil, amb cations multivalents com a intermediaris.

Els complexos formats canvien l'estructura de les proteïnes reduint la seva digestibilitat, la seva solubilitat i la seva funcionalitat.

Els fitats continguts en les diverses matèries primeres presenten característiques diferencials que influeixen en la seva hidròlisi i en la següent alliberació de fòsfor. En els grans, l'àcid fític està present en forma de fitina, i sobre tot, de fitats mixtes de K, Mg i Ca. Altres cations, com Fe, Zn, Cu, també estan presents però en menor quantitat. La solubilitat de les sals formades amb els cations bivalents segueix el següent ordre decreixent: $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Ca}^{2+}$ (Sauveur, 1989). Els oligoelements estan fixats més fortament a l'àcid fític que els alcalino-terris i aquests, a la seva vegada, són més insolubles que els fitats de cations monovalents (K^+ i Na^+).

El fòsfor contingut en els fitats és molt poc disponible per a les aus i els porcs degut a la manca en l'organisme de l'enzim necessari, com a mínim en una quantitat suficient, per a hidrolitzar i separar el fòsfor de la molècula de inositol. En situacions normals, la major part del fòsfor fític apareix en les excretes incrementant el problema de contaminació ambiental. La hidròlisi del fitat es pot dur a terme mitjançant l'acció de les fitases, ja sigui endògenes o exògenes, millorant l'absorció i retenció, en proporcions variables, del fòsfor, calci, magnesi, zinc, coure, ferro i aminoàcids, especialment en dietes eficients (Rebollar i Mateos, 2000).

2.3.1. Determinació de fòsfor fític.

Com a conseqüència de la hidròlisi de l'àcid fític per via enzimàtica, s'obtenen els compostos intermedis, des de l'IP₅ fins a l'IP₁. La majoria dels mètodes de determinació segueixen unes pautes similars: extracció, purificació, i mesura de les relacions estaquiomètriques amb ió fèrric o del fosfat que forma part del fític.

Existeixen varis mètodes analítics que permeten analitzar el contingut de cada un d'aquests compostos intermedis, ja sigui de manera qualitativa o quantitativa. Entre els qualitatius podem trobar cromatografia de paper (Bandursky i Axelrod, 1951), electroforèsi, cromatografia de capa fina (Hatzack i Rasmussen, 1999) o cromatografia de bescanvi iònic.

Els mètodes quantitius més emprats són mitjançant cromatografia, espectrofotometria o ressonància magnètica nuclear.

2.3.1.1. Cromatografia.

Encara que es pot utilitzar de manera qualitativa, aquesta tècnica és usada àmpliament per a determinar la quantitat dels diferents fosfats d'inositol, especialment dels més elevats.

D'entre els diferents tipus de cromatografia, la HPLC (cromatografia líquida a pressions elevades), és la més utilitzada per a determinar els fosfats d'inositol, donada la seva rapidesa i reproduïbilitat.

Uns dels primers autors en descriure aquesta metodologia van ser Sandberg i Ahderinne (1986). El mètode inclou una extracció amb HCl, separació dels fosfats d'inositol de l'extracte de la mostra per cromatografia de bescanvi iònic, i l'anàlisi per HPLC de fase reversa amb àcid fòrmic/metanol i

hidròxid de tetrabutilamoni com a fase mòbil. En aquesta metodologia, els autors van ser capaços de descriure els inositol amb 3-6 fosfats.

Altres autors han utilitzat aquesta tècnica, encara que realitzant alguna modificació (Sooncharernying i Edwards, 1993; Lehrfeld, 1994; Brearley i Hanke, 1996), per tal de quantificar els fosfats de inositol en mostres de matèries primeres, pinsos, continguts intestinals o excretes. Rounds i Nielsen (1993) van descriure també un mètode de cromatografia de bescanvi iònic i detecció VIS-UV post-columna per separar els fosfats d'inositol. Aquest mètode es basa en la reacció de l'àcid fític amb una solució de clorur de ferro (III) en excés, i lectura del ferro no reaccionat amb àcid sulfosalicilic, llegint-se a 500 nm la disminució de l'absorbència. En aquesta tècnica, la quantitat dels fosfats d'inositol amb un menor nombre de fòsfors són difícils de determinar (di-, monofosfats), ja que són espècies amb poca presència i a més no es retenen en la columna, i per tant, donen poca resolució en el cromatograma (Rounds i Nielsen, 1993). Altres autors, com Phillippy i Johnston, (1985), Phillippy i col. (1987), Simons i col. (1990) i Bos i col. (1991) van emprar també la cromatografia de bescanvi iònic. Bos i col. (1991) determinaren mitjançant cromatografia de bescanvi iònic l'àcid fític, detectant-se colorimètricament a 300 nm després de la reacció amb una sal fèrrica en un derivatització post-columna. Phillippy i col. (1987) i Simons i col. (1990) varen utilitzar la cromatografia de bescanvi iònic acoblada a un espectròmetre de masses per a determinar els diferents fosfats d'inositol, i alguns dels seus isòmers. Tanmateix, amb aquest mètode no obtingueren una bona separació dels fosfats d'inositol amb baix nombre de fòsfors (IP₂, IP, FNF).

La separació i quantificació d'aquests tipus de fosfats ha estat descrita per Skoglund i col. (1997, 1998) i Carlsson i col. (2001), utilitzant la cromatografia iònica (HPIC). Skoglund i col (1997) descriuen la total separació de tots els fosfats d'inositol combinant dos sistemes de HPIC. Gràcies aquest mètode, es pogueren determinar pel primer sistema les fraccions des de IP₂ fins a la IP₆ i els isòmers de IP₄ i IP₅ de mostres de pinsos, continguts ileals i excretes en estudis de balanços en humans. En el segon sistema es va usar per determinar isòmers de IP₁ – IP₃. La determinació dels

isòmers dels diferents fosfats, productes del trencament de la molècula de l'hexafosfat també va ser realitzada per Brearley i Hanke (1996).

2.3.1.2. Isotacoforèsi per capil·laritat.

Mètode utilitzat per autors com Blatny i col. (1995) i Duskova i col. (2000). El mètode consisteix en una electroforesi a velocitat uniforme. Això vol dir que el temps de recorregut en el capil·lar sota condicions isotacoforètiques és independent de la velocitat. Podem dir, per tant, que es tracta d'una tècnica de separació per desplaçament. El capil·lar s'ha d'omplir amb un electròlit guia en un extrem. Aquest ha de tenir una gran mobilitat, i ha de ser major que la dels components a separar. Llavors s'introdueix la mostra seguit de l'electròlit de cua, amb una mobilitat la qual ha de ser menor de qualsevol dels components de la mostra. A la sortida del capil·lar, la mostra s'analitza per conductivitat. En el mètode descrit per Duskova i col. (2000) l'electròlit guia consisteix en una solució formada per HCl, 1,3-bis[tris(hidroximetil)metilamin]propà (BTP) i hidroxipropilmetil cel·lulosa (HPMC), mentre que el de cua està format per àcid 2-(N-morfolin)etanosulfònic monohidratat (MES), usant-se un temps de separació entre 25 i 35 minuts.

2.3.1.3. Mètodes espectrofotomètrics.

El més emprat és el descrit per Haug i Lantzsch (1983). S'ha vist que és una determinació que dona molt bons resultats per a matèries primeres o pels pinsos. El procediment descrit comença per una extracció amb HCl, addició d'una solució fèrrica a l'extracte obtingut, i escalfament dins d'un tub en un bany amb aigua bullint. Després de refredar, la solució es centrifuga, s'afegeix una solució de 2,2'-bipiridina, i finalment es mesura l'absorbància a 519 nm enfront d'aigua destil·lada. L'àcid fític es precipita amb una solució àcida de ferro (III) amb un contingut conegut de ferro. El ferro no precipitat reacciona amb la bipiridina, donant una coloració vermella. La disminució de ferro en el sobrenadant és proporcional al contingut de l'àcid fític.

També van utilitzar aquesta tècnica Brooks i col. (2001), on descriuen una manera de quantificar de manera acurada i ràpida el contingut de fòsfor total i lliure d'una preparació d'àcid fític disponible comercialment, i que pot ser usat com a estàndard per determinacions de l'àcid fític en pinsos.

2.3.1.4. Espectroscòpia d'infraroig proper (NIRS).

Mitjançant aquesta tècnica es mesura l'excitació vibracional dels àtoms al voltant dels enllaços que els connecten. La molècula absorbeix llum i experimenta una excitació vibracional en la regió de l'infraroig de l'espectre electromagnètic (Vollhardt, 1987). Parrish i col. (1990) descriuen la metodologia per determinar l'àcid fític en llavors de cotó. El principal avantatge d'aquesta tècnica és que s'obvia la necessitat de realitzar la fase d'extracció que comporta varies hores i que es requereix en tots els altres mètodes. A més, s'escurça el temps d'anàlisi (Smith i col., 2001). La mostra es posa directament en el posamostres, i es registren les dades espectrals a longituds d'ona que van des de 1100 fins a 2500 nm. Klepacka (1990) trobà que, en llavors de colza, una de les bandes importants per determinar el fitat és la corresponent a l'enllaç $P = O$ a 1090 cm^{-1} . De Boever i col. (1994) van analitzar cent trenta-vuit mostres, corresponents a dinou matèries primeres vegetals, i van trobar que els valors estan molt correlacionats per la determinació de fòsfor total i fític amb errors de predicció de 0.08% i 0.04%, respectivament. Smith i col. (2001) descriuen que el NIRS pot ser usat per determinar el contingut de l'excreta, entre ells el contingut de fòsfor total i fòsfor fític.

Però no cal obviar que per tal de calibrar l'espectròmetre NIR, primerament s'han de realitzar les anàlisi dels valors dels diferents paràmetres en via humida, utilitzant algunes de les altres tècniques descrites en aquest capítol.

2.3.1.5. Ressonància magnètica nuclear (RMN).

Aquesta tècnica, molt emprada en química orgànica, serveix per determinar el nombre, la naturalesa i l'entorn que envolta els àtoms d'una molècula. A partir d'aquesta informació es pot deduir sovint l'estructura de l'esquelet molecular. La ressonància es pot aplicar a bastants àtoms, com l'hidrogen (^1H , ^3H), carboni (^{13}C), nitrogen (^{15}N), fluor (^{19}F) i fòsfor (^{31}P). Tots aquests àtoms tenen un nombre atòmic senar, i per tant tenen spin, això és, moment angular.

En absència de qualsevol camp magnètic, aquest moment pot estar apuntant a qualsevol direcció; però quan la mostra es sotmesa a un camp magnètic, els moments poden alinear-se tant en el mateix

sentit del camp (estat energètic més baix) o en contra del camp (estat energètic més alt). Els estats energètics més alts estan menys poblats que els més baixos, i els nuclis poden ser promoguts des del menor al major estat per l'aplicació de l'energia de la radiofreqüència. És l'absorció d'aquesta energia la que es mesura i es reflecteix en els espectres de RMN (Cooper, 1980).

Gràcies a aquesta tècnica es pot tenir una bona informació de tots els fosfats d'inositol i de l'ortofosfat presents en mostres de matèries primeres, pinsos, continguts ileals i excretes de porcs i aviram.

La mostra, igual que altres tècniques comentades anteriorment, es prepara mitjançant una extracció àcida, centrifugació, escalfament a 100°C, i una segona centrifugació. Al sobrenadant se li afegeix EDTA, ajustant després el pH a 6.0 amb NaOH. La solució es liofilitza, es redissol amb aigua, s'ajusta de nou amb NaOH a 12.6 de pH i es torna a liofilitar, tenint la mostra preparada per a realitzar el RMN de ^{31}P (Kempe i col., 1999a).

Bona part de les publicacions de l'ús de fosfats d'inositol empen metodologies similars a la descrita per preparar la mostra. Les diferències entre elles radiquen en el patró usat per tal de quantificar l'espectre obtingut, i els desplaçaments químics obtinguts en cada cas. Per exemple, Kempe i col. (1999a) utilitzaren l'àcid 2-aminoetilfosfònic.

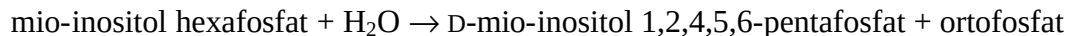
Els fosfats d'inositol es poden calcular a partir d'analitzar diferents àtoms. Així alguns autors, com Cerdan i col. (1986), Barrientos i col. (1994), Johnson i col. (1995), Hull i col. (1999), Nakano i col. (2000), Hatzack i col. (2001), realitzaren espectres de RMN de protó (^1H). O'Neill i col. (1980), Cerdan i col. (1986), Barrientos i col. (1994), Jayarajah i col. (1997), Kempe i col. (1999a) utilitzaren espectres de RMN de ^{31}P . Finalment, alguns autors utilitzaren espectres de dos dimensions amb una espectroscòpia múltiple de ^1H - ^1H o ^1H - ^{31}P (Barrientos i col., 1994; Johnston i col., 1995; Nakano i col. 2000).

2.4. Fitasa

L'enzim fitasa presenta una activitat esterasa que li permet hidrolitzar el mio-inositol hexafosfat a ortofosfat inorgànic i a una sèrie d'èsters fosfònics del mio-inositol més baixos i, en alguns casos, al mio-inositol lliure (Reddy i col., 1989). Hi ha dos tipus de fitases tal com està classificat pel Nomenclature Committee de la International Union of Biochemistry and Molecular Biology (NC-IUBMB) en consulta amb la IUPAC-IUBMB Joint Commission on Biochemical Nomenclature, tal com descriuen Vohra i Satyanarayana (2003):

- a) **EC 3.1.3.8.** Nom recomanat: 3-fitasa. Nom sistemàtic: mio-inositol-hexafosfat 3-fosfohidrolasa. Altres noms: fitasa; 3-fitat fosfatasa.
- b) **EC 3.1.3.26.** Nom recomanat: 6-fitasa. Nom sistemàtic: mio-inositol-hexafosfat 6-fosfohidrolasa. Altres noms: fitasa; 6-fitat fosfatasa.

La 3-fitasa catalitza la reacció d'hidròlisis atacant primer el fitat en la posició 3, essent típica de microorganismes:



mentre que la 6-fitasa primer actua en la posició 6, i és típica de cereals:

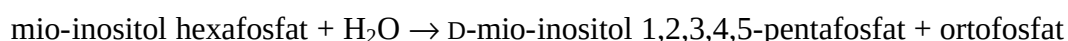
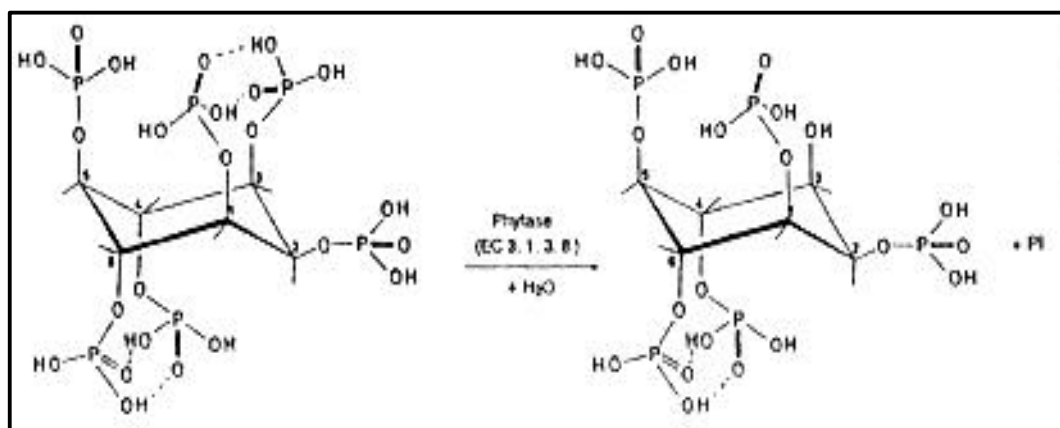


Figura 2.4. Representació de la hidròlisi de l'àcid fític per una 3-fitasa (fitasa microbiana) (Riond, 2003)



En la figura 2.4 es pot trobar una representació de la hidròlisi de l'àcid fític per una 3-fitasa (fitasa microbiana). Les fitases estan present de manera natural en nombrosos cultius de bacteris i fongs, així com en certs grans. També estan presents en el tracte intestinal de tots els animals degut tant per la ingestió de plantes que el contenen, com per la pròpia microflora intestinal o per la producció enzimàtica endògena per la mucosa o òrgans secretors del digestiu (Sebastian i col, 1998).

2.4.1. Fonts de fitasa

En la natura es coneixen les següents fonts de fitasa, segons classificació de Rebollar i Mateos (2000):

2.4.1.1. Fitases intestinals endògenes dels animals.

L'activitat fitàsica de la mucosa intestinal és molt reduïda encara que demostrable experimentalment. Almenys en el porc, les fosfatases intestinals endògenes només són capaces d'hidrolitzar les molècules d'intermediaris de fosfat d'inositol amb escàs nombre d'ions ortofosfats (IP_3 a IP_1) donant lloc a inositol lliure (Kemme, 1998). El contingut digestiu de l'estómac i intestí del porc (Yi i Kornegay, 1996) i del pap, estómac i intestí de les aus tenen escassa activitat fitàsica pròpia.

2.4.1.2. Fitases endògenes contingudes en els ingredients de la dieta.

Existeix un cert nombre de llavors amb activitat fitàsica pròpia, particularment dins el grup dels cereals, però no és possible establir una correlació significativa entre el contingut en P fític del gra i la seva activitat fitàsica (Eeckhout i De Paepe, 1994). Si es calculés la quantitat necessària d'enzim per hidrolitzar tot el contingut de fòsfor fític en una dieta comercial i se'l comparés amb la quantitat present de manera natural en plantes, s'observaria que l'enzim a afegir hauria de ser el 40% de la dieta per tal d'hidrolitzar tot el fòsfor fític (Wodzinski i Ullah, 1996). En el cas del blat, sègol i triticale la seva activitat fitàsica és important, essent baixa en la resta de grans utilitzats en la pràctica habitual. L'activitat fitàsica és molt reduïda en farines proteiques (soja, colza, cotó) i lleguminoses en gra (Sauveur, 1989; Ravindran i col., 1995). En qualsevol cas, el contingut varia en funció de la varietat i dels factors ambientals. La concentració de fitasa en les plantes augmenta

durant el procés de germinació (Wodzinski i Ullah, 1996). Els subproductes de la indústria farinera, en especial els procedents del blat, són rics en activitat fitàsica.

El pH òptim d'aquest tipus de fitasa va des de 4.0 fins a 7.5; la majoria dels enzims tenen un pH òptim entre 5.0 i 5.6, tenint una temperatura òptima de 45 i 60° C, degradant-se a temperatures superiors (Reddy i col., 1989).

2.4.1.3. *Fitases d'origen microbià produïda per la flora digestiva.*

Nombrosos fongs i microorganismes presents en el tracte intestinal produeixen 3-fitasa. Els remugants i parcialment els animals copròfags, poden beneficiar-se d'aquesta activitat fitàsica. No obstant, en la majoria de les espècies monogàstriques, com aus i porcs, l'activitat de la flora intestinal té lloc en l'intestí gros. D'aquí que l'animal no se'n pugui beneficiar, encara que les fitases microbianes hidrolitzen els fitats i alliberin el fòsfor no fític, ja que aquest fòsfor s'excretarà totalment en les excretes (Kempe, 1998).

2.4.1.4. *Fitases d'origen microbià de producció industrial.*

Fongs i bacteris són capaços de produir fitases en condicions naturals o de laboratori. Les fitases bacterianes (a excepció de *Bacillus subtilis*) són de tipus intracel·lular i, en general, no tenen un bon comportament quant a productivitat en condicions de laboratori. Les fitases bacterianes tenen un pH òptim entre neutre i alcalí, cosa que l'exclou per a ús com a additiu en pinsos.

Les fitases d'origen fúngic són produïdes per nombroses espècies. La majoria produeixen enzims extracel·lulars, essent el gènere *Aspergillus* el més emprat en l'actualitat, havent-se identificat a l'*Aspergillus niger* com el productor de la fitasa més activa procedent de fongs. El pH òptim d'aquest tipus de fitases es troba entre 2.5 i 7.5, mentre que el rang de temperatura òptima és entre 35 i 63°C (Wodzinski i Ullah, 1996). L'*Aspergillus niger* (NRRL 3135) produeix dos tipus de fitasa, una amb el pH òptim a 5.5 i 2.5 i l'altra amb el pH òptim a 2.0; aquests enzims s'han anomenat fitasa A i fitasa B, respectivament.

En la Taula 2.3 es mostren valors d'activitat fitàsica d'ingredient per a pinsos (Eeckhout i De Paepe, 1994). L'activitat fitàsica de les matèries primeres es pot determinar mitjançant varis procediments,

essent un dels més emprats el mètode colorimètric, descrit per Engelen i col. (1994, 2001). El mètode es basa en la determinació del fosfat no fític alliberat en la hidròlisi del fitat sòdic a pH 5.5 i 37° C.

En la Taula 2.4 es presenta una llista amb microorganismes productors de fitases (Vohra i Satyanarayana, 2003).

Taula 2.3. Activitat fitàsica d'ingredients de la dieta.

	Fitasa^a (Unitats kg ⁻¹)	Fitasa^b (Unitats kg ⁻¹)
Llavors		
Sègol	5130	5147 ± 649
Triticale	1688 ± 227	-
Blat	1193 ± 223	1637 ± 275
Ordi	582 ± 178	1016 ± 330
Pèsols	116 ± 54	86 ± 1
Subproductes		
Segó blat fi	4601 ± 860	-
Segó i tercers de blat	4381 ± 956	-
Segó blat	2957 ± 1556	4624 ± 4
Segó arròs	122	-
Cereals		
Moresc	15 ± 18	70 ± 5
Civada	42 ± 50	84 ± 39
Sorgo	24 ± 32	-
Farines d'olis		
Cacauet	3	-
Coco	24 ± 37	-
Llinassa	41	295 ± 4.6
Llavor de colza	16 ± 16	41 ± 2.5
Gira-sol	62 ± 53	73 ± 2
Soja 44	40 ± 45	-
Soja 48	8 ± 8	-
Llegums		
Soja	55 ± 89	32 ± 2.5
Tramús	0	219 ± 22
Arrels i tubèrculs		
Polpa de remolatxa	3 ± 4	20 ± 1
Patata	0	-
Midó de patata	0	-

^a dades procedents d'Eeckhout i De Paepe (1994).

^b dades procedents de Viveros i col. (2000).

Taula 2.4. Llista de microorganismes productors de fitasa (adaptada de Vohra i Satyanarayana, 2003).

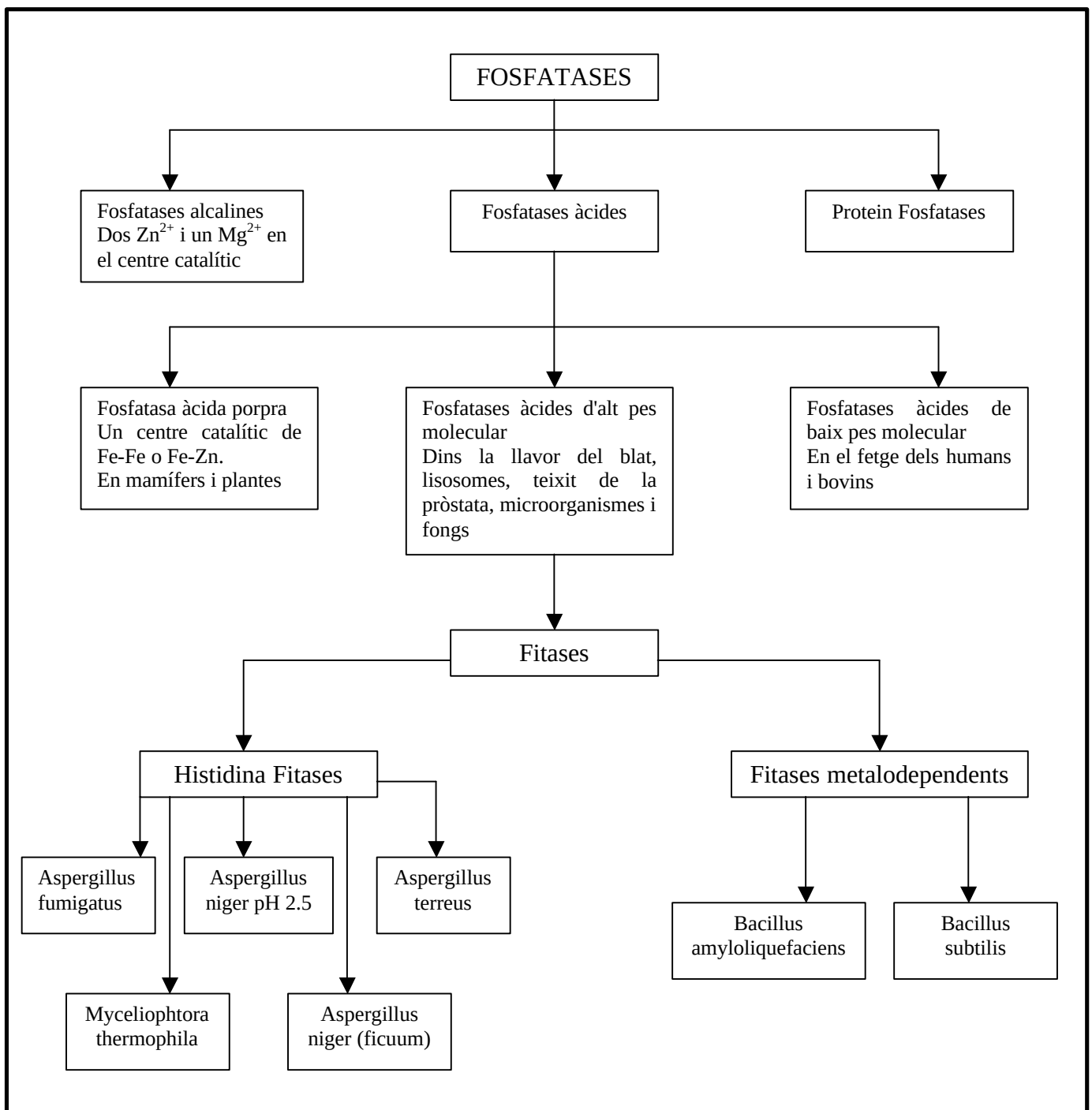
Localització enzim		Localització enzim	
Bacteris		Fongs	
<i>Aerobacter aerogenes</i>	Paret cel·lular	<i>Aspergillus amstelodami</i>	Extracel·lular
<i>B. amyloliquefaciens</i>	Extracel·lular	<i>A. chevalieri</i>	Extracel·lular
<i>Bacillus sp., DS11</i>	Extracel·lular	<i>A. candidus</i>	Extracel·lular
<i>Bacillus subtilis</i>	Extracel·lular	<i>A. niger syn A. ficuum</i>	Extracel·lular
<i>Enterobacter sp. 4</i>	Extracel·lular	<i>A. flavus</i>	Extracel·lular
<i>Escherichia coli</i>	Paret cel·lular	<i>A. niger</i>	Extracel·lular
<i>Klebsiella aerogenes</i>	Paret cel·lular	<i>A. repens</i>	Extracel·lular
<i>Klebsiella oxytoca MO-3</i>	Paret cel·lular	<i>A. sydowi</i>	Extracel·lular
<i>Lactobacillus amylovorus</i>	Extracel·lular	<i>A. terreus</i>	Extracel·lular
<i>Mitsuokella multiacidus</i>	Paret cel·lular	<i>A. versicolor</i>	Extracel·lular
<i>Pseudomonas sp.</i>	Paret cel·lular	<i>A. wentii</i>	Extracel·lular
<i>Selenomonas ruminantium</i>	Paret cel·lular	<i>A. fumigatus</i>	Extracel·lular
Llevats		<i>A. carbonarius</i>	Extracel·lular
<i>Arxula adenivorans</i>	Extracel·lular	<i>A. carneus</i>	Extracel·lular
<i>Candida spp.</i>	Extracel·lular	<i>Aspergillus terreus 9A1</i>	Extracel·lular
<i>Clavispora lusitaniae</i>	Extracel·lular	<i>Botrytis cinerea</i>	Extracel·lular
<i>Debaryomyces yamadae</i>	Extracel·lular	<i>Emericella nidulans</i>	Extracel·lular
<i>Hanseniaspora valbyensis</i>	Extracel·lular	<i>Geotrichum candidum</i>	Extracel·lular
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Extracel·lular	<i>Mucor piriformis</i>	Extracel·lular
<i>Metchnikowia pulcherrima</i>	Extracel·lular	<i>M. racemosus</i>	Extracel·lular
<i>Pichia anomala</i>	Extracel·lular	<i>Myceliophthora thermophila</i>	Extracel·lular
	Paret cel·lular	<i>Penicillium sp.</i>	Extracel·lular
<i>Pichia spp.</i>	Extracel·lular	<i>Rhizopus oryzae</i>	Extracel·lular
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Paret cel·lular	<i>R. oligosporus</i>	Extracel·lular
	Extracel·lular	<i>R. stolonifer</i>	Extracel·lular
<i>S. kluyveri</i>	Extracel·lular	<i>Sporotrichium thermophile</i>	Extracel·lular
<i>Scwanniomycetes occidentalis</i>	Extracel·lular	<i>Talaromyces thermophilus</i>	Extracel·lular
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	Extracel·lular	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	Extracel·lular
<i>T.globosa</i>	Extracel·lular	<i>A. clavatus J239</i>	Paret cel·lular
<i>T. pretoriensis</i>	Extracel·lular	<i>A. flavipes Fla. A-14</i>	Paret cel·lular
		<i>A. flavus</i>	Paret cel·lular
		<i>A. nidulans QM-329</i>	Paret cel·lular
		<i>A. niger NRRL 67</i>	Paret cel·lular
		<i>A. niger P330</i>	Paret cel·lular
		<i>A.oryzae QM 238</i>	Paret cel·lular
		<i>A. phoenicus QM 329</i>	Paret cel·lular
		<i>A. repens QM-44C</i>	Paret cel·lular
		<i>A. terreus Fla C-93</i>	Paret cel·lular
		<i>A. tamarii J1008</i>	Paret cel·lular
		<i>Mucor spp.</i>	Paret cel·lular
		<i>Penicillium spp. P-320</i>	Paret cel·lular
		<i>Rhizopus spp.</i>	Paret cel·lular

2.4.2. Classificació de les fitases

Mendoza Parra (2002) proposa una classificació partint de la base que les fitases són fosfatases àcides d'alt pes molecular (Figura 2.5). Aquest autor les diferencia en funció de la seva seqüència, preferentment en el lloc actiu, distingint entre les histidina fitases i les fitases metalo-depenents. En el primer grup la catàlisi de la reacció es realitza en dues etapes: una primera caracteritzada per

l'atac nucleòfil sobre el fòsfor per un residu histidina, present dins un motiu en el lloc actiu i que es conserva en tots els enzims d'aquesta classe, seguida per la hidròlisi de l'intermediari. Per altra banda, el segon grup es caracteritza per una certa dependència amb ions metàl·lics durant l'activitat catalítica.

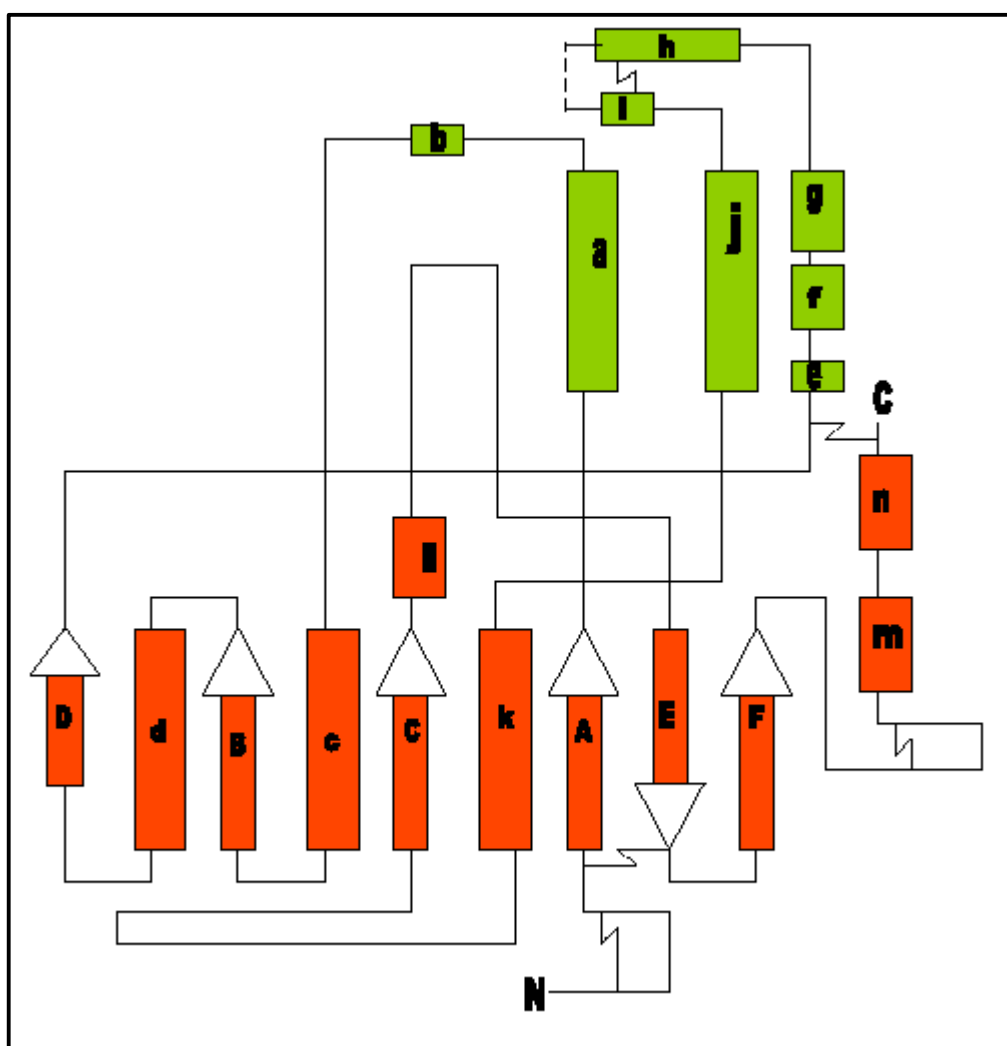
Figura 2.5. Classificació de les fosfatases, presentant els dos grans grups de fitases: les histidina fitases i les fitases metalodependents. (Mendoza Parra, 2002)



2.4.2.1. Histidina fitases o fosfatasa àcida histidina (HAP).

L'estructura de l'enzim pot estar dividit en dos dominis, un de gran anomenat domini α/β , i un segon anomenat domini α . El domini α/β està constituït per sis làmines β , de les quals n'hi ha unes (A, B, C, D) paral·leles, mentre que les altres (E, F) són antiparal·leles (Figura 2.6). El domini α en canvi està constituït d'una hèlix α central, així com de set hèlixs α disposats al voltant i anomenades: a, b, e, f, g, i, j. En el mig dels dominis, hi ha una bossa profunda, limitada per l'extrem N-terminal de la proteïna (que faria de tapa), contenint els aminoàcids implicats en el mecanisme de reacció. Dins la seqüència, s'han identificat deu cistèines, constituint cinc ponts disulfur responsables de mantenir l'estructura tridimensional de la proteïna.

Figura 2.6. Representació esquemàtica de l'estructura amb els dos dominis de la fitasa *Aspergillus niger*. (Mendoza Parra, 2002)



2.4.2.2. *Fitases metalo-depenents.*

Aquest segon tipus està caracteritzat per la manca de similitud en les seqüències, estant format majoritàriament pels enzims d'origen bacterià. Una característica d'aquesta família de fitasa és la seva dependència pels ions calci, tant pel que fa a la seva estabilitat com a l'activitat catalítica.

2.4.3. ***Producció i purificació de fitases***

2.4.3.1. *Fitases vegetals.*

Greiner i col. (1998) van descriure la purificació de fitasa de sègol no germinat, amb una recuperació del 6%. Amb els estudis efectuats, aquests autors observaren que l'enzim tenia una afinitat àmplia per a varis compostos fosforilats i que la hidròlisi de fitat es realitzava en varis passos, identificant-se compostos intermedis com el 1,2,3,4,5-IP₅ i el 2,3,4,5-IP₄. El mateix autor (Greiner, 2002a) purificà i caracteritzà tres fitases de tramussos amb recuperacions entre el 8 i el 13%, referit a l'activitat fitàsica de l'extracte brut, i també de civada (Greiner i Alminger, 1999) que, com en els casos anteriors, observaren que el primer producte de la hidròlisi és l'inositol 1,2,3,4,5-pentafosfat.

2.4.3.2. *Fitases de microorganismes.*

Per a la producció de fitases mitjançant microorganismes s'han emprat algunes tècniques com la fermentació submergida o la fermentació en estat sòlid. Els factors crítics que afecten al rendiment de la producció i que s'han de tenir en compte en el moment de seleccionar la tècnica emprada són el tipus de soca del microorganisme, condicions de cultiu, natura del substrat i disponibilitat dels nutrients (Pandey i col., 2001).

Nair i col. (1991) descriuen la purificació d'una fitasa d'*Aspergillus ficuum* en un procés de fermentació submergida, observant que la hidròlisi d'àcid fític en una dieta incloent farina de colza 00 catalitzada per l'enzim obtingut és completa. La fitasa aconseguida tenia un pH òptim de la seva activitat enzimàtica a 5.0 i essent 60°C la temperatura òptima. Mun Choi i col. (2001) purificaren una fitasa de *Bacillus* sp. KHU-10, que es mostrà ser específica pel fitat sòdic però no mostrà cap activitat en altres èster fosfats. Kerovuo i col. (1998) purificaren i caracteritzaren una fitasa de soca

de *Bacillus subtilis*, enzim que requereix calci per la seva activitat i estabilitat i inhibit per l'EDTA; a més, es va provar que l'enzim era específic per a fitat, ADP i ATP, amb activitats relatives del 100, 75 i 50%, respectivament.

2.4.4. *Mecanisme de reacció.*

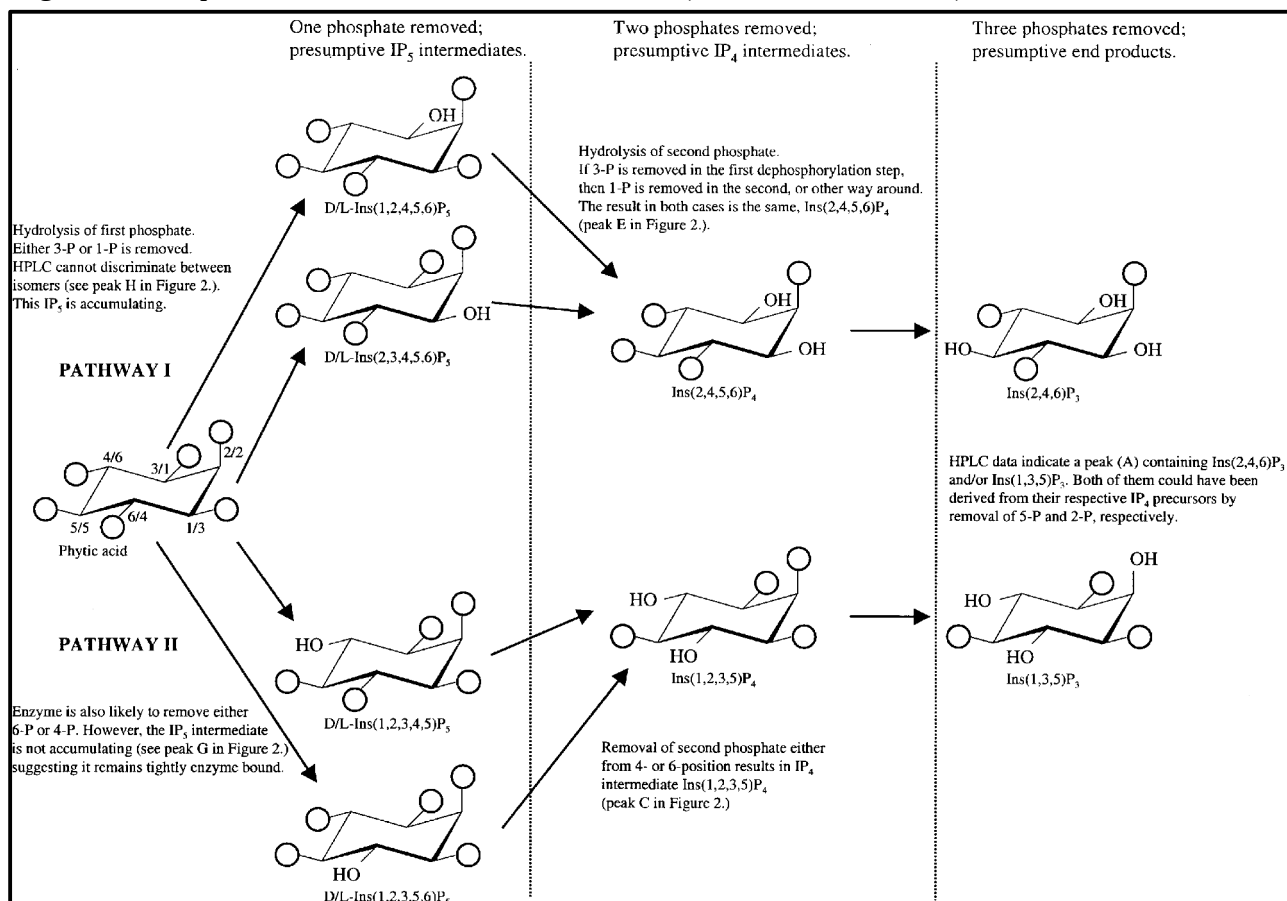
No està massa clar el mecanisme pel qual la fitasa realitza la hidròlisi del fosfat en les molècules de l'àcid fític. S'han realitzat varis estudis per determinar-ne el mecanisme tant amb fitases d'origen bacterià (Kerovuo i col., 2000), com fúngic (Dvoráková i col., 2000; Greiner i col., 2001), en cereals (Nakano i col., 2000) i en llegums (Greiner i col., 2002b).

Kerovuo i els seus col·laboradors (2000) en el seu treball descriuen i proposen un mecanisme de reacció per la hidròlisi de fitat per fitasa de *Bacillus*, que es pot veure en la figura 2.7. El mecanisme contempla la hidròlisi mitjançant dues vies:

La primera de les qual indicaria que s'hidrolitzaria un fosfat de la posició 1 o 3, en posició α al fosfat del carboni 2 (fosfat axial), per donar pentafofosats d'inositol (1,2,4,5,6-IP₅ i 2,3,4,5,6-IP₅). El compost intermedi obtingut seria alliberat de l'enzim, però es tornaria a unir, amb la consegüent hidròlisi del fosfat en posició 1 o 3 que no ha estat abans hidrolitzat, per obtenir un tetrafofosat d'inositol (2,4,5,6-IP₄). El darrer pas proposat és l'obtenció del 2,4,6-IP₃, per hidròlisi del fosfat en posició 5.

La segona via proposta seria que la hidròlisi comença pel fosfat del carboni 4 o 6, en posició β al carboni 2, per obtenir els compostos 1,2,3,5,6-IP₅ o 1,2,3,4,5-IP₅. Els autors van trobar que els compostos pentafofosats eren detectats en poca quantitat, per la qual cosa suposaren que estaven fortament lligats a l'enzim, el que permetria el pas ràpid a tetrafofosats, per la hidròlisi del fosfat en la posició que no s'havia hidrolitzat anteriorment (4/6 o 6/4), obtenint-se el 1,2,3,5-IP₄. Aquest compost intermedi seria alliberat de l'enzim però podria tornar-se a unir a l'enzim, hidrolitzant-se ràpidament cap als trifosfats. El darrer pas és la hidròlisi del fosfat en posició 2, donant el trifosfat d'inositol 1,3,5-IP₃, isòmer de l'obtingut per l'altra via.

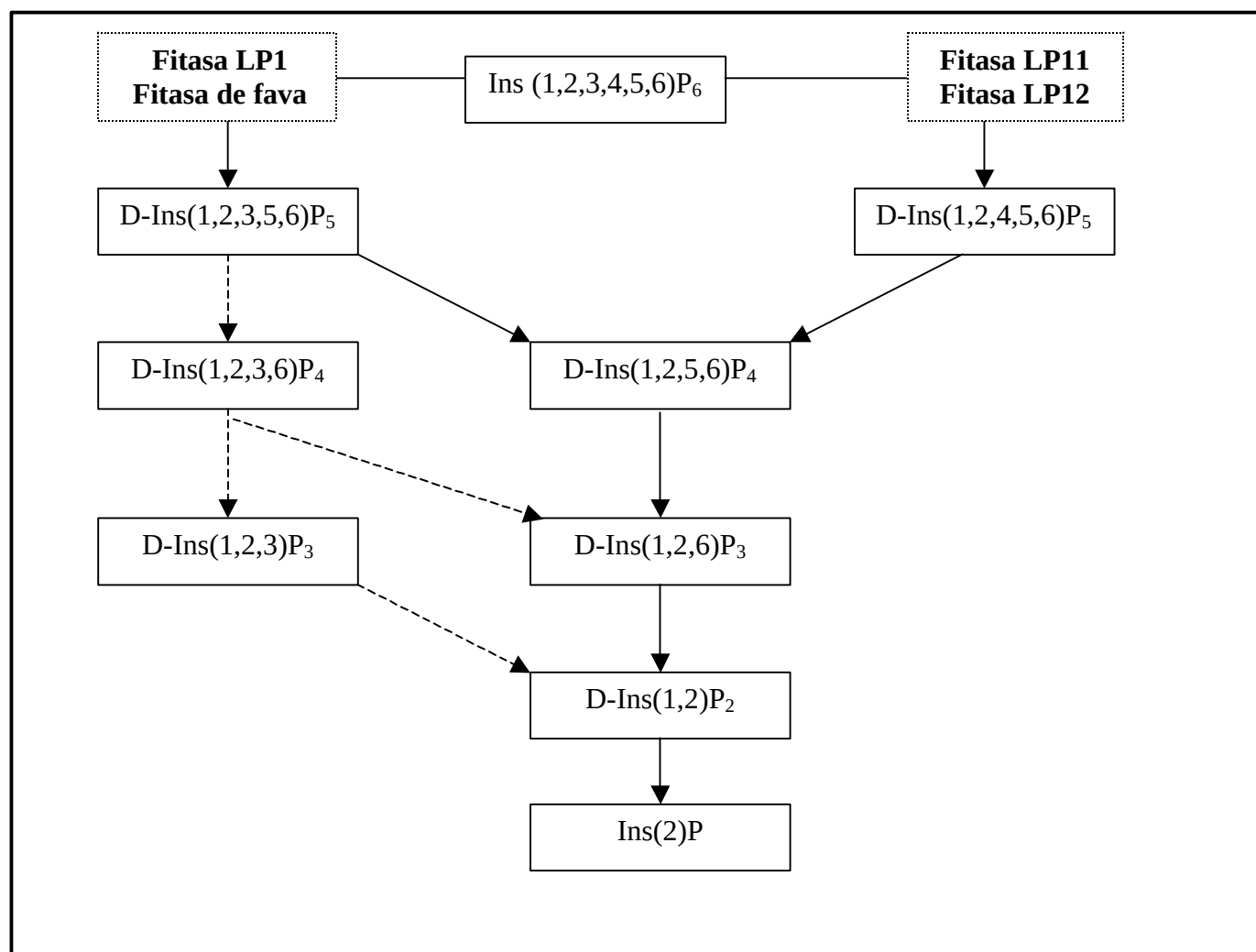
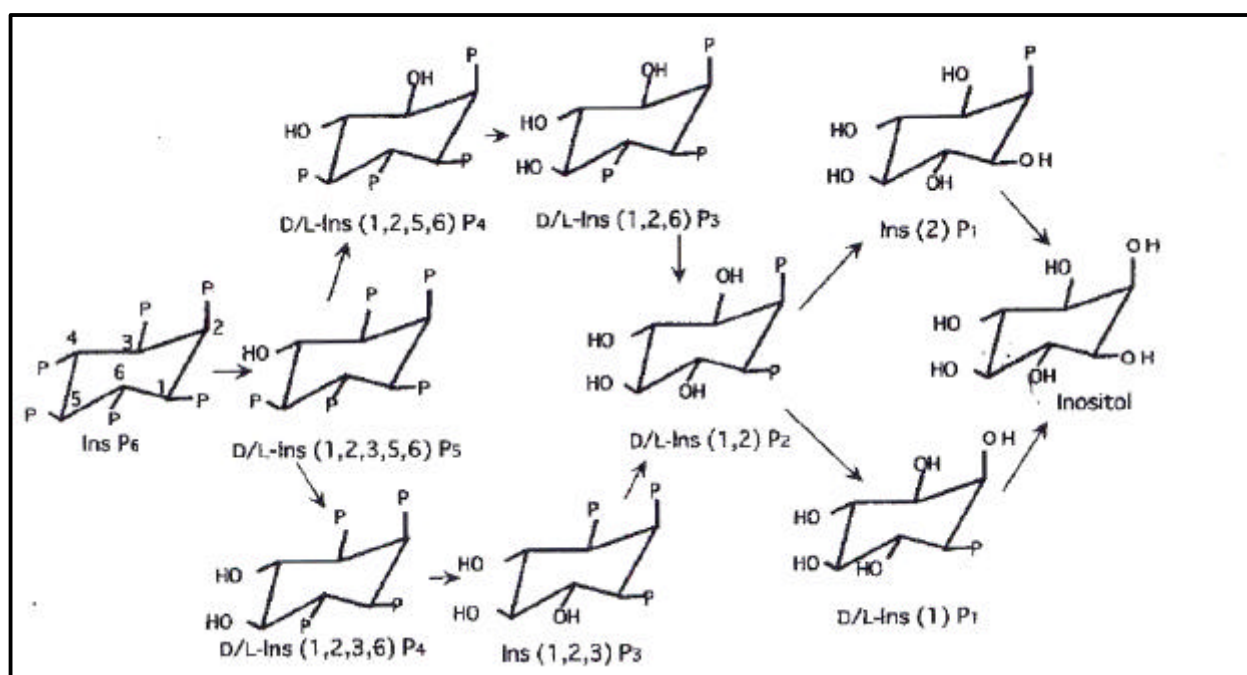
Figura 2.7. Esquema de la ruta de hidròlisi de fitasa (Kerovuo i col., 2000)



Dvoráková i col. (2000) descriueren la formació de fosfats d'inositol per la 3-fitasa d'*Aspergillus niger*. Tot i que no descriuen el mecanisme ni els compostos intermedis de la reacció, si que descriuen la cinètica de la reacció, aconseguint que als 30 minuts de reacció, els fosfats de l'àcid fític estiguin un 16% separat, observant-se la presència de IP₅ i IP₄. Passades 2-3 hores de reacció, hi havia hidrolitzat al voltant del 40% del fosfat, i prevalien les presències dels IP₃ i IP₂, mentre que els compostos IP₅ i IP₄ eren compostos minoritaris.

En la Figura 2.8 es mostra una ruta de degradació del fitat per fitases de llegums, tres de tramús (LP1, LP11 i LP12) i una de fava, descrita en el treball de Greiner i col. (2002b). Es pot observar els passos fins a obtenir el monofosfat d'inositol (2-IP), descrivint que el pas de IP₆ a IP₅ és diferent segons sigui l'enzim que actua. Si actuen els enzims LP11 i LP12 de tramús, que tenen una activitat 3-fitasa, el primer compost obtingut serà el (1,2,4,5,6)-IP₅; mentre que si els enzims que actuen són el de fava i LP1 de tramús, el primer compost serà el (1,2,3,5,6)-IP₅, ja que els autors descriuen que tenen activitat 6-fitasa.

Figura 2.8. Ruta de degradació del fitat per fitasa de llegums. (adaptat de Greiner i col., 2002)

Figura 2.9. Ruta de desfosforilació de l'hexafosfat d'inositol per acció de la fitasa del segó de blat de *Triticum aestivum* L. cv Nourin #61. (Nakano i col., 2000).

Nakano i col. (2000) van proposar la ruta de desfosforilació de l'àcid fític per fitases de segó de blat (de *Triticum aestivum* L. cv Nourin #61). Mitjançant la tècnica del RMN, els autors van poder establir amb seguretat les estructures del fosfats intermedis i també la de la molècula de mio-inositol. En tractar-se d'una fitasa procedent d'un vegetal el primer compost intermedi obtingut és el (1,2,3,5,6)-IP₅, producte de l'activitat 6-fitasa de l'enzim. Seguint tots els passos, Nakano i els seus col·laboradors són els únics autors revisats que arriben a observar el mio-inositol com a producte final de la hidròlisi (Figura 2.9).

2.4.5. Estabilitat tèrmica.

Amb el fet de considerar la fitasa com a additiu alimentari per a pinsos d'animals monogàstrics de granja, han aparegut una sèrie de implicacions, com el fet que l'enzim ha d'ésser capaç de resistir les altes temperatures aplicades en la fabricació del pinso, entre 60 i 90°C. Bona part de les fitases conegudes presenten temperatures de desnaturalització entre 56 i 63°C, límit superior del rang de temperatura òptima, tal com s'ha descrit anteriorment.

Wyss i col. (1998) realitzaren un estudi de comparació de la termoestabilitat de diversos enzims (una fitasa d'*Aspergillus fumigatus* i una fitasa i una fosfatasa àcida de pH 2.5 d'*Aspergillus niger*). Aquests autors observaren que les dues fitases es desnaturalitzaven entre 50 i 70°C. Després de la desnaturalització per calor a temperatures superiors a 90°C, la fitasa d'*A. fumigatus* es torna a plegar completament fins a una conformació totalment activa i similar a l'original, mentre que en el cas de la fitasa d'*A. niger* exposada a temperatures de 55 i 90°C es va associar a un canvi conformacional irreversible amb pèrdues en activitat enzimàtica d'entre el 70 i el 80%. En canvi, la fosfatasa àcida d'*A. niger* mostrà una termoestabilitat considerablement més alta, observant-se la desnaturalització, canvis conformacionals i inactivació irreversible a temperatures iguals o superiors a 80°C. Finalment, també observaren que a 85°C la recuperació de l'activitat enzimàtica fou considerablement superior per la fitasa d'*A. fumigatus* (51%) que per la fitasa d'*A. niger* (31%).

Tecnològicament és possible millorar l'estabilitat de l'enzim fitasa, doncs es tracta d'una proteïna. Ward (2002) descriu que un dels factors que afecten més a l'estabilitat d'aquest enzim és la humitat,

conjuntament amb la calor, especialment en el processat del pinso. A la temperatura a què l'enzim es desplega, l'autor va trobar que era altament depenent del contingut d'humitat de l'ambient. Per tant, una manera de millora l'estabilitat tèrmica de la fitasa és minimitzar l'exposició de l'enzim a la humitat. L'ús de fitases seques ofereixen un major nombre d'avantatges que l'ús de les líquides. A nivell d'estructura de la molècula de la fitasa, es poden aplicar tres possibles accions tecnològiques per tal d'augmentar la temperatura de desnaturalització (Mendoza Parra, 2002):

- a) Mutagènesi aleatòria seguida de selecció.
- b) Comparació de la seqüència dels aminoàcids amb una altra proteïna presentant una major estabilitat, i posterior mutagènesi dirigida cap els aminoàcids seleccionats.
- c) Introducció dels possibles aminoàcids estabilitzadors, basat en l'estructura tridimensional de la proteïna.

Una altra manera de millorar l'estabilitat tèrmica i, per tant, evitar la desnaturalització, consisteix en recobrir l'enzim amb una coberta dissenyada per protegir-lo contra l'agressivitat del processament del pinso, afectant paràmetres com la calor i la humitat (López Álvarez, 2002). Gràcies a això és possible una granulació amb temperatures de condicionador de fins 90°. El grànul que recobreix l'enzim pot estar format per fibres de cel·lulosa modificades que absorbeixen l'aigua degut a un procés de ruptura. En el tracte intestinal de l'animal, la coberta es dissol en el procés de la digestió i en el cas de les aus el procés s'accelera per la trituració que es realitza en el pedrer.

2.4.6. Estudis de l'aplicació de fitasa en nutrició

En els darrers anys s'han realitzat estudis sobre l'aplicació de fitasa en nutrició ja sigui humana com animal (avicultura, porcina, de remugants, etc).

2.4.6.1. Nutrició humana

El contingut mineral dels llegums normalment és alt, però amb una biodisponibilitat pobra degut a la presència de fitat, que és el principal inhibidor de l'absorció de minerals essencials de la dieta. El complex fitat és insoluble al pH fisiològic de l'intestí, causant reduccions en el balanç de ferro, zinc

i calci, dins l'intestí humà (Sandberg, 2002). Una possible conseqüència d'aquest poc accés als minerals és l'anèmia, malaltia caracteritzada per la manca de disponibilitat del ferro.

Els estudis d'aquesta qüestió en humans són complicats pel tipus de fitat emprat, la dificultat de separar els efectes de la fibra dietària, i per la possibilitat que el fitat pot ser parcialment degradat per l'intestí humà, amb la conseqüent alliberament dels minerals units per absorció (Anònim, 1989). S'ha trobat tres tipus de fitases en el tracte gastrointestinal humà: la fitasa procedent de la dieta, la fitasa de la flora bacteriana en l'intestí i les fitases de la mucosa intestinal. Bitar i Reinhold (1972) examinà l'activitat fitàsica de la mucosa de l'intestí prim d'humans (entre altres espècies). En un procediment *in vitro* trobà que el pH òptim de la fitasa era de 7.4, per la qual cosa l'enzim fitasa difereix bastant de la resta de fosfatases alcalines.

Sandberg i col.(1987) examinaren l'habilitat dels humans per degradar el fitat de la dieta. Quan els subjectes estudiats menjaren una barreja de segó, el 58% del fitat s'hidrolitzava a IP₅, IP₄ i IP₃ després de passar per l'estómac i intestí prim. En canvi, després de consumir segó extrusionat només es va hidrolitzar el 25% de IP₆ a IP₅ i IP₄. Els autors van fer la hipòtesi que la manca de digestió de fitat, quan es consumí segó extrusionat, podria ser causat per la degradació de les fitases endògenes del segó durant el processament del menjar o per la formació de complexos de fitats insolubles. En un altre estudi del mateix grup d'autors (Sandberg i Andersson, 1988) van concloure que molt poca quantitat de fitat va ser degradat per la fitasa intestinal en els subjectes que menjaren diferents formes de fitat. Per tant, sembla tenir més importància la fitasa de la dieta que la endògena corresponent a la mucosa intestinal.

Sandberg i col. (1996) estudiaren els efectes de dos tipus de fitases (la del cereal i la microbiana) en dieta de blat. Els resultats mostraren que es produí una degradació completa i efectiva del fitat ocorreguda en l'estómac després de afegir fitasa d'*Aspergillus niger* en la dieta. Com a conseqüència es va augmentar la retenció de ferro en un 86% (de 14% a 26%).

2.4.6.2. Nutrició animal

Els efectes de l'addició de fitasa en la nutrició animal estan més estudiats en animals monogàstrics que en la resta, com per exemple, els remugants. Bàsicament és degut a que el temps de digestió en el segon tipus d'animals és major que en el primer, i per tant, els enzims endògens de l'animal i els de la flora bacteriana present en el rumen tenen més temps per actuar.

2.4.6.2.1. Remugants.

Bona part dels estudis publicats referents als remugants es basen en la reducció del requeriment de la concentració de fòsfor, sense produir conseqüències negatives ni en la constitució dels animals ni en la seva alimentació, ja sigui per la llet materna o per la dieta emprada (Karn, 2001; Paterson, 2003).

Tal com descriuen Yanke i col. (1998) els remugants presenten, a diferència dels monogàstrics, una activitat fitàsica digestiva i que potencialment és capaç d'utilitzar el fitat, sent innecessari subministrar fosfat en les dietes. Aquests mateixos autors comenten que les bactèries ruminals podrien ser una bona font comercial de fitasa, pels alts valors de la seva activitat.

2.4.6.2.2. Porcs.

En la Taula 2.5 es presenten dades procedents de la revisió bibliogràfica referent als efectes beneficis de l'addició de fitasa en dietes de porcs sobre els paràmetres productius (Taula 2.5a i 2.5c) i sobre la digestibilitat de nutrients (Taula 2.5b i 2.5c). Revisant les dades presentades, es pot observar que, com diuen Simons i col. (1992), l'addició de fitases a dietes deficientes de fòsfor en porcs fa que el creixement de l'animal sigui igual o millor que les dietes control que cobreixen els requeriments per al creixement (Beers i Jongbloed, 1992; Harper i col., 1997; Li i col., 1998; Matsui i col., 2000; Gentile i col., 2003), succeint en la majoria dels casos consultats. La fitasa microbiana afegida en les dietes millora, no només la retenció aparent de fòsfor, si no que també millora la d'altres nutrients com la matèria seca, proteïnes, o minerals com el calci (Lei i col., 1993; Mroz i col. 1994; Helander i col., 1996; Spencer i col., 2000; Zimmermann i col., 2003).

Taula 2.5a. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de porcs sobre els paràmetres productius.

Referència	Dades estudi	Tipus dieta i SE ¹	Tractament	Resultats productius				
				GMD ³	CMD ⁴	IC ⁵		
Cromwell i col., 1993	Porcs 18.6 kg PV ²	31% farina soja 33% dextrosa 33% farina moresc Fitasa: tres nivells P: fòsfor afegit com monofosfat sòdic	Dieta base	458	1370	3.01		
			+ 0.05% P	579	1490	2.58		
			+ 0.10% P	635	1650	2.60		
			+ 0.15% P	747	1840	2.47		
			+ 250 U Fit ⁶	474	1490	3.15		
			+ 500 U Fit	529	1590	3.01		
			+ 1000 U Fit	564	1720	3.06		
			CV	11.3	13.9	12.6		
	Porcs 20.7 kg PV	77% moresc 20% farina soja Fitasa: dos nivells P: fòsfor afegit com monofosfat sòdic	Dieta base	536	1490	2.78		
			+ 0.075% P	662	1550	2.34		
			+ 0.15% P	726	1650	2.28		
			+ 500 U Fit	600	1590	2.65		
			+ 1000 U Fit	648	1690	2.62		
			CV	6.6	8.4	5.4		
			Pr (fòsfor)	0.01	NS	0.01		
			Pr (fitasa)	0.01	0.01	NS ⁸		
Kemme i Jongbloed, 1993	64 truges i mascles castrats, 30-70 kg	20% segó i tercers de blat 31% moresc 20% tapioca Fitasa (500 U/kg)	Dieta base	GMD	CMD	IC		
			+ Fit	691	1650	2.39		
			EEM ⁹	696	1650	2.37		
			Pr	8.8	0.01	0.03		
Lei i col. , 1994	64 pocs, 8 kg PV	77% moresc 20% soja 44 VitD: vitamina D amb dos nivells Ca: dos nivells Fitasa: dos nivells	750 U Fit	GMD	CMD	IC		
			660 UVitD + 0.4%Ca	497	1058	2.13		
			660 UVitD + 0.8%Ca	307	882	2.87		
			6660 UVitD + 0.4%Ca	440	1120	2.55		
			6660 UVitD + 0.8%Ca	314	890	2.83		
			1200U Fit					
			660 UVitD + 0.4%Ca	573	1192	2.08		
			660 UVitD + 0.8%Ca	303	840	2.77		
			6660 UVitD + 0.4%Ca	488	1093	2.24		
			6660 UVitD + 0.8%Ca	408	1062	2.60		
			Pr (fitasa)	NS	NS	NS		
			P (VitD)	NS	NS	NS		
P (calci)	0.007	0.04	0.0005					
Cromwell i col., 1995	35 porcs 13 kg PV	74% moresc 20% farina soja Fitasa: quatre nivells d'addició Addició de diferents nivells de fosfat monosòdic	Dieta base	GMD	CMD	IC		
			+ 0075% P	424	1170	2.74		
			+ 0.150% P	571	1430	2.50		
			+0.007%P +250Fit	641	1470	2.29		
			+0.007%P +500Fit	501	1390	2.78		
			+0.007%P +1000Fit	509	1340	2.64		
			+0.007%P +2000Fit	538	1400	2.62		
			CV	545	1320	2.42		
			Pr (fòsfor)	13.5	13.6	7.3		
			Pr (fitasa)	0.01	0.05	0.01		
Biehl i Baker, 1996	54 porcs, 7.6 kg PV	Dieta deficient P. 2% farina moresc 61% moresc 31% farina soja Fitasa. 1200 U/kg P: Monofosfat potàssic D3: µg/kg1 α-OH D ₃	Dieta base	GMD	IC			
			+0.10% P	295c	2.11c			
			+ Fit	470b	1.68b			
			+ 20 D3	463b	1.64a			
			+ Fit + 20 D3	327c	2.07c			
			+0.30%P+0.25%Ca	466b	1.62a			
			EEM	546a	1.55a			
			Pr	17	0.019			
				0.05	0.05			
			Murry i col., 1997	18 truges joves 10.9 kg PV	PD: Dieta P deficient 57% perles de mill 25% farina soja PA: Dieta P adequat: 55% perles de mill 26% farina soja Fitasa: dos nivells	PD	GMD	CMD
PD + 700 U Fit	433	871				2.34	7.92	10.68
PD + 1000 U Fit	532	871				1.79	9.66	10.82
PA	558	871				1.68	9.34	10.23
PA + 700 U Fit	564	871				1.65	9.64	11.03
PA + 1000 U Fit	542	871				1.76	9.52	10.53
EEM	528	871				1.83	9.79	11.23
Pr (fòsfor)	20	-				0.018	0.218	0.951
Pr (fitasa)	0.003	NS				0.003	0.002	NS
Pr (fòsfor x fitasa)	0.01	NS				0.007	0.004	NS
	0.001	NS				0.001	0.003	NS

Taula 2.5a. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de porcs sobre els paràmetres productius. (continuació)

Referència	Dades estudi	Tipus dieta i SE	Tractament	Resultats productius					
Han i col., 1998	40 truges joves 9.9 kg PV	58-69% moresc 25-28% soja STB: segó i tercers de blat Diferents nivells de fòsfor no fític Fitasa: 1200 U/kg	CN ¹¹ + 0.1 FNF + 0.2 FNF + 15 STB + Fit EEM Pr	GMD	CMD	IC			
				482b	1112b	2.31b			
				710a	1473a	2.07ab			
				756a	1583a	2.09ab			
				637a	1386ab	2.18ab			
				725a	1475a	2.03a			
				40	66	0.012			
				0.0001	0.002	0.01			
Li i col, 1998	30 porcs en creixement de 23.4 kg PV	74% moresc 23% soja Nivell baix P Fitasa Vit D: Vitamina D	Dieta base + Vit D + Fit + Vit D+Fit CP ¹² EEM Pr	GMD	CMD	IC	P sèrum	Ca sèrum	
				462b	1340b	2.90a	6.55b	10.44	
				475b	1354b	2.85a	7.26a	10.28	
				512a	1374a	2.68b	8.49a	10.33	
				540a	1377a	2.55b	8.76a	10.26	
				523a	1366a	2.61b	9.24a	10.18	
				2.3	4.6	0.05	0.22	0.24	
				0.05	0.02	0.03	0.03	NS	
Radcliffe i col., 1998	96 porcs destetats, 7.4 kg PV	64/67% moresc 30/28% soja Fitasa: 250, 500, 750 U/kg ÀC: àcid cítric: 1.5 i 3.0 %.	0 + 250 U Fit + 500 U Fit + 750 U Fit Pr (Fitasa) 0 + 1.5% AC + 3.0 AC Pr (AC)	GMD	IC				
				321	2.01				
				329	2.11				
				340	2.09				
				327	2.21				
				0.05	NS				
				313	2.21				
				336	2.09				
340	2.00								
NS	0.001								
Matsui i col., 2000	66 mascles castrats 10.4 kg PV	DPA: dieta nivell adequat de fòsfor DPB: dieta nivell baix de fòsfor 74% moresc 21% soja Fitasa: dos tipus, de llevat (Ll) i microbiana (M)	DPA DPB DPB + 1000U FitLl DPB + 2000U FitLl DPB + 4000U FitLl DPB + 1000U FitM EEM Pr	GMD	CMD	IC	P sèrum	Ca sèrum	
				610a	1260	2.05	9.6a	11.5	
				432b	1010	2.33	5.9d	11.9	
				525ab	1130	2.17	7.8c	11.8	
				553a	1170	2.14	8.8ab	11.3	
				558a	1260	2.19	8.1bc	11.6	
				569a	1120	2.03	8.2bc	11.7	
				31	110	0.020	3.3	3.0	
0.05	NS	NS	0.001	NS					
Stahl i col., 2000	140 porcs en total: 48 en experiment 1 50 en experiment 2 42 en experiment 3	62% moresc 30% soja 44 3% concentrat de proteïna de sèrum Fitasa: 1200 U/kg Addició de fosfat bicàlcic	Dieta base + FitLl + FitM + 0.22% FNF EEM Pr	GMD	CMD	IC			
				488b	902	1.85c			
				564a	948	1.68a			
				567a	968	1.70ab			
	Estudi comparatiu de dos tipus de fitasa: microbiana (FitM) i de llevat (FitLl)	64% moresc 30% soja 1.5% proteïna plasma Fitasa: diferents nivells de FitLl Addició de fosfat bicàlcic	+ 300 U Fit Ll + 600 U Fit Ll + 900 U Fit Ll + 1200 U Fit Ll + 0.17% FNF EEM Pr	GMD	CMD	IC			
				519	1033	1.98			
				557	1054	1.89			
				553	1102	1.99			
				586	1124	1.92			
				567	1124	1.98			
				31	64	0.014			
				NS	NS	NS			
64% moresc 30% soja 44 1.5% proteïna plasma Fitasa: 700 U/kg Addició de fosfat bicàlcic	+FitLl +FitM + 0.17% FNF EEM Pr	GMD	CMD	IC					
		483	947	1.96					
		506	999	1.97					
		508	1004	1.98					
27	46	0.009							
NS	NS	NS							
Peter i col., 2001	408 porcs d'acabat, pes inici 84 kg PV	81.6% moresc 16% soja 10% oli soja Fitasa: dos nivells	CP CN + 300 U Fit + 500 U Fit EEM Pr	GMD	CMD	IC			
				784	2794	3.56			
				770	2771	3.60			
				774	2757	3.56			
				778	2727	3.51			
				11	34	0.002			
				NS	NS	NS			
				Paboeuf i col., 2002	120 porcs: 60 mascles castrats 60 femelles C: Creix. (25-60 kg) F: Final (60-107 kg)	42/44% blat 30/35% moresc 18/14% soja 48 Fitasa	MinCF T FitC FitCF EEM Pr (dieta) Pr (sexe)	GMD	IC
814	2.60								
785	2.71								
798	2.67								
810	2.64								
5	3								
NS	NS								
NS	NS								

Taula 2.5a. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de porcs sobre els paràmetres productius. (continuació)

Referència	Dades estudi	Tipus dieta i SE	Tractament	Resultats productius		
Augspurger i col., 2003	10 porcs 8.4 kg PV	1.5% midó de moresc 61% moresc 34% soja Fitasa: inclusió de tres productes comercials diferent (Fit A, Fit B, Fit C)	CN	GMD	IC	
			+ 0.05% FNF	369	1.88	
			+ 0.10% FNF	435	1.74	
			+ 0.15% FNF	476	1.62	
			+ Fit A	509	1.52	
			+ Fit B	460	1.65	
			+ Fit C	445	1.77	
			EEM	443	1.72	
			Pr (fòsfor inorg.)	17	0.022	
			Pr (fitasa)	0.01	0.01	
Gentile i col., 2003	72 truges destetades	67% moresc 28% soja 48 Fitasa: cinc nivells de inclusió	Dieta base	GMD	CMD	IC
			+ 250 U Fit	308	642	2.07
			+ 500 U Fit	389	717	1.83
			+ 750 U Fit	437	769	1.75
			+1000 U Fit	465	792	1.69
			+ 1250 U Fit	443	792	1.78
			EEM	440	747	1.70
			Pr	25	49	0.018
				<0.001	NS	<0.001
Selle i col., 2003	Porcs mascles i femelles destetats	Blat Pèsols Farina de soja Farina de colza 00 Fosfat mineral Fitasa: 625 U/kg	0.12% FF ¹⁰	GMD	CMD	IC
			0.12% FF + Fit	392	505	1.29
			0.22% FF	387	495	1.29
			0.22% FF + Fit	351	491	1.43
			0.32% FF	406	546	1.36
			0.32% FF + Fit	330	486	1.57
			EEM	370	511	1.40
			Pr (FF)	18.1	21.1	0.064
	Porcs mascles i femelles destetats	60% blat 10% Farina soja 8% llavor tramús Fitasa Xil: Xilanasa	Dieta base	NS	NS	0.010
			+ Fit	0.044	NS	NS
			+ Xil	NS	NS	NS
			+ Fit + Xil	NS	NS	NS
			EEM	NS	NS	NS
			Pr	NS	NS	NS
Shelton i col., 2003	48 porcs castrats 26.4 kg PV	2 nivells energia 56/63% moresc 31/24% soja 48 Fitasa: 500U/kg	2.9 kcal	GMD	CMD	IC
			2.9 kcal + Fit	610	1400	2.30
			3.2 kcal	630	1410	2.24
			3.2 kcal + Fit	710	1580	2.23
			EEM	730	1590	2.18
			Pr	20	10	0.01
	64 porcs: 32 truges joves i 32 porcs castrats	61% moresc 26% soja 48 Fitasa: 475 U/kg	Dieta base	0.01	0.01	NS
			+ Fit	GMD	CMD	IC
			EEM	850	1920	2.26
			Pr	840	1850	2.21
				20	40	0.008
				NS	NS	NS

¹SE: suplementació enzimàtica; ²PV: pes viu; ³GMD: guany mig (g); ⁴CMD: consum mig diari (g); ⁵IC: índex de conversió (g/g); ⁶Fit: Fitasa; ⁷Pr: probabilitat; ⁸NS: no significatiu; ⁹EEM: error estàndard de la mitja; ¹⁰FF: fòsfor fíctic; ¹¹CN: control negatiu; ¹²CP: control positiu.

Taula 2.5b. Efectes de l'addició de fitases en dietes de porcs sobre la digestibilitat de nutrients.

Referència	Dades estudi	Tipus dieta i SE ¹	Tractament	Digestibilitat					
Jongbloed i col., 1990	6 porc castrats 37 kg PV ²	DMS: moresc-soja 86% moresc 12% soja DP: dieta provada 42% tapioca 34% gluten moresc 8% farina gira-sol Fitasa: 1000 U/kg	DMS DMS +Fit ³ EEM ⁴ Pr ⁵ DP DP + Fit EEM Pr	MS ⁶ 83.9 84.1 1.2 NS 78.2 79.8 0.5 NS ⁸	Ptotal 12.9 42.6 4.0 0.01 27.8 54.8 2.0 0.01	IP ⁷ 9.6 59.7 6.2 0.01 -1.4 74.0 6.4 0.001			
Näsi, 1990	6 porcs creixement castrats	88% moresc 12% farina soja Addició de P, com fosfat bicàlcic Fitasa: 100 U/kg	Dieta base + 0.5% P + 0.5% P + Fit EEM Pr	N 44.0a 40.4b 41.9b 0.84 0.05	P 12.8 19.3 26.1 3.12 NS				
Simons i col., 1990	6 porcs en creixement 35-70 kg PV	DM: dieta moresc 86% moresc 12% farina soja DP: dieta provada 12% moresc 42% tapioca 34% menjar humà Fitasa: 1000 U/kg	DM DM + Fit EEM Pr	MS 85.2 85.0 1.6 NS	P 20 46 4.0 0.01	Ca 44 50 5.2 NS			
			DP DP + Fit EEM Pr	81.0 81.3 0.1 NS	34 56 1.6 0.001	50 58 1.0 0.01			
Lei, i col., 1993	12 porcs	77% moresc 20% soja 44 Zn: 30 mg/kg Fitasa: 1350 U/kg	Dieta base + Zn + Fit EEM Pr	P 24.9b 22.5b 69.6a 4.69 0.0001	Zn -46.0 -14.3 -41.7 29.91 NS	Ca 13.0b 19.2b 54.8a 4.67 0.0001			
Mroz i col., 1994	5 porcs castrats 45 kg PV	30% moresc 20% tapioca 15% farina soja 10% ordi 10% pesols Fitasa: 800 U/kg	Dieta base + Fit EEM Pr	P total 31.8b 55.1a 1.7 0.01	Ca 29.4b 46.4a 1.7 0.01	N 40.1 42.8 1.7 NS			
Pallauf i col., 1994	24 mascles castrats 9-12 kg PV	45% blat 30% ordi 22% moresc Fitasa: dos nivells de inclusió	Dieta base + 350 U Fit + 700 U Fit EEM Pr	P 54.1b 66.0a 71.2a 1.85 0.05	Ca 55.4b 68.3a 72.9a 1.94 0.05	Mg 32.2 34.1 33.6 1.73 NS			
Adeola, 1995	72 porcs: 36 truges joves i 36 porcs castrats	70% moresc 25% farina soja Cu: addició de Cu Fitasa: 1500 U/kg	Dieta base + 60Cu + 120 Cu + Fit + Fit + 60 Cu + Fit + 120 Cu EEM Pr (Fitasa)	P 60.8 61.4 58.0 62.3 61.2 64.3 3.7 0.05	Ca 62.1 58.4 59.9 63.7 64.5 64.7 4.86 0.05	Cu 7.2 19.9 10.2 15.4 16.9 21.3 7.28 NS	Zn 19.1 23.2 15.9 21.3 19.0 23.7 5.48 NS	Mg 31.9 34.6 29.4 36.3 32.1 38.2 6.63 NS	Mn 17.4 26.5 20.1 15.9 22.4 32.1 6.83 NS
Bruce i Sundstøl, 1995	4 porcs en creixement de 40 kg PV	80% civada 15% farina de soja Diferents nivells P MCP:monocalci fosfat Fitasa	MCP Dieta base Fit MCP + Fit EEM Pr	P 49.4b 42.0b 68.8a 66.4a 4.6 0.01	Ca 60.5ab 52.1c 69.2a 54.6c 2.8 0.05	Mg 36.5ab 28.6b 44.4a 41.5a 3.8 0.01	MS 75.5a 69.1b 76.4a 72.4ab 2.0 0.01	PB ⁹ 82.2ab 81.4ab 84.5a 79.8b 1.3 0.01	FB ¹⁰ 47.1 44.8 47.2 39.5 4.9 NS
Lantzach i Drochner, 1995	30 porcs castrats 16.0 ± 1.3 kg PV	71% ordi 20% farina soja Diferents nivells de ppm de fòsfor Diferents nivells de ppm de calci Fitasa: 1000 U/kg	0.4%P + 0.5% Ca 0.4%P + 0.5%Ca + Fit 0.4%P + 0.6%Ca + Fit 0.4%P + 0.7%Ca + Fit 0.4%P + 0.8%Ca + Fit Pr	P * 44.3c ± 0.8 62.3b ± 2.4 65.8ab ± 2.3 67.3a ± 4.2 64.3ab ± 2.6 0.05	Ca * 42.3c ± 2.5 70.0a ± 5.6 65.8a ± 4.0 60.2b ± 4.3 58.5b ± 2.7 0.05				

* mitjana ± desviació estàndard per sis animals en cada grup

Taula 2.5b. Efectes de l'addició de fitases en dietes de porcs sobre la digestibilitat de nutrients. (continuació)

Referència	Dades estudi	Tipus dieta i SE	Tractament	Digestibilitat					
				MS	Cendres	MO ¹¹	PB	P	Ca
Näsi i col., 1995	8 porcs castrats en creixement de 27.8 kg PV	80% ordi 10% farina colza S: 6% sèrum de llet assecat i tractat en remull Fitasa SP: Increment de P per addició de fosfat bicàlcic	SP	79.0	49.3	80.8	77.7	28.2	38.4
			SP + S	80.4	52.4	82.2	77.5	29.4	38.2
			SP + Fit	79.7	51.6	81.5	78.8	28.6	38.1
			SP + W + Fit	80.7	55.4	82.3	78.2	31.0	41.3
			-	80.1	52.1	81.8	78.7	31.8	35.1
			+ S	80.9	54.3	82.5	77.9	34.5	35.0
			+ Fit	80.0	54.4	81.6	79.1	40.2	42.1
			+ W + Fit	81.3	58.1	82.7	79.0	42.8	42.4
			EEM	0.39	0.96	0.37	0.68	1.6	1.7
			Pr (addició fòsfor)	0.05	0.001	NS	NS	0.001	NS
			Pr (remull)	0.001	0.001	0.001	NS	NS	NS
			Pr (Fitasa)	NS	0.001	NS	<0.001	0.001	0.01
Helander i col., 1996	8 porcs castrats	50/75% ordi Pes: 50/25% pesols Fitasa: 1000 U/kg P: addició de fòsfor amb fosfat bicàlcic	MS	84.6	86.0	80.7	46.0	38.3	33.0
			250	85.5	86.7	82.1	45.0	52.8	43.2
			250 + Fit	84.4	85.9	80.7	48.2	41.9	48.4
			250 + P	85.7	87.1	81.4	46.7	41.1	48.4
			250 + P + Fit	87.3	88.6	82.9	50.8	41.4	36.4
			500	88.1	89.1	84.6	52.5	57.8	44.0
			500 + Fit	86.8	88.1	82.2	56.2	48.8	52.2
			500 + P	87.2	88.5	83.5	55.0	48.7	52.6
			500 + P + Fit	0.40	0.37	0.72	0.98	1.54	1.88
			EEM	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.05
			Pr (pesols)	NS	NS	NS	0.001	0.05	0.001
			Pr (fosfor)	0.01	0.05	0.05	NS	0.001	0.01
			Pr (fitasa)						
Kemme i col., 1997a	112 porquets 32 growing-Finishing porcs 12 mares	20% segó i tercers de blat (amb la fitasa inactivada) 31% moresc 20% tapioca Fitasa: 500 U/kg	Porquets	P	Ca				
			Dieta base	23.0	39.3				
			+ Fit	36.6	43.9				
			EEM	1.21	0.93				
			Pr	<0.001	<0.001				
			Porcs						
			Dieta base	26.0	39.2				
			+ Fit	43.2	43.2				
			EEM	1.51	0.90				
			Pr	0.001	0.022				
			Mares						
			Dieta base	19.4	30.6				
			+ Fit	40.9	31.3				
Li i col, 1998	12 porcs castrat	58% moresc 32% soja Nivell baix P Fitasa CA: Àcid cítric Vit D ₃ : Vitamina D ₃	MS	86.6b	83.8b	37.9b	P ret	Ca	Ca ret
			+ Fit	87.9a	84.9ab	53.2a	0.6c	55.2c	1.8b
			+ Fit+CA	90.8a	86.1a	55.0a	0.9b	62.8b	2.2a
			+ Fit+Vit D ₃	98.8a	86.4a	55.4a	1.0b	63.3ab	2.2a
			+ Fit+CA+Vit D ₃	89.1a	86.8a	56.9a	0.9b	64.5a	2.4a
			+	87.8a	83.0b	56.3a	1.4a	65.9a	2.3a
			EEM	0.09	2.21	0.82	0.02	60.9a	2.5a
			Pr	0.04	0.03	0.03	0.04	0.11	0.04
				0.04	0.03	0.03	0.04	0.04	0.02
Valaja i col., 1998	6 mascles castrats 89.2-120.4 kg PV	59% subproducte destil·lació d'ordi 28% midó d'ordi 6% cel·lulosa Fitasa: dos nivells de inclusió	P	59.3	58.8	83.6	N		
			Ca	59.7	50.3	82.9	46.4		
			MS	62.1	55.3	83.9	48.7		
			N	3.87	2.65	0.33	47.0		
			EEM	NS	NS	NS	1.71		
			Pr	NS	NS	NS	NS		
Kemme i col., 1999b	6 porcs mascles castrats 37 kg PV	86% moresc 11% soja Fitasa: 900 U/kg FS: fitat sòdic AL: 3% àcid làctic	Cendres	53.5	45.3	22.7			
			Ca	58.1	54.1	27.7			
			Mg	1.03	1.48	1.71			
			NO AL	0.0001	0.0001	0.01			
			+ AL	52.2	44.8	22.0			
			EEM	59.5	54.5	28.3			
			Pr	1.03	1.48	1.71			
			No Fit	0.0001	0.0001	0.002			
			+ Fit	56.9	49.8	22.3			
			FS	54.7	49.5	28.1			
			EEM	1.03	1.48	1.71			
			Pr	0.046	NS	0.004			

Taula 2.5b. Efectes de l'addició de fitases en dietes de porcs sobre la digestibilitat de nutrients. (continuació)

Referència	Dades estudi	Tipus dieta i SE	Tractament	Digestibilitat								
Näsi i col., 1999	8 porcs en creixement 37.2 kg PV	DO: dieta ordi DM: dieta moresc 80% cereal 20% soja Fitasa: 1100 U/kg FA:Fosfatasa àcida en diferents nivells	DO	MS	PB	P						
			Fit + 500 U FA	85.1	84.1	58.6b						
			Fit + 4800 U FA	84.7	82.6	60.2a						
			Fit + 7900 U FA	85.1	84.4	60.7a						
			Fit + 19300 U FA	84.6	83.8	61.6a						
			EEM	0.46	0.58	0.81						
			Pr	NS	NS	0.05						
			DM	MS	PB	P						
			Fit + 500 U FA	88.7	86.4	49.9b						
			Fit + 4800 U FA	88.8	86.3	52.9a						
Liu i col., 2000	8 mascles castrats 123 kg PV Estudi de diferents valors de la relació Ca:P	78/85% moresc 17/11% soja 49 Fitasa: 500 U/kg		P		Ca						
			Int. Prim	Cec	Colon	Int. Prim	Cec	Colon				
			1.5:1	21.3	60.4	53.2	57.7	56.4	66.5			
			1.3:1	42.5	58.2	53.6	64.2	66.2	70.2			
			1.0:1	48.9	54.7	56.0	67.6	60.0	76.2			
			CP ¹²	34.3	51.6	50.3	50.8	57.2	60.5			
			EEM	4.4			5.3					
			Pr	0.01	NS	NS	NS	NS	NS			
			Spencer i col., 2000	20 mascles castrats 20 kg PV	MBF: 78% moresc baix en fitat MN: 78% moresc Normal 19% soja 48 FBC: fosfat bicàlcic	MBF + 0.2% FBC	P	Ca	N			
						MBF	54.8	51.6	71.3			
MN + 0.2% FBC	48.4	49.7				68.5						
MN	46.0	44.9				64.1						
EEM	16.1	38.8				64.5						
Pr	3.25	2.78				3.47						
	<0.01	<0.01				NS						
Traylor i col., 2001	Porcs castrats de 25 kg PV a l'inici	SBM: farina soja 45% farina moresc 31% soja nu SPC: proteïna soja 46% farina moresc 27% proteïna soja Cas: Caseïna 66% farina moresc 5% cel lulosa 5% caseïna Fitasa: tres nivells	SBM	PB	Ca	P						
			SBM + 500 U Fit	82.5	63.5	49.8						
			SBM + 1000 U Fit	83.4	67.5	64.3						
			SBM + 1500 U Fit	80.9	68.9	66.9						
			35% SBM	82.2	69.2	69.8						
			SPC	82.4	57.7	53.8						
			Cas	82.0	57.2	54.8						
			EEM	79.0	30.2	74.7						
			Pr (Cas vs. altres)	0.83	3.09	1.66						
			Pr (fitasa)	0.01	0.01	0.01						
				0.05	NS	0.01						
			Zimmermann i col., 2002	76 mascles castrats 16.6 kg PV Estudi de l'eficàcia de fitasa endògena (FitE) vs microbiana (FitM) en dos tipus de dietes per canvi del cereal de la dieta inactivat per cereal normal	DB: dieta de blat DS dieta de segó 44% moresc 19% cereal avaluat 16% farina tapioca 10% farina soja Fitasa: quatre nivells	DB	P					
						Dieta base	29.0c					
+ 50 U FitM	40.0bc											
+ 100 U FitM	50.2ab											
+ 150 U FitM	50.0ab											
+ 200 U FitM	54.9a											
EEM	2.45											
Pr	0.05											
Dieta base	29.0											
+ 50 U FitE	35.6											
+ 100 U FitE	35.6											
+ 150 U FitE	37.6											
+ 200 U FitE	37.0											
EEM	1.40											
Pr	NS											
DS	P											
Dieta base	28.0d											
+ 50 U FitM	36.4c											
+ 100 U FitM	41.2bc											
+ 150 U FitM	48.5ab											
+ 200 U FitM	50.9a											
EEM	2.01											
Pr	0.05											
Dieta base	28.0b											
+ 50 U FitE	30.7b											
+ 100 U FitE	36.6ab											
+ 150 U FitE	32.6a											
+ 200 U FitE	37.2ab											
EEM	0.97											
Pr	0.05											

Taula 2.5b. Efectes de l'addició de fitases en dietes de porcs sobre la digestibilitat de nutrients. (continuació)

Referència	Dades estudi	Tipus dieta i SE	Tractament	Digestibilitat		
				Cendres	Ca, mg	P, mg
Zacharias i col., 2003	72 porcs castrats 23.3 kg PV	73% ordi 22% farina soja 3 nivells addició ppm sulfat de coure Fitasa: dos nivells	20 Cu	39.7	336	235
			20 Cu + 250 U Fit	43.5	444	272
			20 Cu + 500 U Fit	43.9	428	277
			80 Cu	41.2	358	239
			80 Cu + 250 U Fit	42.6	412	277
			80 Cu + 500 U Fit	43.4	370	269
			175 Cu	40.9	360	241
			175 Cu + 250 U Fit	41.4	405	262
			175 Cu + 500 U Fit	43.4	376	256
			EEM	0.52	14.9	5.3
			Pr (Cu)	NS	NS	NS
			Pr (fitasa)	<0.001	NS	<0.001
			Pr (Cu x fitasa)	NS	NS	NS
Zimmermann i col., 2003	30 mascles castrats 16.5 kg PV Estudi de la suma de l'aport de fitasa de cereal i de microbiana	DB: dieta blat DS: dieta sègol DBS: dieta sègol + blat 44% morenc 19% cereal provat 16% tapioca 10% soja Fitasa: 150 U/kg provinent en parts iguals del cereal i de microbiana	DB Dieta base + Fit EEM Pr	P 29.0b 46.9a 3.3 0.05		
			DS Dieta base + Fit EEM Pr	28.0b 43.0a 2.7 0.05		
			DBS Dieta base + Fit EEM Pr	32.4b 38.2a 1.4 0.05		

¹SE: suplementació enzimàtica; ²PV: pes viu; ³Fit: Fitasa; ⁴EEM: error estàndard de la mitja; ⁵Pr: probabilitat; ⁶MS: matèria seca; ⁷IP₆: àcid fític (hexafosfat d'inositol); ⁸NS: no significatiu; ⁹PB: proteïna bruta; ¹⁰FB: fibra bruta; ¹¹MO: matèria orgànica; ¹²CP: control positiu.

La majoria d'estudis revisats utilitzen dietes de morenc com a cereal i soja com a font proteica. La diversitat de resultats observats es deu a la presència en la dieta d'altres components com, per exemple, àcids (Valencia i Chavez, 2002; Omogbenigun i col., 2003); però també, i com a factor molt important en els estudis, la diferent quantitat de fòsfor en la dieta, tant fòsfor total com no fític, (Cromwell i col., 1995; Harper i col., 1997; Han i col., 1998). S'han anat introduint en la dieta altres cereals, que tenen una major activitat endògena, amb una disminució de la quantitat de fosfat a afegir en el pinso; utilitzant-se cereals com el blat (Paboeuf i col., 2002; Selle i col., 2003), o subproductes com el segó (Zimmermann i col., 2002, 2003).

Un altre aspecte important dels estudis de fòsfor és establir l'estimació de les necessitats d'aquest mineral basant-se en la quantitat de fòsfor digerible (Jongbloed i Kemme, 1998). El requeriment de fòsfor no fític en el porc depèn del pes que l'animal té, però també té en compte que la relació Ca:FNF estigui dins els nivells recomanats. Les dades de requeriment es presenten en la Taula 2.6 (NRC 1998). Alguns estudis revisats han determinat la quantitat de fitasa exògena necessària per a

Taula 2.5c. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de porcs sobre els paràmetres productius i la digestibilitat de nutrients.

	1			Resultats productius			Digestibilitat						
Pointillart i col., 1987	12 porcs 3 mesos 27.8 kg PV ² Estudi activitat fitàsica endògena	DT: dieta tritcale 80% tritcale 7.5% proteïna soja DM: dieta morenc 89% morenc 9.2% proteïna soja	DT DM Pr ⁴	GMD ⁵ *	IC ⁷ *	P sèr ⁸ Ca sèr ⁸	P *	Ca *					
				710 ± 20 640 ± 20 0.05	2.44 ± 0.06 2.70 ± 0.06 0.05		60 ± 2 47 ± 3 0.05	45 ± 2 41 ± 3 NS ⁹					
Pointillart, 1991	12 porcs de 11.8 kg de PV	: dieta control : dieta segó rica	DC DS EEM ³ Pr	GMD	IC	P sèr ⁸ Ca sèr ⁸	P	Ca					
				550 590 0.02 NS	2.33 2.17 0.02 NS		5.58b 8.73a 0.39 0.05	36b 55a 4 0.01					50 53 2 NS
Beers i Jongbloed, 1992	384 porquets 11-25 kg PV	41% morenc 28% ordi 5% farina soja 6% llavor soja Fitsa: 1450 U/kg	14	GMD	CMD	IC	P	Ca	MS ¹⁰				
				424c 469b 456b 529a 15.6 0.05	695c 739b 735b 802a 16.3 0.05	1.65a 1.59b 1.62ab 1.52c 0.03 0.05	39.1d 44.6c 49.5b 60.1a 1.31 0.05	63.2a 58.6b 55.6b 61.6a 1.16 0.05	85.0a 84.2ab 83.8b 83.7b 0.45 0.05				
Adeola i col., 1995	48 porcs: 24 truges joves i 24 porcs castrats. Pes inici: 9.4 kg	68% morenc 28% soja 48 Zn: addició de sulfat de zinc Fitsa: 1500 U/kg		GM ⁵	CMD	IC	P ret ¹¹	Ca ret	Zn ret	Mg ret	Cu ret	Mn ret	
				257 412 333 405 26 NS 0.05	802 905 913 1009 54 NS NS	3.51 2.21 2.73 2.48 33 NS 0.05	3.0 3.3 3.0 3.1 0.12 NS 0.05	4.0 4.3 3.9 4.9 0.11 NS 0.05	7 10 34 57 4 0.05 0.05	341 289 235 284 18 0.05 NS	3.0 4.9 1.7 1.8 0.22 0.05 0.05	21.8 15.3 13.0 17.0 0.90 0.05 NS	
Komegay i Qian, 1996	96 porcs joves 7.8 kg PV	72% morenc groc 25% soja 48 Fitsa: varis nivells Addició de fosfat defluorinat per a tenir diferents nivells de FNF	0.7% FNF 0.7% FNF+ 350U Fit 0.7% FNF+ 700U Fit 0.7% FNF+ 1050U Fit 0.7% FNF+ 1400U Fit 1.6% FNF 1.6% FNF+ 350U Fit 1.6% FNF+ 700U Fit 1.6% FNF+ 1050U Fit 1.6% FNF+ 1400U Fit 3.2% FNF 3.2% FNF+ 1400U Fit EEM Pr (fòsfor) Pr (fitasa) Pr (fòsfor x fitasa)	GMD	CMD	IC	MS	P	Ca	N			
				244 282 300 338 337 256 328 387 357 386 327 368 24.1 0.01 0.01 NS	528 569 621 645 675 554 628 706 633 621 596 658 51.6 NS NS NS	2.16 2.01 2.04 1.89 1.93 2.13 1.91 1.82 1.72 1.60 1.82 1.78 0.150 NS NS NS	87.9 86.8 87.1 87.2 87.4 87.6 86.7 86.5 86.8 86.2 86.1 87.1 0.43 NS NS NS	27.6 40.2 42.1 47.7 52.5 35.3 47.6 53.9 56.2 54.4 57.2 68.3 2.35 0.01 0.01 NS	72.1 77.3 77.5 79.6 81.0 72.9 74.8 78.1 76.9 77.8 74.6 76.8 1.68 0.01 NS NS	85.4 83.2 83.4 83.4 83.9 83.4 82.8 81.8 83.1 83.4 81.0 0.73 NS 0.02 NS			

Taula 2.5c. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de porcs sobre els paràmetres productius i la digestibilitat de nutrients. (continuació)

	1		Resultats productius			Digestibilitat		
			GMD	CMD	IC	MS	P	Ca
Qian i col., 1996	96 porcs entre mascles i femelles Estudi de l'efecte de variacions de Ca:P en la dieta amb dos nivells de FNF en la dieta	73% morenc	488	913	1.88	86.1	53.4	76.0
		25% soja 48	428	880	2.05	86.4	49.2	74.5
		Fitasa: dos nivells	396	829	2.09	86.5	44.4	70.4
		Ca:P: tres nivells	486	871	1.79	84.5	57.2	77.4
		Fosfat defluorinat	458	865	1.89	85.9	57.9	76.0
		1.6:1 Ca:P (0.16%FNF)	419	809	1.93	86.4	54.5	73.6
		2.0:1 Ca:P (0.16%FNF)						
		1050 U Fit	504	893	1.77	85.2	55.9	75.8
		1.2:1 Ca:P (0.07%FNF)	455	870	1.89	86.1	52.8	74.0
		1.6:1 Ca:P (0.07%FNF)	376	732	1.89	86.5	49.4	73.0
		2.0:1 Ca:P (0.07%FNF)	500	922	1.83	85.4	61.2	76.5
		1.2:1 Ca:P (0.16%FNF)	435	865	2.25	85.6	60.1	76.9
		1.6:1 Ca:P (0.16%FNF)	433	868	2.01	85.6	55.6	72.9
		2.0:1 Ca:P (0.16%FNF)	27	40	0.026	0.4	1.4	1.7
		EEM	0.001	0.01	0.05	0.01	0.001	0.001
		Pr (Ca:P)	NS	NS	NS	NS	0.05	NS
		Pr (Fitasa)	NS	NS	NS	NS	0.001	NS
		Pr (fòsfor inorg.)						
Yi i col., 1996	96 porcs: 48 truges i 48 mascles castrats		GMD	CMD	IC	MS	P	Ca
			297	630	2.12	91.9	35.4	69.6
			315	631	2.00	91.6	38.8	67.9
			325	624	1.92	90.9	41.7	67.3
			342	654	1.91	91.3	44.1	71.2
			351	670	1.91	90.9	42.3	68.0
			308	613	1.99	90.5	41.2	69.6
			367	724	1.97	90.8	47.4	69.8
			365	703	1.93	91.8	53.3	75.9
			400	757	1.89	91.1	52.2	73.5
			406	764	1.88	90.6	50.0	69.4
			423	739	1.75	90.2	54.5	73.6
			446	754	1.89	90.4	61.8	74.1
			17	33	0.014	0.26	1.64	2.24
			0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	NS
			0.01	0.01	NS	NS	0.01	NS
			NS	0.05	NS	0.01	NS	NS
Han i col., 1997	48 porcs Estudi comparatiu de l'acció fitasa cereal i microbiana		GMD	CMD	IC	P	Ca	N
			408b	1436	3.51	52.1bc	54.2a	71.9b
			537a	1717	3.20	66.1a	56.0a	74.3ab
			529a	1663	3.10	59.4ab	61.6a	79.4a
			564a	1764	3.13	47.0c	41.9b	75.5ab
			35	110	0.020	3.6	3.4	1.7
			0.02	NS	NS	0.01	0.01	0.03

Taula 2.5c. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de porcs sobre els paràmetres productius i la digestibilitat de nutrients. (continuació)

	1	Resultats productius				Digestibilitat			
		GMD	CMD	IC	P	Ca	MS		
Harper i col., 1997	189 porcs entre mascles castrats i truges joves	866a	2141a	2.47a	48.5a	64.4	87.8		
	66/69% morenc 29/24% soja 48 Fitasa: dos nivells	708b	1814b	2.55b	38.0b	63.2	88.5		
	17 + 500 U Fit	830a	2091a	2.52a	47.7a	63.7	88.1		
		844a	2096a	2.49a	50.4a	64.1	88.6		
		20	60	0.003	1.40	1.35	0.45		
		0.01	0.05	0.05	0.01	NS	NS		
	140 porcs 29.5 kg PV	GMD	CMD	IC	P	Ca	MS		
	77/82% morenc 21/16% soja 44 Fitasa: tres nivells	876	2869	3.26	28.7	58.5	86.1		
	Diferents nivells de P per addició de fosfat monocalcic	928	2923	3.14	33.9	57.6	86.0		
		934	3056	3.22	39.5	57.7	85.2		
		917	2948	3.22	32.6	57.1	85.8		
		929	2898	3.12	37.4	60.0	86.0		
		936	2957	3.14	41.3	57.2	85.5		
		37	137	0.012	6.2	4.4	1.0		
		0.01	0.01	0.01	0.001	NS	0.001		
		0.01	NS	NS	0.001	NS	NS		
Kemme i col., 1997	96 mares	CMD			MS	MO ¹²	Cendres	Ca	P total
	: dieta Holanda	4930			84.9	87.8	42.0	39.8	31.7
		4830			84.9	87.6	46.4	47.6	45.1
		4700			91.1	92.7	57.1	42.5	34.5
	: morenc-soja	4820			90.4	92.3	55.5	42.0	41.9
		78			0.23	0.21	1.08	1.86	2.99
		0.044			<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
O'Quinn i col., 1997	72 porcs 45-55 kg PV	GMD	CMD	IC	P	Ca	MS	N	
	75-80% sorgo 23-19% soja Fitasa: dos nivells	970	3320	3.42	47.2	-	-	-	
		910	3210	3.53	60.8	61.0	92.1	88.3	
		980	3290	3.36	62.8	70.8	92.5	88.5	
		1000	3380	3.38	0.94	71.3	92.8	88.7	
		24	65	0.005	<0.01	1.49	0.22	0.46	
		0.01	0.04	NS	<0.01	<0.01	NS	NS	
Liu i col., 1998		GMD	CMD	IC	P	Ca	MS		
	78/85% morenc 17/11% soja 49 Fitasa: 500 U/kg	887	2823	3.17	43.2	61.4	87.5		
		899	2787	3.10	45.5	62.3	87.3		
		928	2912	3.13	47.1	72.8	87.5		
	Ca:P (CP)	931	2959	3.16	35.6	53.6	86.6		
		16	52	0.004	1.4	1.3	0.4		
		NS	NS	NS	NS	0.01	NS		

[illegible]

Taula 2.5c. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de porcs sobre els paràmetres productius i la digestibilitat de nutrients. (continuació)

		¹	Resultats productius				Digestibilitat	
			GMD	CMD	IC	MS	P	Hidrolisi FF ¹⁵ en ileum
Omogbenigun i col., 2003	96 porcs	35-50% moresc	284	421	1.48	80.8	38.2b	71.9b
		23/27% soja 48	267	437	1.64	80.2	28.8c	71.8b
		Fitasa	296	445	1.50	81.0	48.3a	84.0a
		AO:Acid Orgànic	304	445	1.46	81.0	53.4a	86.0a
		CN + Fit	15.3	15.4	0.04	0.35	2.08	1.4
		CN + Fit+AO	NS	NS	NS	NS	<0.05	<0.05
Torrallardona i col., 2003	32 mascles i 32 femelles 24 kg PV	EEM	533a	1091	2.07a	P		
		Pr	544a	1082	1.99a	43.6a		
			475b	1084	2.29b	54.7b		
			552a	1109	2.02a	30.3c		
			13.8	12.9	0.041	53.4b		
			NS	NS	0.01	2.95		
	farina gira-sol 750 U/kg cic,		0.01	NS	0.001	0.05		
			0.05	NS	0.05	0.001		
						NS		

SE: suplementació enzimàtica; ²PV: pes viu; ³EEM: error estàndard de la mitja; ⁴Pr: probabilitat; ⁵GMD: guany mig (g); ⁶CMD: consum mig (g); ⁷IC: índex de conversió (g/g); ⁸sèr: sèrum (mg/dl); ⁹NS: no significatiu; ¹⁰MS: matèria seca; ¹¹Ret: retenció (P i Ca en g/d; Mg, Zn, Cu, Mn en mg/d); ¹²MO: matèria orgànica; ¹³ED: energia digestible; ¹⁴Fit: Fitasa; ¹⁵FF: fòsfor fitic; ¹⁶CP: control positiu; ¹⁷CN: control negatiu.

suplir el fòsfor no fític, i per tant, disminuir la seva concentració en la dieta, sense que hagi perjudici per l'animal. Pointillart (1991), en estudis de garrins menjant una dieta de moresc i segó de sègol, va establir que 1200 U/kg de fitasa de segó podrien reemplaçar tot el fòsfor no fític de la dieta. Kornegay i Qian (1996), en un estudi de garrins que consumiren dieta de moresc i soja, descrigueren que 246 U/kg de fitasa poden reemplaçar 0.1% FNF. O'Quinn i col. (1997) en un estudi de creixement per a porcs i dietes de sorgo i soja, observaren que 300 U/kg de fitasa podrien reemplaçar tot el fòsfor no fític. Finalment, Roberson (1999) estudiant garrins que menjaren dietes de moresc i soja, descrigué que 500 U/kg de fitasa a la dieta poden reemplaçar 0.1% FNF.

Taula 2.6. Requeriments en la dieta de fòsfor no fític i relació Ca:P per varies classes de porcs. (NRC 1988)

Classe de porc	Requeriment de FNF (%)	Relació Ca:FNF recomanable
3 - 5 kg	0.55	1.6:1
5 - 10 kg	0.40	2:1
10 - 20 kg	0.32	2.2:1
20 - 50 kg	0.23	2.6:1
50 - 80 kg	0.19	2.6:1
80 - 100 kg	0.15	3:1

2.5. Cereals

Per poder fer un ús més òptim del grans de cereal es requereix tenir un bon coneixement de les seves estructures i composicions. Les implicacions pràctiques de l'estructura de la llavor són nombroses, i estan relacionades amb les diverses fases de la producció del gra, collita, emmagatzematge i el seu ús. La composició química dels diferents grans de cereal varia de manera àmplia, influenciada per la genètica, el sòl i els factors climàtics i culturals. Les diferents variacions es troben en les quantitats relatives de proteïna, carbohidrats, lípids, vitamines, minerals i pigments.

La composició, la química i els aspectes de processament són àrees d'interès científic fonamentals per assolir una producció millor d'aliment per a animals o humans.

Fins no fa gaire en l'alimentació avícola del nostre país s'utilitzava quasi de manera exclusiva el morenc. Però l'ús d'aquest cereal porta implícits alguns inconvenients (com ara el fet que s'ha d'importar, encarint-ne el producte, i la política de la Unió Europea), i en els darrers anys s'està canviant la metodologia de treball a seguir, augmentant la quantitat de cereals que són més propis d'Espanya, com l'ordi i el blat. Els cereals aporten energia als animals que els consumeixen, i per això són un dels components bàsics de les dietes. A més, d'aquesta aportació energètica, són importants els enzims endògens presents, però també es caracteritzen per la presència de factors antinutritius, com per exemple el mateix fitat.

2.5.1. *Morenc.*

El morenc (*Zea mays*) és, per bastant, el gra de cereal més gran d'entre els més comuns, tenint un pes de 250-350 mg (Hoseney, 1994). El gra de morenc està compost de quatre principals parts:

- a) la coberta o segó (format pel pericarp i la coberta protectora del gra), constituint entre el 5 i el 6% del gra;
- b) el germen i l'embrió, és relativament gran, essent entre el 10 i el 14% del gra;
- c) l'endosperma, que és el dipòsit de nutrients que donen suport a la germinació. És la fracció més gran de les que formen el gra. Compost per midó, que és l'aportació d'energia del gra. Les cèl·lules d'endosperma estan compactades amb grànuls de midó encaixats en una matriu de proteïnes amorfes. També hi ha cossos proteics encaixats en aquesta matriu.
- d) el 'tip cap', punt de unió amb la panotxa.

El gra de morenc més emprat presenta la següent composició típica: 72% de midó (24% d'amilosa i 76% d'amilopectina), 10% de proteïna, 4% de greix, 10% de fibra, 3% de sucres i 1% de cendres (Johnson, 1991). El gra de morenc també conté minerals, essent el potassi (0.37%), el fòsfor (0.29%) i el magnesi (0.14%) els que estan en major concentració.

2.5.2. Blat.

El gra de blat (*Triticum aestivum*) presenta de mitjana una llargada de 8 mm i un pes de 35 mg. La mida del gra varia àmpliament depenent de la collita i la seva localització (Hoseney, 1994). Les parts del gra de blat són:

- a) Les cobertes que protegeixen el germen i l'endosperma o albumen. Presenta diferents capes, que des de l'exterior a l'interior són:
 - a) Pericarpi del fruit, que prové de cèl·lules dels teixits de l'ovari de la planta mare i format per epicarpi, mesocarpi i endocarpi.
 - b) Tegument seminal o testa.
 - c) Tegument miscel·lari o banda hialina.
- b) Endosperma o albumen, la primera capa de la qual és l'aleurona o base proteica, degut a la seva riquesa en reserves nitrogenades. La resta és albumen farinaci, format de midó i també de reserves proteiques. Les cèl·lules de la paret d'endosperma estan formades per pentosans, altres hemicel·luloses i β -glucans, però no cel·lulosa.
- c) Germen o embrió, situat en la part inferior de la cara dorsal del gra, essent el 2.5-3.5% del gra. El germen té dos parts principals, l'eix embriònic i l'scutellum, que funciona com a òrgan d'emmagatzematge. El germen és relativament alt en proteïna (25%), sucres (18%), oli i cendres (5%). No conté midó.

La composició de nutrients del gra de blat és la següent: 12% de proteïna, 2% de lípids, 59% de midó, 2% de sucres reductors, 7% de pentosans, 2% de cel·lulosa, 2% de cendres i amb un 14% de contingut d'humitat (Mattern, 1991).

2.5.3. Ordi.

Estructuralment, es poden distingir les següents parts en el gra d'ordi (*Hordeum vulgare*) (Pérez-Vendrell, 1992):

- a) les cobertes, que representen el 13% de la matèria seca del gra. Les cobertes són molt pobres en proteïnes, però riques en cel·lulosa, hemicel·lulosa i lignina. Quasi tota la lignina del gra

es troba a les cobertes i això fa que aquestes presentin parets cel·lulars rígides i difícils de diferir malgrat ser triturades.

- b) el pericarpí;
- c) la testa;
- d) l'aleurona. Les cèl·lules de l'aleurona són les productores dels enzims (amilases, β -glucanases, proteases, etc.), que són necessaris per a la germinació i futur creixement del gra. Aquestes cèl·lules presenten parets molt primes, i formades bàsicament d'arabinoxilans i cel·lulosa, mentre que a l'interior de les cèl·lules es concentren les proteïnes, i el fòsfor en forma d'àcid fític. L'aleurona de l'ordi està constituïda per dos o tres capes de cèl·lules, que són d'una gran importància, i que signifiquen el 7% de la matèria seca del gra, el 13% del contingut total de proteïna, i és on es troben la majoria d'aminoàcids essencials, junt amb una part del greix i dels sucres lliures del gra.
- e) l'endosperma, és la fracció més important, representant el 76% del pes sec total del gra. L'endosperma es compon principalment de midó (75-85%) i de proteïnes de reserva (hordèines i glutenines). Les parets cel·lulars dins d'aquesta capa són més primes que les de les altres fraccions i es componen bàsicament de β -glucans [$\beta(1,3)$ -(1,4)-D-glucans], que formen el 70-75% de les parets. A l'endosperma no es troba ni cel·lulosa ni lignina, i en conseqüència, tant la proteïna com l'energia aportada pel midó, són més disponibles. Però alhora, les proteïnes de reserva són pobres en aminoàcids essencials (lisina, metionina i treonina), la qual cosa implica un valor biològic inferior al del gra d'ordi sencer.
- f) l'embrió o germen, forma el 3% de la composició del gra. El germen és una fracció molt rica en greix i fòsfor.

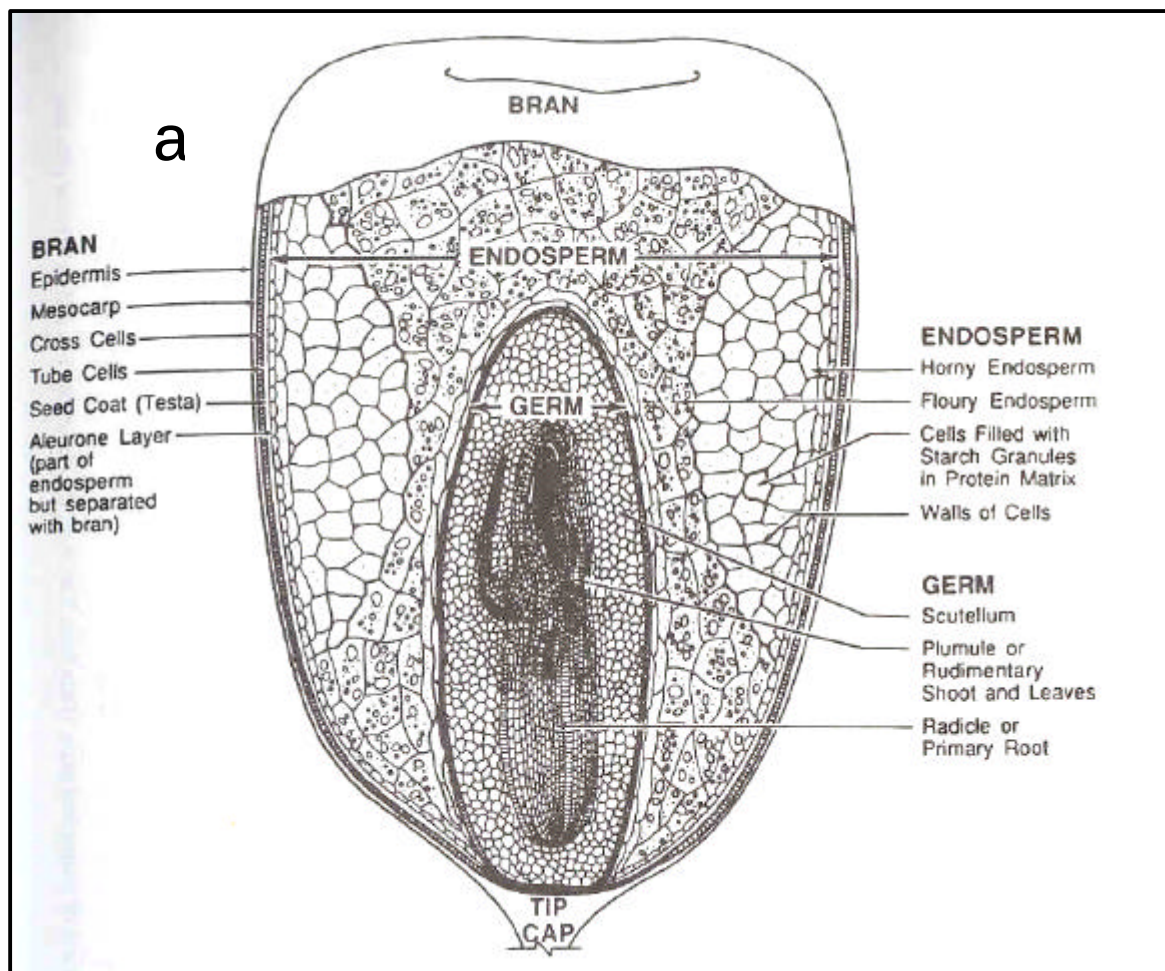
El pericarp i l'aleurona formen el 7-8% del gra. El pericarp i la testa, són de composició molt semblant a la de les cobertes però sense la presència de la lignina. Tant en la testa com en l'aleurona es troben concentrats els polifenols, formant complexos amb les proteïnes, que fan que aquestes siguin poc digestibles.

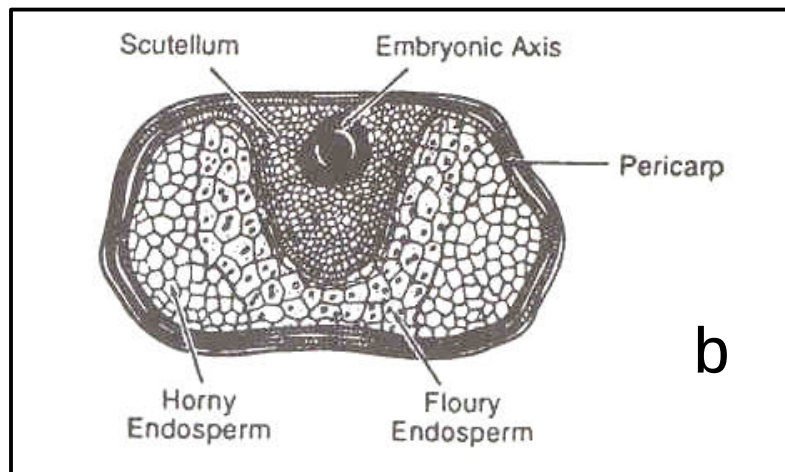
Els valors, en mitjana, de la composició de nutrients d'algunes classes d'ordi són: 13% de proteïna, 5% de fibra, 2% d'extracte eteri. Les quantitats de minerals en el gra d'ordi és bastant desigual, amb els següents minerals presents amb una concentració més gran: 0.56% de fòsfor, 0.51% de potassi, 0.14% de magnesi, i 0.04% de calci (Hockett, 1991).

En la Figura 2.10 es poden observar unes representacions dels grans dels tres cereals descrits anteriorment [a) morenc, b) blat, i c) ordi]. Per altra banda, la concentració de fòsfor fític i l'activitat fitàsica dels cereals es pot veure en les Taula 2.1 i Taula 2.3, respectivament.

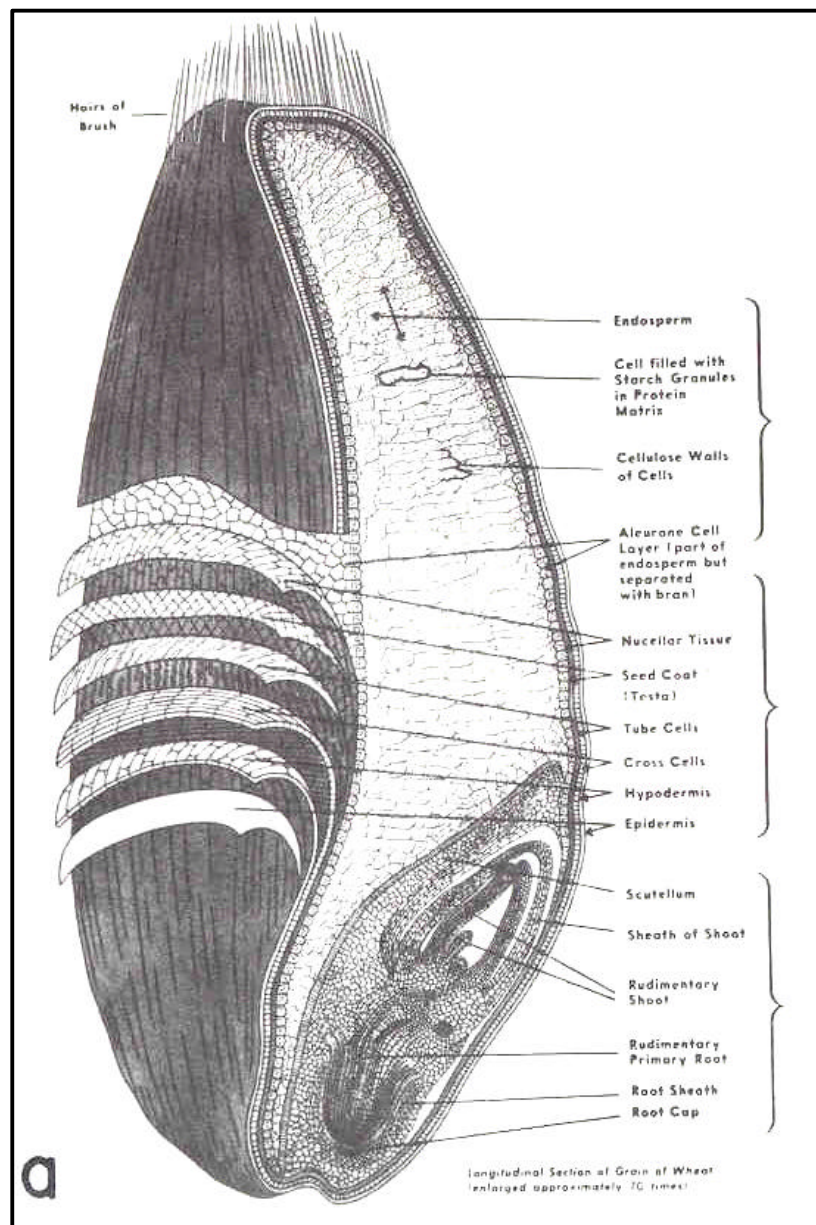
Figura 2.10. Representació esquemàtica dels grans dels cereals emprats en la prova: 10.1) morenc (a, tall longitudinal; b, tall transversal), 10.2 blat (a, tall longitudinal; b, tall transversal) i 10.3 ordi. (Lorenz i Kulp, 1991).

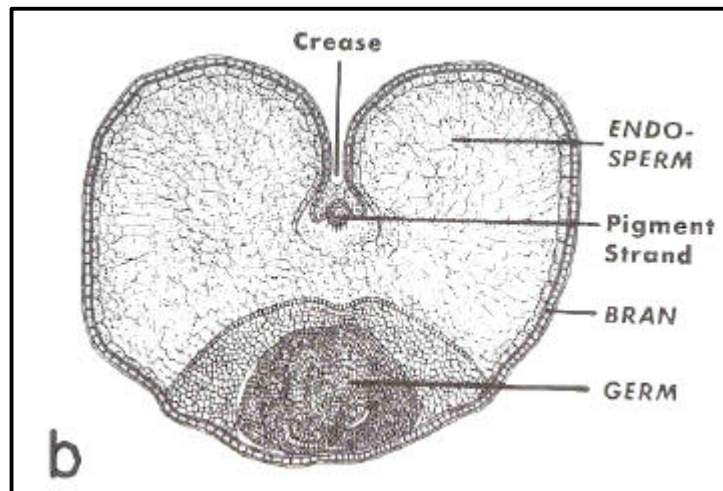
10.1 morenc



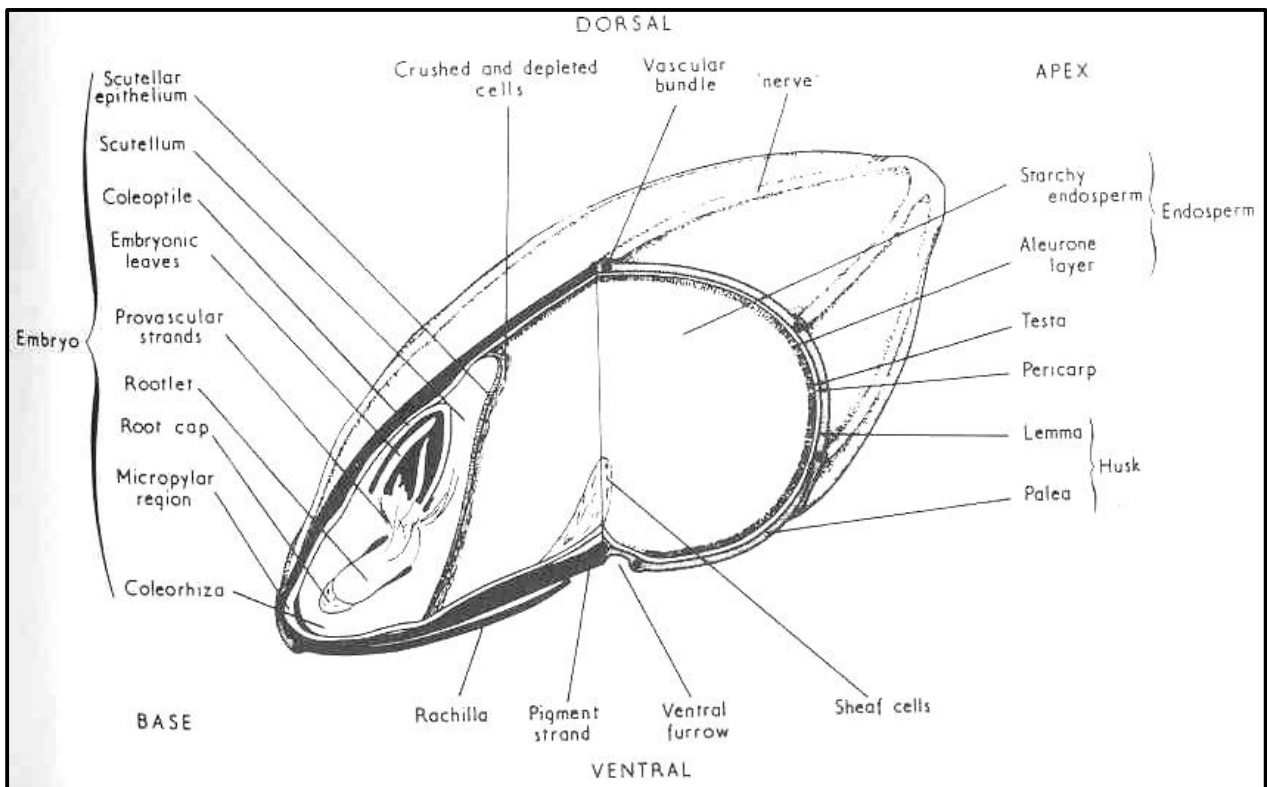


10.2 blat





10.3 ordi

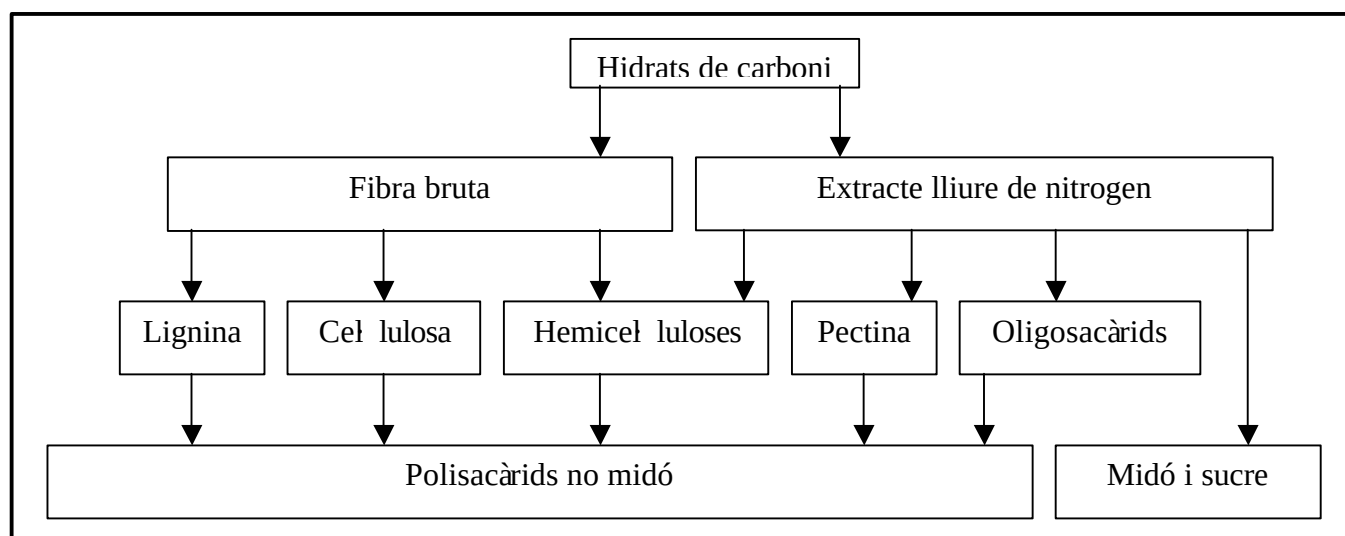


2.6. Polisacàrids no amilacis (PNA) i enzims degradadors

Els hidrats de carboni són els components principals de les matèries primeres d'origen vegetal dels pinsos per a animals monogàstrics, constituint més del 70% de la matèria seca (Figura 2.11). Una bona part d'aquests hidrats és el midó, entre el 50 i el 70%, mentre que un 10-15% corresponen als

polisacàrids no amilacis, els quals estan compostos d'una fracció soluble i una altra insoluble, aquesta última denominada, a pH 7, fibra neutre detergent (FND). La fracció soluble conté pectina, part d'hemicel·luloses i oligosacàrids (glucosa, fructosa, galactosa). La fracció insoluble dels PNA comprèn cel·lulosa (llargues cadenes de β -1,4-D-glucosa) i hemicel·luloses en gran part. Aquestes hemicel·luloses estan constituïdes per heteropolisacàrids formats per entre dos i quatre monosacàrids en una estructura ramificada. Els monosacàrids principals són pentoses (xilosa, arabinosa), però també se'n troben presents hexoses (galactosa, manosa i glucosa) (Bakker i col., 1998). La fracció hemicel·lulòsica més representativa del blat, triticle i sègol són els arabinoxilans. Estan compostos per una cadena principal de β -1,4-xilopiranososa lligada a residus d'arabinofuranosa en posicions 1-2 i 1-3. Per altra banda, la més representativa de l'ordi són els β -glucans, que són cadenes de glucosa amb enllaços β (1,4) i β (1,3).

Figura 2.11. Classificació dels carbohidrats (Brenes i col., 2002)



La presència d'arabinosa en els arabinoxilans (pentosans) i els enllaços periòdics β (1,3) en els β -glucans impedeixen la creació de ponts d'enllaços inter- i intramoleculars en les cadenes, i augmenta així la seva solubilitat, capacitat de retenció d'aigua i la seva viscositat (Classen, 1997).

2.6.1. ***β -Glucans.***

Els β -glucans constitueixen la classe més abundant de polisacàrids degut a l'àmplia presència de la cel·lulosa (β -1,4-glucà). Tanmateix, alguns altres β -glucans són produïts tant per fonts microbiana com no microbiana (plantes) (Marquardt, 1997). Els β -glucans són homopolímers de D-glucosa units en configuració β . Algunes molècules són relativament senzilles amb una cadena lineal de residus glicosil units per enllaços simples; altres consisteixen en una varietat d'enllaços tant en cadenes lineals com ramificats. Els grups d'enllaç presents en les molècules són $\beta(1,4)$; $\beta(1,3)$; $\beta(1,6)$; $\beta(1,3)$ i $\beta(1,6)$; $\beta(1,3)$ i $\beta(1,4)$; $\beta(1,2)$ i $\beta(1,4)$.

Taula 2.7. Nomenclatura i acció dels enzims degradadors de β -glucans (extreta de Marquardt, 1997).

Codi	Nom comú	Nom sistemàtic	Acció
3.2.1.4	Cel·lulasa	1,4-(1,3;1,4)- β -D-glucan 4-glucanohidrolasa	Endohidrólisi d'enllaços 1,4 en cel·lulosa i β -D-glucans contenint enllaços 1,3 i 1,4.
3.2.1.6	Laminarinasa	1,4-(1,3;1,4)- β -D-glucan 3(4) glucanohidrolasa	Endohidrólisi d'enllaços 1,3 o 1,4 en β -D-glucans, quan el residu de glucosa, el grup reductor del qual està implicat en l'enllaç a hidrolitzar, és substituït per si mateix en el C-3.
3.2.1.21	β -Glucosidasa	β -D-glucosidasa glucanohidrolasa	Hidrólisi de residus β -D-glucosil no reductors terminals, amb l'alliberament de β -D-glucosa.
3.2.1.39	Endo-1,3- β -glucanasa	1,3- β -D-glucan glucanohidrolasa	Endohidrólisi d'enllaços 1,3 en 1,3- β -D-glucans.
3.2.1.58	Exo-1,3- β -glucanasa	1,3- β -D-glucan glucanohidrolasa	Exohidrólisi d'enllaços 1,3 en 1,3- β -D-glucans, amb alliberament d' α -glucosa.
3.2.1.71	Endo-1,2- β -glucanasa	1,2- β -D-glucan glucanohidrolasa	Endohidrólisi d'enllaços 1,2 en 1,2- β -D-glucans.
3.2.1.74	Exo-1,4- β -glucanasa	1,4- β -D-glucan glucanohidrolasa	Exohidrólisi d'enllaços 1,4 en 1,4- β -D-glucans.
3.2.1.75	Endo-1,6- β -glucanasa	1,6- β -D-glucan glucanohidrolasa	Endohidrólisi d'enllaços 1,6 en 1,6- β -D-glucans.

La producció d'enzims degradadors de β -glucans és una característica pròpia d'organismes, encara que els fongs són els productors més comuns d'aquests enzims. Els enzims que hidrolitzen β -glucans es classifiquen segons el tipus d'enllaç β -glucosídic que trenquen i el seu mecanisme d'atac al substrat. En la Taula 2.7 es presenta un llistat dels diferents enzims degradadors de β -glucans. S'ha vist que la hidrólisi parcial dels β -glucans, particularment la forma endo- de l'enzim, no només redueix la viscositat dels β -glucans, sinó que també millora el valor nutritiu del cereals. Les exo- β -

glucanases, que trenquen les cadenes pels extrems, tenen relativament poc efecte en la viscositat de β -glucans. La degradació completa dels β -glucans a glucosa s'aconsegueix per la interacció sinèrgica de les endo- i les exoglucanases.

La presència d'enzims degradadors de β -glucans produeix augments de digestibilitats dels diferents nutrients, havent-se descrit millores en la proteïna (des d'un 2 a un 11%), en greixos (des d'un 2 a un 14%) o en el midó (entre un 5 i un 7%). (Almirall i Esteve-García, 1995; Almirall i col., 1995; Francesch i col., 1999).

2.6.2. Arabinoxilans.

Els arabinoxilans extrets del blat estan ben caracteritzats, i consisteixen, de manera predominant, en pentoses (arabinosa i xilosa), i per això, també es denominen pentosans. Els arabinoxilans es componen de un esquelet $\beta(1,4)$ -D-xilopiranosil, amb un o més residus d' α -L-arabinofuranosil substituïts en la posició 2 o 3. També estan constituïts, en alguns casos, en menor quantitat, però no menys importants, per hexoses i àcids hexurònics. És per aquest motiu que sovint són anomenats més correctament com a heteroxilans. A més, també poden incloure diferents àcids fenòlics i acetil·èsters (Marquardt, 1997).

La fracció d'hemicel·luloses es compon principalment de xilans units a les fibres de cel·lulosa per enllaços pont d'hidrogen, podent formar matrius amb unions que atrapen els complexos.

Els pentosans presents en el blat poden produir una disminució d'un 10% en la digestibilitat del midó, d'un 14% en la de la proteïna i d'un 24% en el cas dels lípids, així com la reducció del creixement animal i del consum de la dieta (Choct i Annison, 1990). També s'han establert que a major contingut d'arabinoxilans, menor és l'energia metabolitzable del blat (Choct i Annison, 1992).

La xilanasa, EC 3.2.1.8 (o xilan endo-1,4- β -xilosidasa o endo-1,4- β -xilanasa, amb el nom sistemàtic de 1,4- β -D-xilan xilanohidrolasa), és l'enzim que hidrolitza a l'atzar els enllaços 1,4- β -D-xilosídics en 1,4- β -D-xilans (Webb, 1992).

2.6.3. α -Galactòsids.

Representen els oligosacàrids presents en cereals com el *moresc*. S'inclouen dins d'aquest grup la rafinosa, la verbascosa i l'estaquiosa. La rafinosa és un oligòmer de sacarosa i galactosa, l'estaquiosa constituït per una sacarosa i un digalactòsid, verbascosa constituït per una sacarosa més un trigalactòsid, estant tots els monosacàrids units per enllaços α .

Els principals enzims degradadors d'aquests polisacàrids són l' α -galactosidasa (EC 3.2.1.22), també anomenat melibiasa i amb el nom sistemàtic α -D-galactosidasa galactohidrolasa, hidrolitzant el residu no reductor de l' α -D-galactosa en α -D-galactòsids, incloent els oligosacàrids de galactosa, galactomannans i galactolípid. L'altre enzim és la β -galactosidasa (EC 3.2.1.23), o lactasa amb el nom sistemàtic β -D-galactosidasa galactohidrolasa, hidrolitzant els residus β -D-galactosa no reductors terminals en β -D-galactòsids (Webb, 1992).

2.7. Utilització de la fitasa en la nutrició avícola

En la Taula 2.8 es mostra un resum de les dades recollides de la bibliografia referent a estudis de pollastres (Taula 2.8a), estudis de gallines (Taula 2.8b) i altres aus, com els galls dindi, ànecs i perdis (Taula 2.8c) sobre l'aplicació de l'enzim fitasa en els paràmetres productius, de digestibilitat de nutrients i la retenció mineral. Els requeriments de fòsfor no fític per a broilers, depenen de la fase de la creixement de l'animal: 0.33% per a 0-21 dies; 0.31% per a 22-42 dies; 0.28% per a 43-53 dies (Waldroup, 2001). Aquestes recomanacions estan determinades per a dietes de *moresc-soja*, per la qual cosa poden canviar significativament quan s'utilitzi altres tipus d'ingredients (Cepero, 1992).

2.7.1. Efectes de la fitasa en els paràmetres productius.

Hi ha molts estudis que demostren que l'addició de fitasa microbiana millora el guany de pes de l'animal i el consum de pinso en pollastres broilers (Simons i col., 1990; Denbow i col., 1995; Ahmad i col., 2000; Murai i col., 2002) i en indiots (Yi i col., 1996a). Les millores observades en el creixement en els animals quan menjaren dietes baixes en P amb fitasa podria ser degut a un o més

dels motius següents (Sebastian i col., 1998): a) un increment en el fòsfor absorbit; b) l'alliberament dels minerals del complex fitat-mineral; c) utilització de l'inositol, encara que potser qüestionable si tot el fòsfor provinent de l'àcid fític pot ser alliberat dins el temps de trànsit de l'aliment; d) un increment en la digestibilitat; o e) una disponibilitat augmentada dels aminoàcids. No obstant, Perney i col. (1993) van descriure que l'addició de fitasa en la dieta a dietes de moresc-soja no millorà el guany de pes o el consum de pinso, però sí que incrementava les cendres en els dits i en la tibia i el fòsfor no fític plasmàtic. Així mateix, alguns autors han descrit augments en el pes de l'animal i en el consum de pinso, però no en l'índex de conversió (Broz i col., 1994; Sebastian i col., 1996a).

La concentració mineral en el plasma de la sang també es veu afectada per la fitasa. Així, en nombrosos estudis, l'addició de fitasa microbiana en dietes baixes en nivell de fòsfor augmenta la concentració de fòsfor no fític i redueix la de calci (Perney i col., 1993; Sebastian i col., 1996a; Carlos i Edwards, 1998). Zyla i col. (1999) van trobar que l'addició de fitasa al pinso de broiler s'incrementava significativament el contingut de cendres de l'os quan s'utilitzaven entre 600 i 1000 U de fitasa per kg i 0.15% de FNF en comparació a la dieta amb el mateix nivell de FNF i sense fitasa afegida.

Van der Klis i col. (1997) van mostrar que, en dietes de gallines ponedores, el creixement de l'animal, les cendres de la tibia, i la densitat mineral de l'os pot estar afectat positivament per l'addició de 100, 200 o 300 U/Kg en dietes que contenen 0.12% de FNF. Punna i Roland (1999) van trobar efectes positius quan la fitasa era afegida en 300 U/kg a dietes amb nivells de FNF corresponents al 0.1%. Finalment, Ulm i Paik (1999) van mostrar que l'addició de fitasa podria millorar el consum de pinso si s'afegien 500 U/kg de l'enzim a dietes amb 0.37 i 0.24% de FNF.

2.7.2. Efectes de la fitasa sobre la disponibilitat de proteïna i aminoàcids.

Teòricament, la fitasa hauria de ser capaç d'alliberar la proteïna unida al fitat per a la seva utilització. Yi i col. (1996a), en femelles de galls dindi, van trobar que, a un nivell de 0.45% de FNF en una dieta que contenia un 22.5% de proteïna bruta, l'addició de fitasa tendia a millorar la

digestibilitat aparent i la vertadera del nitrogen i els aminoàcids, amb l'excepció de la cistina i la metionina. Sebastian i col. (1997) van mostrar que, en mascles, afegir fitasa incrementava la digestibilitat ileal aparent de la proteïna bruta però que no tenia influència en la digestibilitat ileal aparent dels aminoàcids, excepte per la metionina i la fenilalanina. Ravindran i col. (1999b) van mostrar que afegint 1200 U de fitasa per kg es podien obtenir efectes beneficiosos sobre la digestibilitat ileal aparent de la proteïna i aminoàcids en un grup d'ingredients de la dieta, essent més grans en blat, sorgo, i més petits en la colza 00; conclouent que les respostes per l'addició de fitasa han de ser més importants segons els efectes en el grau d'unió fitat-proteïna dels diferents ingredients.

És d'esperar que les interaccions fitat-proteïna influeixin en la digestió i l'absorció de les proteïnes i els aminoàcids. Però per a que aquests efectes siguin significatius depenen del caràcter i de la configuració del complex que varia amb les fonts de proteïna; i sembla que algunes proteïnes s'enllacen al fitat i d'altres no. Segons Champagne (1988), l'àcid fític s'uneix amb proteïnes de soja, blat, colza i cacauet, però no amb les de segó d'arròs, germen de moresc i cotó. O'Dell i de Boland (1976) van suggerir que l'accessibilitat dels grups enllaçants és el factor clau que determina que el fitat s'uneixi amb la proteïna.

2.7.3. Efectes de la fitasa sobre la disponibilitat de fòsfor.

S'han realitzat diversos estudis on es descriuen els beneficis de la fitasa en la disponibilitat del fòsfor total o fític en broilers (Denbow i col., 1995; Sebastian i col., 1996a; Qian i col., 1997; Waldroup i col., 2000; Shirley i Edwards, 2003), en gallines (Carlos i Edwards, 1998; Keshavarz, 2000a) i en indiots (Qian i col., 1996b; Yi i col., 1996a). Nelson i col. (1971) van ser els primers que mostraren que afegint fitasa d'*Aspergillum ficuum* a les dietes de broiler es millorava la utilització de fòsfor fític basant-se en el contingut de cendres dels ossos. Els resultats millors s'obtingueren en els casos en què els animals consumiren dietes amb nivells de fòsfor inferiors als recomanats, estant per sobre del 20% de millora. La quantitat alliberada de fòsfor fític per la fitasa microbiana depèn de la concentració de fòsfor fític de la dieta (Kornegay i col., 1996) o de la font

emprada de fitasa (Simons i col., 1990). Viveros i col. (2002a) van establir que la fitasa permetia una bona utilització del fòsfor en dietes de moresc, segó de sègol i soja, observant els millors resultats en presència de la fitasa microbiana, mentre que la fitasa endògena del segó de sègol no influï a tant, i que els resultats no eren tan bons. Broz i col. (1994) van indicar que amb l'addició de 125, 250 o 500 U/kg de fitasa, a dietes de moresc-soja amb 0.16% de FNF, es millorava significativament la utilització de fòsfor. Zanini i Sazzad (1999) també van comprovar que afegint 500 U/kg de fitasa a dietes de moresc-soja amb 0.40% de FNF es millorava la utilització de fòsfor i, per tant, es reduï a l'excreció d'aquest mineral; resultats similars als obtinguts per Yi i col. (1996b), després d'afegir 350, 700 i 1050 U/kg en dietes de moresc-soja amb nivells de fòsfor no fític entre el 0.27 i el 0.45%, o Lan i col. (2002), que van afegir 250, 500, 750 i 1000 U/kg a dietes de moresc-soja amb 0.24% de FNF.

Leske i Coon (1999), en un estudi amb gallines, usant dietes amb 0.1% de fòsfor no fític, van mostrar que l'addició de 300 U/kg de fitasa en pinso de posta es millorava la retenció de fòsfor total. També s'ha vist que la quantitat de fòsfor excretat pot reduir-se en dietes de gallines si se li afegeix 500 U/kg (Um i Paik, 1999). Keshavarz i Austic (2004) han vist que es pot reduir l'excreció de fòsfor en un 48% afegint 300 U/kg de fitasa a dietes amb 0.2% de FNF. Finalment, Rodehutscord i col. (2003) van observar la reducció d'un 50% en l'excreció de fòsfor degut a l'addició de 500 U/kg de fitasa en dietes de galls dindi.

2.7.4. Efectes de la fitasa sobre la disponibilitat de minerals.

Tal com s'ha descrit en l'apartat 3, l'àcid fític té un potencial quelant molt fort i forma complexos amb cations, fent que aquests resultin biològicament no disponibles. Teòricament, tots els minerals que estan units són alliberats quan la fitasa microbiana hidrolitza la molècula d'àcid fític. Hi ha molts estudis que indiquen que l'addició de fitasa microbiana millora la disponibilitat d'aquests minerals en broilers (Broz i col., 1994; Sebastian 1996a, 1996b; Biehl i col., 1997; Zanini i Sazzad, 1999; Lan i col., 2002), en gallines (Sohail i Roland, 2000) i en galls dindi (Qian i col., 1996b; Zyla i col., 1996).

Els efectes de la fitasa sobre el calci són els més estudiats, degut a la gran relació metabòlica d'ambdós minerals. S'han estudiat tant els efectes degut a la inclusió individual de l'enzim, com la combinació amb d'altres factors que influeixen en la disponibilitat del calci, com per exemple la vitamina D3 (Edwards, 1993; Roberson i Edwards, 1994; Mitchell i Edwards, 1996b). Qian i col. (1996b) van descriure augments en la retenció de calci en dietes de galls dindi amb nivells elevats de fitasa (600-900 U/kg), però que aquestes millores estaven afectades amb la relació Ca:P, disminuint quan la relació augmenta i també augmenta la concentració de fòsfor no fític. Viveros i col. (2002b) descrigueren millores en la utilització de calci en dietes amb moresc-soja per a broilers. En un estudi de càlcul d'equivalències de fitasa en dietes de broilers, Kornegay i col. (1996) determinà que 500 U/Kg de fitasa es corresponen aproximadament a 0.87 g de calci.

El zinc és un dels minerals més vulnerable a la complexació per fitat (Sauveur, 1989). Llavors la deficiència de zinc és molt probable que es produeixi si els animals mengen una dieta que incloguin plantes amb una concentració elevada de fitat (Sebastian i col., 1998). Roberson i Edwards (1994) van descriure que l'addició de fitasa no tenia cap efecte en la retenció de zinc en broilers, però sí quan s'afegia vitamina D3 en la dieta. Sebastian i col. (1996) van mostrar que la fitasa microbiana augmentava la retenció relativa de zinc des de -27.6 fins a 34.7%, un augment del 62.3%. Mohanna i Nys (1999) van descriure que afegir 800 U/kg de fitasa microbiana en dietes de broilers permetia reduir el zinc de la dieta en 14 mg/kg.

Aoyagi i Baker (1995) van estudiar els efectes de la fitasa microbiana sobre la utilització del coure de la dieta en pollastres, trobant que l'enzim afegit no tenia cap efecte beneficiós sobre la disponibilitat del coure, si no que a més en reduïa la biodisponibilitat en un 21%. Sebastian i col (1996a) van observar un increment de la retenció relativa del coure del 19.2%, passant des de -24.6% fins a -5.4%.

És difícil realitzar estudis de biodisponibilitat de minerals com el zinc o el coure, ja que pot passar que els seus requeriments no estiguin ben definits, o que la concentració d'aquests minerals sigui superior als requeriments després d'afegir el corrector mineral als pinsos. Així, doncs, no és senzill

avaluar els efectes dels enzims sobre aquests minerals, i per això s'obtenen tantes diferències en els resultats, o, que fins i tot es puguin trobar valors negatius.

Taula 2.8a. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de pollastres.

		Tipus dieta i SE ¹	Resultats
Simons i col., 1990	Broilers mascles d'1 dia.	Moresc-sorgo-soja. 5 nivells de Fit (250, 500, 750, 1000 i 1500 U/kg).	ui en el 50% quan la Fit s'afegí al pinso.
Swick i col., 1991		-soja. Tres nivells de Fit. Tres	
Simons i col., 1992	Broilers mascles. Gallines White Leghorn	Moresc-soja. varis nivells de FNF i varis nivells de Fit.	ilers com les gallines poden utilitzar el fòsfor fític si s'afegeix Fit microbiana als pinsos, obtenint -se de fòsfat
Vogt, 1992	Broilers. Dades de 6 setmanes.	Moresc-soja. Varis nivells de P. 4 nivells de Fit.	de Fit millorà tots els paràmetres estudiats.
Edwards, 1993		-soja. 4 varis nivells de Fit.	-(OH) ₂ D ₃ en presència de Fit r esultà en un augment en el pes en el 9è dia i en les cendres dels
Perney i col., 1993		-soja. 3 nivells de Fit i 4 de	
		-soja. 4 nivells de Fit i 3 de	mb l'increment de FNF, però no per la Fit. Les cendres del
Roberson i Edwards, 1994		-soja. Varis nivells de Cu, -(OH) ₂ D ₃ i de Fit.	-soja quan es millora la utilització de P fític, amb la -(OH) ₂ D ₃ .
Aoyagi i Baker, 1995	e la disponibilitat de	ó-caseïna-dextrosa, deficient µg/kg de 1,25-(OH) ₂ D ₃ .	à en les dietes de cotó
Denbow i col., 1995		-soja. 3 nivells FNF	
Windisch i Kirchgeßner, 1995	Broilers.		Pels nivells superiors a 600 U/kg, afegir Fit millorà les dades de creixement dels animals així com la retenció i utilització de P. La retenció i utilització de Ca s'incrementà pels nivells superiors de Fit.
Huyghebaert, 1996a	Broilers mascles.	erents valors de	-se en gran part per la suplementació de Fit en dietes baixes de P. des per la Fit. L'excreció de fòsfor pot
Huyghebaert, 1996b	Broilers mascles.	Moresc-soja. Diferents valors de relació Ca:P. 500 U/kg de Fit.	s l'anàlisi de regressions lineal (pel percentatge de cendres de la tibia) la mitjana de l'equivalència de fòsfor
Kornegay i col., 1996	Broilers mascles d'1 dia.	-soja. 6 nivells de Fit en	i percentatge de cendres de dits en nivells baixos de

Suplementació enzimàtica

Taula 2.8a. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de pollastres (continuació).

			Resultats
Mitchell i Edwards, 1996a	Broilers mascles d'1 dia.	-soja. 3 nivells de FNF (0.45, 1.25 i 600 U/kg de Fit).	-soja pot ser reemplaçat tant per Fit com per l'1,25-(OH) ₂ D ₃ , mentre
Mitchell i Edwards, 1996b	Broilers mascles d'1 dia	-soja. Varis nivells de Ca i P: 5 g/kg de 1,25-(OH) ₂ D ₃ i 600 U/kg de Fit.	600 U/kg de Fit poden reemplaçar efectivament un 0.1% de FNF, sense afectarà adversament el creixement de l'animal. La combinació de 1,25-(OH) ₂ D ₃ i Fit pot reemplaçar un 0.2% de FNF.
Sebastian i col., 1996a	Broilers mascles d'1 dia.	Moresc-soja. Addició de 600 U/ kg Fit.	n en 12.5, 12.2, 19.3 i 62.3%. La Fit microbiana augmentà la concentració de P en plasma en 15.7% i
Sebastian i col., 1996b	Broilers mascles d'1 dia.	Moresc-soja. Addició de 600 U/ kg Fit. Tres nivells de calci en la dieta.	ls en els broilers. Els nivells de Ca en la dieta tingueren un efecte significant sobre la resposta -se resultats òptims de creixement i la utilització mineral en dietes amb la concentració més
Yi i col., 1996a	Broilers mascles d'1 dia.	-soja. 3 nivells de FNF (0.36, 1.25 i 600 U/kg de Fit).	ana de P alliberat per la Fit calculada amb equacions lineals i no -lineals de P i nivells de Fit per les dietes n forma de fosfat defluorinat.
Biehl i Baker, 1997	Pollastres mascles i femelles.	-cacauet-soja. -soja. Varis nivells de Fit.	rada amb la Fit microbiana
Biehl i col., 1997	Polletes femelles, entre 8 i 21 d. Estudi disponibilitat de Fe.	-soja. 4 nivells de relació Ca:P, 1:1, 1:2, 1:3 i 1:4.	3 hidroxilada no milloraren la utilització de Fe (i Cu) de la mateixa manera que poden units de manera
Qian i col., 1997	Broilers mascles d'1 dia.	-soja. 4 nivells de relació Ca:P, 1:1, 1:2, 1:3 i 1:4.	3. Les més millors respostes es van obtenir quan els broilers menjaren dietes amb Fit entre 3 de 660 µg/kg.
Sebastian i col., 1997	Broilers mascles.	Moresc-soja. 3 nivells de relació Ca:P, 600U/kg de Fit.	-Ca baix foren comparables als ats en la dieta P normal -Ca normal als 28 dies. -Ca baix mostraren respostes òptimes en el creixement en ambdós sexes,
Denbow i col., 1998	Broilers mascles, de 7 a 21 d.	-soja. 3 nivells (400, 800 i 1600 U/kg de Fit).	addició de Fit a dietes amb baix FNF pot millorar la disponibilitat de P i, llavors, augmentar el creixement i a dieta basal. La dieta basal amb Fit pot reduir l'excreció de P en un 50%.
Ferguson i col., 1998	Broilers mascles.	-soja. 500 U/kg de Fit. Addició	
Huff i col., 1998	Broilers.	Moresc normal, moresc HAP* i soja. 500 U/kg de Fit.	en almenys un 11% en dietes preparades amb moresc efectes sobre
Cabahug i col., 1999	Broilers mascles de 7 dies.	Blat, sorgo i soja, contenint 3 nivells d'àcid fític, 2 de FNF i 3 de Fit (400 i 800 U/kg).	a, fòsfor i nitrogen en broilers. No hagueren diferències en la resposta per la Fit per les addicions de
Ibrahim i col., 1999	Broilers mascles i femelles.	-moresc-soja. 4 nivells de FNF	ducció de 0.56% en P total. En aquestes condicions, els animals excreten diàriament dues

Taula 2.8a. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de pollastres (continuació).

			Resultats
Leske i Coon, 1999	Broilers mascles de 10 d.		it també és depenent dels ingredients.
McKnight, 1999a	Broilers mascles d'1 d.	-soja. 3 nivells de Lys. 600	
McKnight, 1999b	Broilers mascles d'1 d.		ció de P es va reduir en un 32% per les
Mohanna i Nys, 1999		Moresc-soja. 800 U/kg de Fit. Varis nivells de Zn i Mn.	la deposició de Zn en l'os, quan el Zn de la dieta va ser menor a 60 mg/kg.
Namkung i Lesson, 1999	Broilers mascles d'1 dia.	Moresc-soja. 1149 U/kg de Fit.	ts d'aminoàcids totals,
Rama Rao i col., 1999	Broilers mascles, de 3 a 30 d.	-soja. 2 nivells de Fit (250 i	eta
Ravindran i col., 1999b	Broilers mascles.	3 cereals, 4 llavors d'oleaginoses, 2 subproductes. 1200 U/kg de Fit	roteïna/aminoàcid dels ingredients, però
Sohail i Roland, 1999	Broilers mascles. Dades entre 4 i 6 setmanes.	Moresc-soja. Tres nivells de FNF (0.43, 0.33 i 0.23%), dos de Ca (0.85 i 0.75%) i dos de Fit (300 i 600U/kg).	les dietes que contenen valors més baixos de FNF, Ca o
Zanini i Sazzad, 1999	Broilers mascles d'1 dia.	Moresc-soja. 500 U/kg de Fit, 2 concentracions d'energia.	ontingut
Zhang i col., 1999	Broilers mascles d'1 dia.	-soja. Tres nivells	de pinso i l'índex de conversió en broilers de creixement i finalització. L'índex de conversió
Zyla i col., 1999	Broilers d'1 dia.	-soja. 5 nivells Fit (200, 400, 600,	oncentració de 1000 U/kg de Fit en les dietes s'augmentà la viscositat intestinal.
Ahmad i col., 2000	Broilers de 90 dies.	Moresc-arros-segó. 1075 U/kg de Fit.	% de FNF.
Waldroup i col., 2000	Broilers, entre 0 i 3 setmanes.		Is són suficients per -se un creixement òptim, amb
Peter i col., 2000	Pollastres mascles, de 8 a 21 d.	-dextrosa-farina de . Varis	L'addició de Fit a dietes de gluten de more sc deficients en aminoàcids no millorà la utilització de proteïnes ni dels aminoàcids.

Taula 2.8a. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de pollastres (continuació).

	des estudi	Resultats
Yan i col., 2000	Pollastres mascles d'1 dia.	de la dieta i l'addició de Fit. La reducció del -se una reducció del 37.5% del fòsfor fecal; mentre que quan s'usa moresc HAP* es pot reduir el fòsfor
Zyla i col., 2000a	Broilers d'1 dia.	y de pes, ingesta de pinso, l'índex de conversió, i les cendres dels diis,
Zyla i col., 2000b	Broilers d'1 dia.	esultà en majors increments en el guany de pes, consum de pinso i cendres del dit i reduí la
Camden i col., 2001	Broilers mascles d'1 dia.	, reflectits en augments en
Ravindran i col., 2001	Broilers mascles.	ergia són els responsables de les millores del creixement observades quan la -sorgo-soja. Es confirma, també, que la Fit microbiana té efectes positius sobre més
Yan i col., 2001		en les concentracions de 0.24, 0.151 i 0.109% de FNF per optimitzar els valors
Zyla i col., 2001	Broilers d'1 dia.	El suplement de dietes de pollastres amb fòsfor calcic no és necessari quan se subministren activitats adequades de enzims fosforolítics i degradadors de paret cel·lular, i el pinso està formulat amb concentracions adequades de calci i àcid cítric. Això portaria a considerables reduccions del fòsfor excretat, sense comprometre el creixement, salut o estat nutritiu dels animals.
Attia i col., 2002	Broilers d'1 dia.	Els enzims corregiren parcialment l'impacte negatiu del segó d'arròs (del 15 o 30%) en les cendres, Ca i P de la tibia, Ca en plasma i en la fosfatasa alcalina. La inclusió de Fit en dietes amb 15% de segó d'arròs va mitigar la hipertrofia del pàncreas.
Edens i col., 2002	Pollastres d'1 dia.	és possible reduir el P fecal a costa del creixement si es redueix el P total de la dieta. uida. -la.
Lan i col., 2002	Broilers mascles d'1 dia, fins a 42 dies.	-soja millorà significativament el creixement dels broilers., i augmentà el ria seca i proteïna, i la retenció de P, Ca i Cu però disminuí
Peter i Baker, 2001	Pollastres femelles de 7 dies.	ra la utilització dels aminoàcids sulfurs en dietes de soja.
Punna i Roland, 2001	# en les	# que no pas els que tenien la major incidència. # en els pollastres amb una baixa incidència
Murai i col., 2002	Pollastres mascles d'1 dia.	Les activitats de l'enzim en una Fit no -GM millora el creixement i el valor nutritiu de la dieta en pollastres. Tanmateix, l'eficàcia de l'activitat fitàsica podria no ser diferent entre els productes de la Fit GM i no -GM.
Rutherford i col., 2002	Broilers mascles i femelles de 28 d.	er la dieta amb segó d'arròs (17%), però no en la resta

Taula 2.8a. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de pollastres (continuació).

			Resultats
Viveros i col., 2002a	de Fit	-soja-segò de sègol tractat/ gò de sègol sense tractar. 500 U/kg	Es va observar una menor eficàcia de les fitases vegetals respecte les microbianes en la utilització de P, relacionat amb l'estret marge d'actuació de l'enzim amb el pH i la limitada estabilitat amb les temperatures.
Viveros i col., 2002b	Broilers mascles d'1 d.	Moresc-soja. 500 U/kg de Fit.	
Applegate i col., 2003b	Broilers mascles.		-se sense modificar el creixement de l'animal. A més, l'addició de Fit
Augspurger i col., 2003	Pollastres mascles.	-soja. Varis nivells de FNF i de <i>E. coli</i> .	<i>E. coli</i> és més efectiva que les comercials en pollastres joves, obtenint -se resultats superiors en guany de
Brenes i col., 2003	Broilers d'1 dia.	-soja. 2 nivells FNF (0.25 i 1000 U/kg de Fit)	s de tibia.
Debicki-Garnier i Hruby, 2003	Broilers mascles d'1 dia.	Blat-soja. 500 i 1000 U/kg de dos tipus de Fit (Fit A i Fit B). Betaina.	-soja baixes de FNF millora el creixement i incrementa la utilització de Ca, P
Gheisari i col., 2003	Broilers.		di de les fitases, Fit A resultà en un millor creixement comparant amb Fit B, suggerint que Fit A va ser e s'observà amb 1000 U de
Hall i col., 2003	Broilers d'1 d.	-soja. 4 nivells de Fit (750, 3000 i 6000 U/kg).	-blat-soja. La magnitud de les millores al nivell més baix de FNF va ser més gran que els
Keshavarz, 2003a	-300 i Hy-Line W-98. Des d'1	- soja. Varis nivells de FNF	pes i les cendres dels ossos augmentaren per sobre de les 750 U/kg.
Miles i col., 2003	Broilers mascles.	Moresc normal, moresc HAP*, soja. 600 U/kg de Fit.	La Fit va arreglar completament els efectes adversos de les dietes amb nivells de FNF baixos durant el període de creixement i de posta, però només ho va fer parcialment en les dietes que presentaven nivells molt baixos de FNF.
Payne i Southern, 2003	Broilers d'1 dia.	-soja. 2 nivells FNF. Dos tipus	ra comparat amb
Pos i col., 2003	Broilers.	-soja. Dos tipus de Fit (750	lilitera.
Ribeiro i col., 2003		Moresc, segó d'arròs i soja. 280 U/kg de Fit. 3 nivells de FNF.	nt del consum de pinso.
Shirley i Edwards, 2003	Broilers d'1 dia.	Moresc-soja. 8 nivells de Fit (entre 93.75 i 12000 U/kg).	-se en els nivell
			lar el creixement dels broilers respecte als que menjaren dietes

DT: Discondroplasia tibial. § GM: Genèticament modificat.

Taula 2.8a. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de pollastres (continuació).

			Resultats
Wu i col., 2003	Broilers d'1 dia.	Dues dietes: Moresc-soja. Blat-soja. 0.25 i 0.45% FNF. 500 u/kg de Fit.	que menjaren una
Yan i col., 2003a		-soja. 1000 U/kg de Fit. 3	menjaren els nivells recomanats pel NRC.
Yan i col., 2003b	Broilers mascles, de 42 a 63 d.	Moresc-soja. 6 nivells de FNF (de 0.10 a 0.35%) i 800 U/kg de Fit.	t afectat pel nivell de FNF,
Cowieson i col., 2004	Broilers femelles de 6 setmanes.	Dieta blat comercial, amb glucosa. Addició de 1000 U/kg Fit i/o 1g IP ₆ .	6 augmenta l'excreció de minerals i aminoàcids endògens en pollastres broilers. Una part dels efectes epen de la reducció en les pèrdues
Onyango i col., 2004	Broilers, de 8 a 22 d.	-soja. 3 nivells de FNF. 3 tipus	
Rutherford i col., 2004	Broilers mascles.	Moresc-soja. Dieta baixa de FNF. 2 nivells Fit (500 i 750 U/kg).	Els efectes de Fit en digestibilitat il eal de P fític, P total i aminoàcid va ser similar dels dos nivells de inclusió de la Fit. La Fit microbiana millorà la digestibilitat de P fític i P total, així com la digestibilitat d'aminoàcids per a una dieta de moresc-soja.
Wu i col., 2004	Broilers mascles 1 d.	Blat-soja. Addició de 500 U/kg Fit i/o 1000 U/kg xilanasa.	na va ser igual d'efectiva que la xilanasa en millorar el creixement dels broilers que gment de l'EMA i a una reducció en el pes i llargada

Taula 2.8b. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de gallines.

			Resultats
Newkirk i col., 1993	Gallines.	-soja. Inclusió de xilanas, Fit, i	ducció d'ous i l'índex de conversió, especialment a nivell alts de P. La Fit sola va reduir
Jeroch i Peter., 1994	Gallines.	-soja. Addició de fòsfor	El creixement de les gallines augmentà significativament tant per la inclusió de Fit o de fòsfor mineral.
		-soja. Addició 0.1% FNF i 500	
Balander i col., 1997	Gallines Dekalb, 20 setmanes	Fórmula comercial, variant el nivell de FNF i Ca. Addició de Fit.	0%, quan s'afegeix Fit, sense efectes importants en la
Gordon i Roland, 1997	Polletes de gallines Hy-Line W-36.	Moresc-soja. 5 nivells de FNF i 300U/kg de Fit.	sumiren 0.1% FNF sense Fit. L'addició de Fit s
Kaminska, 1997	Gallines Hise marró, entre 48 i 70 setmanes.	Blat, moresc i soja. 3 nivells diferents de P. 3 nivells de Fit.	0 U/kg de Fit afegida alguns paràmetres referents a la qualitat de l'ou van ser pitjors que
Van der Klis i col, 1997	Gallines ponedores Leghorn LSL	Moresc-soja. Varis nivells de fosfat mineral, de calci i de Fit.	dre de
Zimmerman i Dvorak., 1997	Gallines.	a ponedores.	-soja que inclouen Fit.
Carlos i Edwards, 1998	Gallines Hy-Line W36.	Moresc-soja. 600 U/kg de Fit, 5 µg/kg de 1,25-(OH) ₂ D ₃ .	a Fit (i en menor extensió 1,25-(OH) ₂ D ₃) poden ser usats per a augmentar la utilització de P
Gordon i Roland, 1998	-Line, de 58	-soja. 3 nivells de Ca, 2 nivells	í l'impacte del nivell baix de Ca en la dieta en el creixement de la gallina.
Pan i col., 1998	Gallines ponedores.	-soja. Sègol-soja.	EMAn en un 2, 3 i 2.8%, respectivament.
Parsons, 1999		-soja. Varis nivells de FNF.	dió Pi, Fit pot reduir en gran manera la quantitat de P excretat.
Punna i Roland, 1999	Gallines Hy-Line W-36, 19 setmanes de vida.	-soja. Quatre nivells de FNF i 300 U/kg de	ò no mostraren influència en les
	es.	-soja. 250 U/kg de Fit.	-soja per a gallines elimina l'addició de FNF sense afectar la posta.
Roland i col., 1999		-soja. 2 nivells de FNF (0.1 i	ndement dels nivells de FNF. Fit millorà el contingut
Roland i Punna, 1999		-soja. 4 nivells de FNF. 300	la majoria de les reduccions en el creixement de les polletes que ativamente el creixement de les polletes que menjaren 0.1% de FNF.

Taula 2.8b. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de gallines. (continuació).

			Resultats
Scott i col., 1999	Gallines ponedores, entre 18 i 67 setmanes.	Moresc-soja. Dos nivells de fòsfor i calci. 2 nivells de Fit (250 i 500 U/kg).	compensar la reducció de FNF en dietes de gallines, però també pot proporcionar una indicació que els alts tant de FNF com de Fit, especialment amb nivells baixos de Ca.
Um i Paik, 1999	Polletes de gallines.	-soja. Diferents nivells de	
Boling i col., 2000a	Gallines ponedores.	-soja amb nivell baix de P. 4	utilització de P en dietes de moresc -soja per gallines i que les dietes amb 0.10% FNF més 100 U/kg
Boling i col., 2000b	Gallines ponedores, de 20 a 70 setmanes.	-soja. Varis nivells de FNF	etes de moresc-soja contenint 0.15% FNF o contenint 0.10% FNF més 300
Keshavarz, 2000a	Polletes de gallines de 30 setmanes.	Moresc-soja. 300 U/kg de Fit.	-la en un 15%. L' excreció
Keshavarz, 2000b	Polletes de gallines d'1 dia.	Moresc-civada-soja. 300 U/kg de Fit, 3 nivells de FNF.	control que menà la dieta sense Fit.
Punna i Roland, 2000	Polletes de gallines ponedores Hy-line.	Moresc-soja. 4 nivells FNF(0.13, 0.23, 0.33 i 0.43%) i 300 U/kg de Fit.	que menjaren dietes amb 0.3% i 0.4%FNF no desenvoluparen símptomes de deficiència
Sohail i Roland, 2000	Gallines Hy-Line W-36, de 38 setmanes.	Moresc-soja. 300 U/kg de Fit, 3 nivells de Ca.	d'aproximadament 3g/d per gallina, però no influir significativament quan la ingesta de Ca és de 3.4
Jalal i Scheideler, 2001	Gallines ponedores Hy-Line W-36, des de 40 a 60 setmanes.	Moresc-soja. 4 nivells de FNF. Dos tipus de Fit: 250 U/kg Fit A, 300 U/kg Fit B.	NF amb Fit afegida al final del cicle de producció. Hi ha un alt risc en
Tangendjaja i col., 2002	Gallines de 23 setmanes.	d'arròs i soja. 3 tipus de	anes van ser efectives en millorar la utilització de P en gallines que menjaren dietes amb baix
Vallardi i col., 2002	-Line W-36, entre tmanes.	-soja. 2 nivells FNF (0.12 i	it microbiana va ser suficient per millorar els signes de deficiència (augment de l'índex de
Ceylan i col., 2003	Gallines Hy-Line W-36, des de la setmana 20 fins a la 40.	Moresc normal, moresc HAP*, soja. 5 nivells de FNF. 300 U/kg de Fit.	P* permet aportar menys fosfat bicàlcic en dietes de gallines comparat amb el moresc normal sense dos tipus de moresc.
Keshavarz, 2003b		-soja. 2 nivells Fit (150 i 300 vell baix de FNF	
Klein Holkenborg i col., 2003	Gallines ponedores, de 26 setmanes.	-soja-gira-sol. 2 tipus de Fit:	Els nivells baixos de FNF no afectaren negat ivament el creixement de les gallines. Afegint Fit es millorà la digestibilitat ileal de P.

Taula 2.8b. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de gallines. (continuació).

				Resultats
Lim i col., 2003	Gallines marrons entre 21 i 41 setmanes.	Moresc-soja-segó de blat. 2 nivells de Ca i FNF. 300 U/kg de Fit.		ficativament
Snow i col., 2003		rreres de blat. 300 U/kg de Fit.		
Keshavarz i Austic, 2004		-ordi-soja. 300 U/kg de Fit. 2		afegit amb aminoàcids limitants

Taula 2.8c. Efectes de l'addició de fitasa en dietes de gall dindi i d'altres animals.

			us dieta i SE	Resultats
Ledoux i col., 1995	Galls dindi femelles d'1 d.		Moresc-soja. 1000 U/kg de Fit. 2 nivells de FNF.	r Fit no influí en la composició corporal, cendres dels dits o força dels ossos.
Ravindran i col., 1995b	Pollets de gall dindi d'1 d.		-farina de moresc-dextrosa. 3	d de la
Qian i col., 1996c	Pollets de gall dindi d'1 d.		-farina de moresc-glucosa. 4 60%) i 3 de Fit (600, 800 i 1000	t incrementar la matèria seca, pes i proporció de cendres i el contingut mineral de les cendres en ix a augmentar el contingut de P i Ca de la tibia i significativament
Qian i col., 1996b	Pollets de gall dindi d'1 dia.		Moresc-soja. 2 nivells de FNF. 4 nivells de la relació Ca:P. 3 nivells de Fit.	i 0.27% de FNF, respectivament, quan la relació Ca:P estava entre 1.1 i 1.4:1.
Yi i col., 1996b	Pollets femelles de gall dindi.		-soja. 2 nivells de FNF (0.45 i # (22.5 i	its, digestibilitats ideals de N i aminoàcids, i la retenció # que les dietes amb
Zyla i col., 1996	Pollets de gall dindi de 7 dies.		-soja. 3 nivells FNF, 1000 U, 1000 U fosfatasa àcida/g, 42 U	eixement pot ser significativament millorada per l'aplicació
Atia i col., 2000			-soja. 500 U/kg de Fit. 4 nivells	reduir els requeriments de P de la dieta dels galls dindi en creixement quan els nivells de
Esteve-García, 2001	Galls dindi femelles.		-soja. 5 nivells de Fit (125, 250,	t en les cendres de tibia i 412 U/kg basat en el P retingut, quan el nivell de FNF de la dieta és de 0.25%.
Applegate i col., 2003a	Pollets de gall dindi mascles, de 10 a 21 d.		-soja. 3 tipus de Fit: 2 it A, Fit B), 1 d' <i>E. coli</i> ,	S'ha demostrat que la Fit d' <i>E. coli</i> és més efectiva que l es Fit comercials en indiots. La retenció de P degut a la Fit d' <i>E. coli</i> va ser del 68.2%, valor superior al de la dieta control sense Fit afegida (58.9%).
Rodehutscord i col., 2003	Galls dindi mascles.		-blat-soja-pèsols. Inactivació	ietes amb Fit,
Farrell i Martin, 1998	Ànecs.		-soja. Dos nivells de segó	que depèn del nivell de segó d'arròs.
Orban i col., 1999	Ànecs.		Moresc-soja. 2 nivells de Fit: (750 i 1500 U/kg de Fit) 3 nivells de FNF.	b fòsfor de
Bahtiyar i Parlat, 1997	Perdius 9 dies d'edat.		-soja. Diferents nivells de FNF.	

PB: Proteïna Bruta.

2.8. Referències bibliogràfiques.

- Adeola, O.** 1995. Digestive utilization of minerals by weanling pigs fed copper- and phytase-supplemented diets. *Can. J. Anim. Sci.* 75, 603-610.
- Adeola, O., B. V. Lawrence, A. L. Sutton i T. R. Cline.** 1995. Phytase-induced changes in mineral utilization in zinc-supplemented diets for pigs. *J. Anim. Sci.* 73, 3384-3391.
- Ahmad, T., S. Rasool, M. Sarwar, A. Haq i Z. Hasan.** 2000. Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. *Anim. Feed Sci. Tech.* 83, 103-114.
- Almirall, M. i E. Esteve-García.** 1995. In vitro stability of a β -glucanase preparation from *Trichoderma longibrachiatum* and its effect in a barley based diet fed to broiler chicks. *Anim. Feed Sci. Technol.* 54, 149-158.
- Almirall, M., M. Francesch, A. M. Pérez-Vendrell, J. Brufau i E. Esteve-García.** 1995. The differences in intestinal viscosity by barley and β -glucanase alter digesta enzyme activities and ileal nutrient digestibilities more in broilers than in cocks. *J. Nutr.* 125, 947-955.
- Anònim.** 1989. Phytase and phytate degradation in humans. *Nutr. Rev.* 5, 155-157.
- Aoyagi, S. i D. H. Baker.** 1995. Effect of microbial phytase and 1,25-dihydroxycholecalciferol on dietary copper utilization in chicks. *Poult. Sci.* 74, 121-126.
- Applegate, T. J., B. C. Joern, D. L. Nussbaum-Wagler i R. Angel.** 2003b. Water-soluble phosphorus in fresh broiler litter is dependent upon phosphorus concentration fed but not on fungal phytase supplementation. *Poult. Sci.* 82, 1024-1029.
- Applegate, T. J., D. M. Webel i X. G. Lei.** 2003a. Efficacy of a phytase derived from *Escherichia coli* and expressed in yeast on phosphorus utilization and bone mineralization in turkey poults. *Poult. Sci.* 82, 1726-1732.
- Atia, F. A., P. E. Waibel, I. Hermes, C. W. Carlson i M. M. Walser.** 2000. Effect of dietary phosphorus, calcium, and phytase on performance of growing turkeys. *Poult. Sci.* 79, 231-239.
- Attia, Y. A., E. M. A. Qota, F. A. M. Aggoor i A. Kies.** 2002. Impact of phytase, cell wall-degrading enzymes or dietary formulation based on available amino acid on the utilization of rice bran in the diets for broiler chicks. En: *Proc. 11th European Poultry Conference*. Bremen, Alemanya. pp 1-22.
- Augspurger, N. R., D. M. Webel, X. G. Lei i D. H. Baker.** 2003. Efficacy of an *E. coli* phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. *J. Anim. Sci.* 81, 474-483.

- Bahtiyarca, Y. i S. S. Parlat.** 1997. Effects of phytase on the performance and availability of phosphorus in corn-soybean meal diets by young Japanese quails. *Arch. Geflügelkd.* 61 (6), 270-273.
- Bakker, G. C. M., R. A. Dekker, R. Jongbloed i A. W. Jongbloed.** 1998. Non-starch polysaccharides in pig feeding. *The Veterinary Quaterly.* 20 (Suppl. 3), S59-S64.
- Balander, R. J., C. J. Flegal i T. Sefton.** 1997. The effect of phytase on egg production and egg specific gravity in laying hens. En: *Alltech's 13th Annual Symposium (Poster)*.
- Bandurski, R. S. i B. Axelrod.** 1951. The chromatographic identification of some biologically important phosphate esters. *J. Biol. Chem.* 193, 405-410.
- Barrientos, L. G., J. J. Scott i P. N. Murthy.** 1994. Specifity of hydrolysis of phytic acid by alkaline phytase from lily pollen. *Plant Physiol.* 106, 1489-1495.
- Beers, S. i A. W. Jongbloed.** 1992. Effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diets for piglets on their performance and apparent digestibility of phosphorus. *Anim. Prod.* 55, 425-430.
- Biehl, R. R. i D. H. Baker.** 1996. Efficacy of supplemental 1 α -hydroxycholecalciferol and microbial phytase for young pigs fed phosphorus- or amino acid-deficient corn-soybean meal diets. *J. Anim. Sci.* 74, 2960-2966.
- Biehl, R. R. i D. H. Baker.** 1997. Microbial phytase improves amino acid utilization in young chicks fed diets based on soybean meal but not diets based on peanut meal. *Poult. Sci.* 76, 355-360.
- Biehl, R. R., J. L. Emmert i D. H. Baker.** 1997. Iron bioavailability in soybean meal as affected by supplemental phytase and 1 α - hydroxycholecalciferol. *Poult. Sci.* 76, 1424-1427.
- Bittar, K. i J. G. Reinhold.** 1972. Phytase and alkaline phosphatase activities in intestinal mucosa of rat, chicken, calf, and man. *Biochim. Biophys. Acta* 268, 442-452.
- Blatny, P., F. Kvasnicka i E. Kenndler.** 1995. Determination of phytic acid in cereal grains, legumes, and feeds by capillary isotachopheresis. *J. Agric. Food Chem.* 43, 129-133.
- Boling, S. D., M. W. Douglas, M. L. Johnson, X. Wang, C. M. Parsons, K. W. Koelkebeck i R. A. Zimmerman.** 2000b. The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens. *Poult. Sci.* 79, 224-230.
- Boling, S. D., M. W. Douglas, R. B. Shirley, C. M. Parsons i K. W. Koelkebeck.** 2000a. The effects of various dietary levels of phytase and available phosphorus on performance of laying hens. *Poult. Sci.* 79, 535-538.
- Bondi, A. A.** 1988. Importancia nutritiva de los minerales. En: *Nutrición Animal*. Ed. Acribia, S.A. Saragossa, Espanya.
- Bos, K. D., C. Verbeek, C. H. P. van Eeden, P. Slump i M. G. E. Wolters.** 1991. Improved determination of phytate for Ion-exchange chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 39, 1770-1772.

- Brearley, C. A. i D. E. Hanke.** 1996. Inositol phosphates in barley (*Hordeum vulgare* L.) aleurone tissue are stereochemically similar to the products of breakdown of InsP₆ *in vitro* by wheat-bran phytase. *Biochem. J.* 318, 279-286.
- Brenes, A., A. Viveros, I. Arija, C. Centeno, M. Pizarro i C. Bravo.** 2003. The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. *Anim. Feed Sci. Tech.* 110, 201-219.
- Brenes, J., A. Viveros, A. Brenes.** 2002. Los enzimas en nutrición porcina (I). *Anaporc.* 219, 52-77.
- Brooks, S. P. J., D. Oberleas, B. A. Dawson, B. Belonje i B. J. Lampi.** 2001. Proposed phytic acid standard including a method for its analysis. *J. AOAC Int.* 84 (4), 1125-1129.
- Broz, J., P. Oldale, A. H. Perrin-Voltz, G. Rychen, J. Schulze i C. Simoes Nunes.** 1994. Effects of supplemental phytase on performance and phosphorus utilisation in broiler chickens fed a low phosphorus diet without addition of inorganic phosphates. *Brit. Poultry Sci.* 35, 273-280.
- Bruce, J. A. M. i F. Sundstøl.** 1994. The effect of microbial phytase in diets for pigs on apparent ileal and faecal digestibility, pH and flow of digesta measurements in growing pigs fed a high-fibre diet. *Can. J. Anim. Sci.* 75, 121-127.
- Cabahug, S., V. Ravindran, P. H. Selle i W. L. Bryden.** 1999. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorus contents. I. Effects on bird performance and toe ash. *Brit. Poultry Sci.* 40, 660-666.
- Camden, B. J., P. C. H. Morel, D. V. Thomas, V. Ravindran i M. R. Bedford.** 2001. Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize-soya-bean meal diets for broilers. *Anim. Sci.* 73, 289-297.
- Carlos, A. B. i H. M. Edwards jr.** 1998. The effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol and phytase on the natural phytate phosphorus utilization by laying hens. *Poult. Sci.* 77, 850-858.
- Carlsson, N.-G., E.-L. Bergman, E. Skoglund, K. Hasselblad i A.-S. Sandberg.** 2001. Rapid analysis of inositol phosphates. *J. Agric. Food Chem.* 49, 1695-1701.
- CEFIC.** 2002. Phosphorus - key nutrient in poultry nutrition. *International Poultry Production.* 10 (5), 7-9.
- Cepero Briz, R.** 1992. Requerimientos y aportes de fósforo en nutrición avícola. *Mundo ganadero.* 2, 53-61.
- Cerdan, S., C. A. Hansen, R. Johanson, T. Inubushi i J. R. Williamson.** 1986. Nuclear magnetic resonance spectroscopic analysis of myo-inositol phosphates including inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate. *J. Biol. Chem.* 261 (31), 14676-14680.
- Ceylan, N., S. E. Scheideler i H. L. Stilborn.** 2003. High available phosphorus corn and phytase in layer diets. *Poult. Sci.* 82, 789-795.

- Champagne, E. T.** 1988. Effects of pH on mineral-phytate, protein-mineral- phytate, and mineral-fiber interactions. Possible consequences of atrophic gastritis on mineral bioavailability from high fiber foods. *J. Am. College of Nutr.* 7, 499-508.
- Choct, M. i G. Annison.** 1990. Anti-nutritive activity of wheat pentosans in broiler diets. *Br. Poult. Sci.* 31, 811-821.
- Choct, M. i G. Annison.** 1992. Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chickens roles of viscosity and gut microflora. *Br. Poult. Sci.* 33, 821-834.
- Classen, H. L.** 1997. Enzymes in action. *Feed Mix (Enzymes Special Issue).* 12-16.
- Cooper, J.W.** 1980. Introduction to nuclear magnetic resonance. En: *Spectroscopy techniques for organic chemists.* Ed Wiley, Nova York, USA.
- Cowieson, A. J., T. Acamovic i M. R. Bedford.** 2004. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. *Brit. Poultry Sci.* 42 (1), 101-108.
- Cromwell, G. L., R. D. Coffey, H. J. Monegue i J. H. Randolph.** 1995. Efficacy of low-activity, microbial phytase in improving the bioavailability of phosphorus in corn-soybean meal diets for pigs. *J. Anim. Sci.* 73, 449-456.
- Cromwell, G. L., T. S. Stahly, R. D. Coffey, H. J. Monegue i J. H. Randolph.** 1993. Efficacy of phytase in improving the bioavailability of phosphorus in soybean meal and corn-soybean meal diets for pigs. *J. Anim. Sci.* 71, 1831-1840.
- De Boever, J. L., W. Eeckhout i C. V. Boucque.** 1994. The possibilities of near infrared reflection spectroscopy to predict total-phosphorus, phytate phosphorus and phytase activity in vegetable feedstuffs. *Netherlands Journal of Agricultural Science.* 42 (4), 357-369.
- Debicki-Garnier, A. M. i M. Hruby.** 2003. The effect of phytase and betaine on broiler performance and excreta characteristics. En: *Proc 14th European Symposium of Poultry Nutrition.* Lillehammer, Noruega. pp 14-15.
- Denbow, D. M., E. A. Grabau, G. H. Lacy, E. T. Kornegay, D. R. Russell i P. F. Umbeck.** 1998. Soybeans transformed with a fungal phytase gene improve phosphorus availability for broilers. *Poult. Sci.* 77, 878-881.
- Denbow, D. M., V. Ravindran, E. T. Kornegay, Z. Yi i R. M. Hulet.** 1995. Improving phosphorus availability in soybean meal for broilers by supplemental phytase. *Poult. Sci.* 74, 1831-1842.
- Dieckmann, A., R. Timmler i M. Rodehutscord.** 2002. Investigation on the optimal Ca:P ration in studies on P availability in broiler chicken. En: *Proc. 11th European Poultry Conference.* Bremen, Alemanya, p. 104.

- Duskova, D., M. Marounek i P. Brezina.** 2000. Determination of phytic acid in feeds and faeces of pigs and poultry by capillary isotachopheresis. *J. Sci. Food Agric.* 81, 36-41.
- Dvoráková, J., J. Kopecký, V. Havlíček i V. Kren.** 2000. Formation of myo-inositol phosphates by *Aspergillus niger* 3-phytase. *Folia Microbiol.* 45 (2), 128-132.
- Edens, F. W., C. R. Parkhurst, P. R. Ferket, G. B. Havenstein i A. E. Sefton.** 2002. A demonstration of postpellet application of dry phytase to broiler diets. *J. Appl. Poult. Res.* 11, 34-45.
- Edwards jr, H. M.** 1993. Dietary 1,25-dihydroxicholecalciferol supplementation increases natural phytate phosphorus utilization in chickens. *J. Nutr.* 123, 567-577.
- Eeckhout, W. i M. De Paepe.** 1994. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. *Anim. Feed Sci. Tech.* 47, 19-29.
- Engelen, A. J., F. C. van der Heeft, P. H. G. Randsdorp i E. L. C. Smit.** 1994. Simple and rapid determination of phytase activity. *J. AOAC Int.* 77 (3), 760-764.
- Engelen, A. J., F. C. van der Heeft, P. H. G. Randsdorp, W. A. C. Somers, J. Schaefer i B. J. C. van der Vat.** 2001. Determination of phytase activity in feed by a colorimetric enzymatic method: collaborative interlaboratory study. *J. AOAC Int.* 84 (3), 629-633.
- Esteve-García, E.** 2001. Mineral balance and tolerance of phytase SP in turkeys. Comunicació personal.
- Farrell, D. J. i E. A. Martin.** 1998. Strategies to improve the nutritive value of rice bran in poultry diets. III. The addition of inorganic phosphorus and a phytase to duck diets. *Brit. Poultry Sci.* 39, 601-611.
- Ferguson, N. S., R. S. Gates, J. L. Taraba, A. H. Cantor, A. J. Pescatore, M. L. Straw, M. J. Ford i D. J. Burnham.** 1998. The effect of dietary protein and phosphorus on ammonia concentration and litter composition in broilers. *Poult. Sci.* 77, 1085-1093.
- Francesch, M., S. Pérez-Moya, I. Badiola i J. Brufau.** 1999. Effect of cereal and feed enzyme on water consumption, dietary metabolizable energy and nutrient digestibility in broiler chickens. En: *Proc. 12th European Symposium on Poultry Nutrition*. Veldhoven, Holanda. pp. 242-245.
- Gentile, J. M., K. R. Roneker, S. E. Crowe, W. G. Pond i X. G. Lei.** 2003. Effectiveness of an experimental consensus phytase in improving dietary phytate-phosphorus utilization by weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 81, 2751-2757.
- Gheisari, A., R. Bahadorani i J. Pourreza.** 2003. The effects of supplemental microbial phytase on the performance and phytate phosphorus availability of corn-wheat-soybean meal diet in broiler chicks. En: *Proc. 14th European Symposium of Poultry Nutrition*. Lillehammer, Noruega. pp. 42-44.
- Gordon, R. W. i D. A. Roland sr.** 1997. Performance of commercial laying hens fed various phosphorus levels, with and without supplemental phytase. *Poult. Sci.* 76, 1172-1177.

- Gordon, R. W. i D. A. Roland sr.** 1998. Influence of supplemental phytase on calcium and phosphorus utilization in laying hens. *Poult. Sci.* 77, 290-294.
- Graf, E.** 1986. En: *Phytic acid chemistry and applications*. Editor: E. Graf, Pilatus Press, Minneapolis, USA.
- Graf, E., K. L. Empson, K. L. i J. W. Eaton.** 1987. Phytic acid: a natural antioxidant. *J. Biol. Chem.* 262 (24), 11647-11650.
- Grandhi, R. R.** 2001. Effect of supplemental phytase and ideal dietary amino acid ratios in covered and hulless-barley-based diets on pig performance and excretion of phosphorus and nitrogen in manure. *Can. J. Anim. Sci.* 81, 115-124.
- Greiner, R.** 2002a. Purification and characterization of three phytases from germinated lupine seeds (*Lupinus albus* var. *amiga*). *J. Agric. Food Chem.* 50, 6858-6864.
- Greiner, R. i M. L. Alminger.** 1999. Purification and characterization of a phytate-degrading enzyme from germinated oat (*Avena sativa*). *J. Sci. Food Agric.* 79, 1453-1460.
- Greiner, R., M. L. Alminger i N.-G. Carlsson.** 2001. Stereospecificity of myo-inositol hexakisphosphate dephosphorylation by a phytate-degrading enzyme of baker's yeast. *J. Agric. Food Chem.* 49, 2228-2233.
- Greiner, R., M. L. Alminger, N.-G. Carlsson, M. Muzquiz, C. Burbano, C. Cuadrado, M. M. Pedrosa i C. Goyoaga.** 2002b. Pathway of dephosphorylation of myo-inositol hexakisphosphate by phytases of legume seeds. *J. Agric. Food Chem.* 50, 6865-6870.
- Greiner, R., U. Konietzny i K. D. Jany.** 1998. Purification and properties of a phytase from rye. *Journal of Food Biochemistry.* 22, 143-161.
- Hall, I. E., R. B. Shirley, R. I. Bakalli, S. E. Aggrey, G. M. Pesti i H. M. Edwards jr.** 2003. Power of two methods for the estimation of bone ash of broilers. *Poult. Sci.* 82, 414-418.
- Han, Y. M., F. Yang, A. G. Zhou, E. R. Miller, P. K. Ku, M. G. Hogberg i X. G. Lei.** 1997. Supplemental phytases of microbial and cereal sources improve dietary phytate phosphorus utilization by pigs from weanling through finishing. *J. Anim. Sci.* 75, 1017-1025.
- Han, Y. M., K. R. Roneker, W. G. Pond i X. G. Lei.** 1998. Adding wheat middlings, microbial phytase, and citric acid to corn-soybean meal diets for growing pigs may replace inorganic phosphorus supplementation. *J. Anim. Sci.* 76, 2649-2656.
- Harper, A. F., E. T. Kornegay i T. C. Schell.** 1997. Phytase supplementation of low-phosphorus growing-finishing pig diets improves performance, phosphorus digestibility, and bone mineralization and reduces phosphorus excretion. *J. Anim. Sci.* 75, 3174-3186.
- Hatzack, F. R., i S. K. Rasmussen.** 1999. High-performance thin-layer chromatography method for inositol phosphate analysis. *J. Chromat. B.* 736, 221-229.

- Hatzack, F., F. Hübel, W. Zhang, P. E. Hansen i S. K. Rasmussen.** 2001. Inositol phosphates from barley low-phytate grain mutants analysed by metal-dye detection HPLC and NMR. *Biochem. J.* 354, 473-480.
- Haug, W. i H. J. Lantzsch.** 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J. Sci. Food Agric.* 34, 1423-1426.
- Helander, E., M. Näsi i K. Partanen.** 1995. Effects of supplementary *Aspergillus niger* phytase on the availability of plant phosphorus, other minerals and nutrients in growing pigs fed on high-pea diets. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 76, 66-79.
- Hockett, E. A.** 1991. Barley. En: *Handbook of cereal science and technology*. Editat per K. J. Lorenz i K. Kulp. Ed. Dekker. New York, USA. pp: 133-198.
- Hoseney, R. C.** 1994. *Principles of cereal, science and technology*. American Association of Cereal Chemists. St. Paul, USA.
- Huff, W. E., P. A. Moore, P. W. Waldroup, J. M. Balog, G. R. Huff, N. C. Rath, T. C. Daniel i V. Raboy.** 1998. Effect of dietary phytase and high available phosphorus corn on broiler chicken performance. *Poult. Sci.* 77, 1899-1904.
- Hull, S. R., J. S. S. Gray i R. Montgomery.** 1999. Autohydrolysis of phytic acid. *Anal. Biochem.* 273, 252-260.
- Huyghebaert, G.** 1996a. The response of broiler chicks to phase feeding for P, Ca and phytase. *Arch. Geflügelkd.* 60 (3), 132-141.
- Huyghebaert, G.** 1996b. Effects of dietary calcium, phosphorus, Ca/P-ratio and phytase on zootechnical performances and mineralisation in broiler chicks. *Arch. Geflügelkd.* 61 (2), 53-61.
- Ibrahim, S., J. P. Jacob i R. Blair.** 1999. Phytase supplementation to reduce phosphorus excretion of broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 8, 414-425.
- Jalal, M. A. i S. E. Scheideler.** 2001. Effect of supplementation of two different sources of phytase on egg production parameters in laying hens and nutrient digestibility. *Poult. Sci.* 80, 1463-1471.
- Jayarajah, C. N., H.-R. Tang, J. A. Robertson i R. R. Selvendran.** 1997. Dephytinisation of wheat bran and the consequences for fibre matrix non-starch polysaccharides. *Food Chem.* 58 (1-2), 5-12.
- Jeroch, H. i W. Peter.** 1994. The effectiveness of microbial phytase addition to layer rations on maize and wheat basis. *Journal für landwirtschaftliche Forschung*. November, 361-368.
- Johnson, K., L. G. Barrientos, L. Le i P. N. Murthy.** 1995. Application of two-dimensional total correlation spectroscopy for structure determination of individual inositol phosphates in a mixture. *Anal. Biochem.* 231, 421-431.

- Johnson, L. A.** 1991. Barley. En: Handbook of cereal science and technology. Editat per K. J. Lorenz i K. Kulp. Ed. Dekker. New York, USA. pp: 55-132.
- Jongbloed, A. W. i P. A. Kemme.** 1998. Disponibilidad del fósforo en ingredientes alimenticios para ganado porcino. Anaporc. 175, 26-39.
- Jongbloed, A. W., P. A. Kemme i Z. Mroz.** 1990. The effect of *Aspergillus niger* phytase in diets for pigs on concentration and apparent digestibility of dry matter, total phosphorus and inositol phosphates in different sections of the alimentary tract. Rapport IVVO n° 221.
- Jongbloed, A. W., Z. Mroz, R. van der weij-Jongbloed i P. A. Kemme.** 2000. The effects of microbial phytase, organic acids and their interaction in diets for growing pigs. Livestock Production Science. 67, 113-122.
- Kaminska, B. Z.** 1997. Effect of supplemental phytase to laying hens diets of different phosphorus content. J. Anim. Feed Sci. 6, 369-378.
- Karn, J. F.** 2001. Phosphorus nutrition of grazing cattle: a review. Anim. Feed Sci. Tech. 89, 133-153.
- Kemme, P. A.** 1998. Phytate and phytases in pig nutrition, impact on nutrient digestibility and factors affecting phytase efficacy. Tesi Doctoral.
- Kemme, P. A. i A. W. Jongbloed.** 1993. Effect of *Aspergillus niger* phytase, soaking and age on the digestibilities of proximate components, Ca and P in diets for pigs. Rapport IVVO-DLO n° 245.
- Kemme, P. A., A. Lommen, L. H. De Jonge, J. D. Van der Klis, A. W. Jongbloed, Z. Mroz i A. C. Beynen.** 1999a. Quantification of inositol phosphates using ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy in animal nutrition. J. Agric. Food Chem. 47, 5116-5121.
- Kemme, P. A., A. W. Jongbloed, Z. Mroz i A. C. Beynen.** 1997a. The efficacy of *aspergillus niger* phytase in rendering phytate phosphorus available for absorption in pigs is influenced by pig physiological status. J. Anim. Sci. 75, 2129-2138.
- Kemme, P. A., A. W. Jongbloed, Z. Mroz, J. Kogut i A. C. Beynen.** 1999b. Digestibility of nutrients in growing-finishing pigs is affected by *Aspergillus niger* phytase, phytate and lactic acid levels 2. Apparent total tract digestibility of phosphorus, calcium and magnesium and ileal degradation of phytic acid. Livestock Production Science. 58, 119-127.
- Kemme, P. A., J. S. Radcliffe, A. W. Jongbloed i Z. Mroz.** 1997b. The effects of sow parity on digestibility of proximate components and minerals during lactation as influenced by diet and microbial phytase supplementation. J. Anim. Sci. 75, 2147-2153.
- Kerovuo, J., J. Rouvinen i F. Hatzack.** 2000. Analysis of myo-inositol hexakisphosphate hydrolysis by *Bacillus* phytase: indication of a novel reaction mechanism. Biochem. J. 352, 623-628.

- Kerovuo, J., M. Lauraeus, P. Nurminen, N. Kalkkinen i J. Apajalahti.** 1998. Isolation, characterization, molecular gene cloning, and sequencing of a novel phytase from *Bacillus subtilis*. *Applied and Environmental Microbiology*. 64 (6), 2079-2085.
- Keshavarz, K.** 2000a. Nonphytate phosphorus requirement of laying hens with and without phytase on a phase feeding program. *Poult. Sci.* 79, 748-763.
- Keshavarz, K.** 2000b. Reevaluation of nonphytate phosphorus requirement of growing pullets with and without phytase. *Poult. Sci.* 79, 1143-1153.
- Keshavarz, K.** 2003a. Effects of continuous feeding of low-phosphorus diets with and without phytase during the growing and laying periods on performance of two strains of leghorns. *Poult. Sci.* 82, 1444-1456.
- Keshavarz, K.** 2003b. The effect of different levels of non phytate phosphorus with and without phytase on the performance of four strains of laying hens. *Poult. Sci.* 82, 71-91.
- Keshavarz, K. i R. E. Austic.** 2004. The use of low-protein, low-phosphorus, amino acid- and phytase- supplemented diets on laying hens performance and nitrogen and phosphorus excretion. *Poult. Sci.* 83, 75-83.
- Kirby, L. K. i T. S. Nelson.** 1988. Total and phytate phosphorus content of some feed ingredients derived from grains. *Nutr. Reports Intern.* 37 (2), 277-280.
- Klein Holkenborg, A. B. M., A. G. van der Lee, P. H. M. de Bot, G. Hemke i A. Kies.** 2003. Effect of different phytase sources on ileal phosphorus digestibility in layers. 14th European Symposium of Poultry Nutrition. 40-41.
- Kleplacka, M.** 1990. Infrared spectroscopy study of interactions between phytate and protein in rapeseed. *Acta Alimentaria*. 19 (4), 295-304.
- Kornegay, E. T. i H. Qian.** 1996. Replacement of inorganic phosphorus by microbial phytase for young pigs fed on a maize-soyabean-meal diet. *Br. J. Nutr.* 76, 563-578.
- Kornegay, E. T., D. M. Denbow, Z. Yi i V. Ravindran.** 1996. Response of broilers to graded levels of microbial phytase added to maize-soyabean-meal-based diets containing three levels of non-phytate phosphorus. *Br. J. Nutr.* 75, 839-852.
- Lan, G. Q., N. Abdullah, S. Jalaludin i Y. W. Ho.** 2002. Efficacy of supplementation of a phytase-producing bacteria culture on the performance and nutrient use of broiler chickens fed corn-soybean meal diets. *Poult. Sci.* 81, 1522-1532.
- Lantzsch, H. J., S. Wjst i W. Drochner.** 1995. The effect of dietary calcium on the efficacy of microbial phytase in rations for growing pigs. *J. Anim. Physiol. a Anim. Nutr.* 73, 19-26.
- Ledoux, D. R., K. Zyla i T. L. Veum.** 1995. Substitution of phytase for inorganic phosphorus for turkeys hens. *J. Appl. Poultry Res.* 4, 157-163.

- Lehrfeld, J.** 1994. HPLC separation and quantitation of phytic acid and some inositol phosphates in foods: problems and solutions. *J. Agric. Food Chem.* 42, 2726-2731.
- Lei, X. G., P. K. Ku, E. R. Miller, M. T. Yokoyama i D. E. Ullrey.** 1994. Calcium level affects the efficacy of supplemental microbial phytase in corn-soybean meal diets of weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 72, 139-143.
- Lei, X., P. K. Ku, E. R. Miller, D. E. Ullrey i M. T. Yokoyama.** 1993. Supplemental microbial phytase improves bioavailability of dietary zinc to weanling pigs. *J. Nutr.* 123, 1117-1123.
- Leske, K. L. i C. N. Coon.** 1999. A bioassay to determine the effect of phytase on phytate phosphorus hydrolysis and total phosphorus retention of feed ingredients as determined with broilers and laying hens. *Poult. Sci.* 78, 1151-1157.
- Li, D., X. Che, Y. Wang, C. Hong i P. A. Thacker.** 1998. Effect of microbial phytase, vitamin D3, and citric acid on growth performance and phosphorus, nitrogen and calcium digestibility in growing swine. *Anim. Feed Sci. Tech.* 73, 173-186.
- Lim, H. S., H. Namkung i I. K. Paik.** 2003. Effects phytase supplementation on the performance, egg quality, and phosphorus excretion of laying hens fed different levels of dietary calcium and nonphytate phosphorus. *Poult. Sci.* 82, 92-99.
- Liu, J., D. W. Bollinger, D. R. Ledoux i T. L. Veum.** 1998. Lowering the dietary calcium to total phosphorus ratio increases phosphorus utilization in low-phosphorus corn-soybean meal diets supplemented with microbial phytase for growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 76, 808-813.
- Liu, J., D. W. Bollinger, D. R. Ledoux i T. L. Veum.** 2000. Effects of dietary calcium:phosphorus ratios on apparent absorption of calcium and phosphorus in the small intestine, cecum, and colon of pigs. *J. Anim. Sci.* 78, 106-109.
- López Álvarez, J. A.** 2002. Estabilidad de la fitasa de la *Peniophora Lycii* frente a los tratamientos térmicos de los piensos. *Anaporc.* 218, 80-85.
- Lorenz, K. J. i Kulp, K.** 1991. *Handbook of Cereal Science and Technology*. Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
- Marquardt, R. R.** 1997. Enzyme enhancement of the nutritional value of cereals: role of viscous, water-soluble, nonstarch polysaccharides in chick performance. En: *Enzymes in Poultry and Swine Nutrition*. Editat per Marquardt, R. R. i Han Z. Capítol 2.
- Matsui, T., Y. Nakagawa, A. Tamura, C. Watanabe, K. Fujita, T. Nakajima i H. Yano.** 2000. Efficacy of yeast phytase in improving phosphorus bioavailability in a corn-soybean meal-based diet for growing pigs. *J. Anim. Sci.* 78, 94-99.
- Mattern, P. J.** 1991. Barley. En: *Handbook of cereal science and technology*. Editat per K. J. Lorenz i K. Kulp. Ed. Dekker. New York, USA. pp: 1-54.

- McKnight, W. F.** 1999a. Performance responses of broilers fed diets formulated to equal nutrient levels with and without Natuphos. En: BASF Technical Symposium (Use of Natuphos phytase in broiler nutrition and waste management). Atlanta, USA. pp 9-32.
- McKnight, W. F.** 1999b. The impact of phytase and high available phosphorus corn on broiler performance and phosphorus excretion. En: BASF Technical Symposium (Use of Natuphos phytase in broiler nutrition and waste management). Atlanta, USA. pp 57-66.
- Mendoza Parra, M. A.** 2002. Les phytases: Structure, caractérisation et applications. <http://www.123bio.net/revue/phytases>.
- Miles, D. M., P. A. Moore, D. R. Smith, D. W. Rice, H. L. Stilborn, D. R. Rowe, B. D. Lott, S. L. Branton i J. D. Simmons.** 2003. Total and water-soluble phosphorus in broiler litter over three flocks with alum litter treatment and dietary inclusion of high available phosphorus corn and phytase supplementation. Poult. Sci. 82, 1544-1549.
- Mitchell, R. D. i H. M. Edwards jr.** 1996a. Additive effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol and phytase on phytate phosphorus utilization and related parameters in broiler chickens. Poult. Sci. 75, 111-119.
- Mitchell, R. D. i H. M. Edwards jr.** 1996b. Effects of phytase and 1,25-dihydroxycholecalciferol on phytate utilization and the quantitative requirement for calcium and phosphorus in young broiler chickens. Poult. Sci. 75, 95-110.
- Mohanna, C. i Y. Nys.** 1999. Changes in zinc and manganese availability in broiler chicks induced by vegetal and microbial phytases. Anim. Feed Sci. Tech. 77, 241-253.
- Mroz, Z., A. W. Jongbloed and P. A. Kemme.** 1994. Apparent digestibility and retention of nutrients bound to phytate complexes as influenced by microbial phytase and feeding regimen in pigs. J. Anim. Sci. 72, 126-132.
- Mun Choi, Y., H. Joo Suh i J. Man Kim.** 2001. Purification and properties of extracellular phytase from *Bacillus* sp KHU-10. Journal of Protein Chemistry. 20 (4), 287-292.
- Murai, A., T. Kobayashi, T. Okada i J. Okumura.** 2002. Improvement of growth and nutritive value in chicks with non-genetically modified phytase product from *Aspergillus niger*. Brit. Poultry Sci. 43, 687-695.
- Murry, A. C., R. D. Lewis i H. E. Amos.** 1997. The effect of microbial phytase in a pearl millet-soybean meal diet on apparent digestibility and retention of nutrients, serum mineral concentration, and bone mineral density of nursery pigs. J. Anim. Sci. 75, 1284-1291.
- Nair, V. C., J. Laflamme i Z. Duvnjak.** 1991. Production of phytase by *Aspergillum ficuum* and reduction of phytic acid content in canola meal. J. Sci. Food Agric. 54, 355-365.

- Nakano, T., T. Joh, K. Narita i T. Hayakawa.** 2000. The pathway of dephosphorylation of myo-inositol hexakisphosphate by phytases from wheat bran of *Triticum aestivum* L. cv. Nourin #61. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64 (5), 995-1003.
- Namkung, H. i S. Leeson.** 1999. Effect of phytase enzyme on dietary nitrogen-corrected apparent metabolizable energy and the ileal digestibility of nitrogen and amino acids in broiler chicks. *Poult. Sci.* 78, 1317-1319.
- Näsi, J. M., E. H. Helander i K. H. Partanen.** 1995. Availability for growing pigs of minerals and protein of a high phytate barley-rape seed meal diet treated with *Aspergillus niger* phytase or soaked with whey. *Anim. Feed Sci. Tech.* 56, 83-98.
- Näsi, M.** 1990. Microbial phytase supplementation for improving availability of plant phosphorus in the diet of the growing pigs. *Journal of Agricultural science in Finland.* 62, 435-443.
- Näsi, M., J. Piironen i K. Partanen.** 1999. Efficacy of *Trichoderma reesei* phytase and acid phosphatase activity ratios in phytate phosphorus degradation in vitro and in pigs fed maize-soybean meal or barley-soybean meal diets. *Anim. Feed Sci. Tech.* 77, 125-137.
- Newkirk, R. W., H. L. Classen, M. R. Bedford i J. Inbarr.** 1993. The effects of dietary xylanase, phytase and phosphorus on the performance of laying hens. *Poult. Sci.* 72 (Suppl. 1), 17.
- NRC** (1998).
- O'Dell, B. L. i de Boland, A. R.** 1976. Complexation of phytate with proteins and cations in corn germ and oilseed meal. *J. Agric. Food Chem.* 24, 804-807.
- Omogbenigun, F. O., C. M. Nyachoti i B. A. Slominski.** 2003. The effect of supplementing microbial phytase and organic acids to a corn-soybean based diet fed to early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 81, 1806-1813.
- Onyango, E. M., M. R. Bedford i O. Adeola.** 2004. The yeast production system in which *Escherichia coli* phytase is expressed may affect growth performance, bone ash, and nutrient use in broiler chicks. *Poult. Sci.* 83, 421-427.
- O'Neill, I. K., M. Sargent i M. L. Trimble.** 1980. Determination of phytate in foods by phosphorus-31 Fourier transform nuclear magnetic resonance spectrometry. *Anal. Chem.* 52, 1288-1291.
- O'Quinn, P. R., D. A. Knabe i E. J. Gregg.** 1997. Efficacy of Natuphos in sorghum-based diets of finishing swine. *J. Anim. Sci.* 75, 1299-1307.
- Orban, J. I., O. Adeola i R. Strohshine.** 1999. Microbial phytase in finisher diets of white pekin ducks: effect on growth performance, plasma phosphorus concentration, and leg bone characteristics. *Poult. Sci.* 78, 366-377.
- Paboeuf, F., A. Pontillart, M. Mahe, H. L. Lacroix, L. Neveu, C. Calvar, B. Landrain i H. Roy.** 2002. Réduction des rejets en phosphore des porcs charcutiers par la suppression de la

supplémentation minérale en phosphore et par l'ajout de phytase microbienne dans des régimes à activité phytasique modérée. Journées de la Recherche Porcine. 34, 175-182.

Pallauf, J., G. Rimbach, S. Pippig, B. Schindler i E. Most. 1994. Effect of phytase supplementation to a phytate-rich diet based on wheat, barley and soya on the bioavailability of dietary phosphorus, calcium, magnesium, zinc and protein in piglets. *Agribiol. Res.* 47 (1), 39-48.

Pan, C. F., F. A. Igbasan, W. Guenter i R. R. Marquardt. 1998. The effects of enzyme and inorganic phosphorus supplements in wheat- and rye-based diets on laying hens performance, energy, and phosphorus availability. *Poult. Sci.* 77, 83-89.

Pandey, A., G. Szakacs, C. R. Soccol, J. A. Rodríguez-León i V. T. Soccol. 2001. Production, purification and properties of microbial phytases. *Bioresource technology.* 77, 203-214.

Parrish, F. W., J. P. Madacs, B. Q. Phillippy, A. G. Wilfred i S. M. Bucu. 1990. Determination of phytic acid in cottonseed by near- infrared reflectance spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 38 (2), 407-409.

Parsons, C. M. 1999. The effects of dietary available phosphorus and phytase level on long-term performance of layong hens. En: BASF Technical Symposium (Use of Natuphos phytase in layer nutrition and management). Atlanta, USA. pp. 24-33.

Paterson, J. 2003. Cattle phosphorus requirements may be lowered. *Feedstuffs.* April, 21, 11-14.

Payne, R. L. i L. L. Southern. 2003. A comparison of two sources of phytase on growth performance and bone ash in commercial broilers. En: Proc. 14th European Symposium of Poultry Nutrition. Lillehammer, Noruega. pp 25-26.

Pérez-Vendrell, A. M. 1992. Determinació analítica dels β -glucans de l'ordi. Aplicació a la caracterització dels ordis conreats a Espanya. Tesis doctoral. Tarragona.

Perney, K. M., A. H. Cantor, M. L. Straw i K. L. Herkelman. 1993. The effect of dietary phytase on growth performance and phosphorus utilization of broiler chicks. *Poult. Sci.* 72, 2106-2114.

Peter, C. M. i D. H. Baker. 2001. Microbial phytase does not improve protein-amino acid utilization in soybean meal fed to young chickens. *J. Nutr.* 131, 1792-1797.

Peter, C. M., T. M. Parr, E. N. Parr, D. M. Webel i D. H. Baker. 2001. The effects of phytase on growth performance, carcass characteristics, and bone mineralization of late-finishing pigs fed maize-soyabean meal diets containing no supplemental phosphorus, zinc, copper and manganese. *Anim. Feed Sci. Tech.* 94, 199-205.

Peter, C. M., Y. Han, S. D. Boling-Frankenbach, C. M. Prsons i D. H. Baker. 2000. Limiting order of amino acids and the effects of phytase on protein quality in corn gluten meal fed to young chicks. *J. Anim. Sci.* 78, 2150-2156.

- Phillippy, B. Q., K. D. White, M. R. Johnston, S.-H. Tao i M. R. S. Fox.** 1987. Preparation of inositol phosphates from sodium phytate by enzymatic and nonenzymatic hydrolysis. *Anal. Biochem.* 162, 115-121.
- Phillippy, B. i M. R. Johnston.** 1985. Determination of phytic acid in foods by ion chromatography with post-column derivatization. *J. Food Sci.* 50, 541-542.
- Pointillart, A.** 1991. Enhancement of phosphorus utilization in growing pigs fed phytate rich diets by using rye bran. *J. Anim. Sci.* 69, 1109-1115.
- Pointillart, A., A. Fourdin i N. Fontaine.** 1987. Importance of cereal phytase activity for phytate phosphorus utilization by growing pigs fed diets containing triticale or corn. *J. Nutr.* 117, 907-913.
- Pos, J., H. Enting i A. Veldman.** 2003. Effect of phytase and dietary calcium level on litter quality and broiler performance. En: *Proc. 14th European Symposium of Poultry Nutrition*. Lillehammer, Noruega. pp 27-28.
- Punna, S. i D. A. Roland sr.** 1999. Influence of supplemental microbial phytase on first cycle hens fed phosphorus-deficient diets from day one of age. *Poult. Sci.* 78, 1407-1411.
- Punna, S. i D. A. Roland sr.** 2000. Dietary supplementation of phytase and hy-line W-36 pullets fed varying levels of dietary phosphorus from day 1 through 18 wk. *J. Appl. Poult. Res.* 9, 35-42.
- Punna, S. i D. A. Roland sr.** 2001. Influence of dietary phytase supplementation on incidence and severity in broilers divergently selected for tibial dyschondroplasia. *Poult. Sci.* 80, 735-740.
- Qian, H., E. T. Kornegay i D. E. Conner jr.** 1996a. Adverse effects of wide calcium:phosphorus ratios on supplemental phytase efficacy for weanling pigs fed two dietary phosphorus levels. *J. Anim. Sci.* 74, 1288-1297.
- Qian, H., E. T. Kornegay i D. M. Denbow.** 1996b. Phosphorus equivalence of microbial phytase in turkey diets as influenced by calcium to phosphorus ratios and phosphorus levels. *Poult. Sci.* 75, 69-81.
- Qian, H., E. T. Kornegay i D. M. Denbow.** 1997. Utilization of phytate phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol, and the calcium:total phosphorus ratio in broiler diets. *Poult. Sci.* 76, 37-46.
- Qian, H., E. T. Kornegay i H. P. Veit.** 1996c. Effects of supplemental phytase and phosphorus on histological, mechanical and chemical traits of tibia and performance of turkeys fed on soyabean-meal-based semi-purified diets high in phytate phosphorus. *Br. J. Nutr.* 76, 263-272.
- Radcliffe, J. S., Z. Zhang i E. T. Kornegay.** 1998. The effects of microbial phytase, citric acid, and their interaction in a corn-soybean meal-based diet for weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 76, 1880-1886.

- Rama Rao, S. V., V. Ravindra Reddy i V. Ramasubba Reddy.** 1999. Enhancement of phytate phosphorus availability in the diets of commercial broilers and layers. *Anim. Feed Sci. Tech.* 79, 211-222.
- Ravindran, V., E. T. Kornegay, D. M. Denbow, Z. Yi i R. M. Hulet.** 1995b. Response of turkey poults to tiered levels of Natuphos phytase added to soybean meal-based semi-purified diets containing three levels of nonphytate phosphorus. *Poult. Sci.* 74, 1843-1854.
- Ravindran, V., P. H. Selle i W. L. Bryden.** 1999a. Effects of phytase supplementation, individually and in combination, with glycanase, on the nutritive value of wheat and barley. *Poult. Sci.* 78, 1588-1595.
- Ravindran, V., P. H. Selle, G. Ravindran, P. C. H. Morel, A. K. Kies i W. L. Bryden.** 2001. Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. *Poult. Sci.* 80, 338-344.
- Ravindran, V., S. Cabahug, G. Ravindran i W. L. Bryden.** 1999b. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. *Poult. Sci.* 78 (5), 699-706.
- Ravindran, V., W. L. Bryden i E. T. Kornegay.** 1995a. Phytates: occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. *Poult. Avian Biol. Rev.* 6 (2), 125-143.
- Rebollar, P. G. i G. G. Mateos.** 2000. El fósforo en nutrición animal. Necesidades, valoración de materias primas y mejora de la disponibilidad (I). *Anaporc.* 203, 90-112.
- Reddy, N.R., M. D. Pierson, S. K. Sathe i D. K. Salunkhe.** 1989. Phytates in cereals and legumes. CRC Press, Boca Raton, USA.
- Ribeiro, A. M. L., A. J. Mireles i K. C. Klasing.** 2003. Interactions between dietary phosphorus level, phytase supplementation and pelleting on performance and bone parameters of broilers fed high levels of rice bran. *Anim. Feed Sci. Tech.* 103, 155-161.
- Riond, J. L.** 2003. Phytate und phytases in horses. <http://www.forschungpferd.ch/proj/l3a0101a.html>
- Roberson, K. D.** 1999. Estimation of the phosphorus requirement of weanling pigs fed supplemental phytase. *Anim. Feed Sci. Tech.* 80, 91-100.
- Roberson, K. D. i H. M. Edwards jr.** 1994. Effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol and phytase on zinc utilization in broiler chicks. *Poult. Sci.* 73, 1312-1326.
- Rodehutsord, M., P. Wendt i E. Strobel.** 2003. Reducing the phosphorus concentration in diets for turkeys between 10 and 22 weeks of age. *Brit. Poultry Sci.* 44 (4), 591-597.
- Roland sr, D. A. i S. Punna.** 1999. Effect of dietary supplementation of phytase on Hy-Line W-36 pullets fed varying levels of dietary phosphorus 1. Day one to 18 weeks. En: BASF Technical Symposium (Use of Natuphos phytase in layer nutrition and management). Atlanta, USA. pp 36-46.

- Roland sr, D. A., X. Zhang, G. R. McDaniel i S. K. Rao. 1999.** Effectiveness of Natuphos phytase in improving performance of broilers breeder hens. En: BASF Technical Symposium. (Use of Natuphos phytase in broiler nutrition and waste management). Atlanta, USA. pp. 1-6.
- Rounds, M. A. i S. S. Nielsen. 1993.** Anion-exchange high-performance liquid chromatography with post-column detection for the analysis of phytic acid and other inositol phosphates. J. Chromat. A. 653, 148-152.
- Rutherford, S. M., T. K. Chung i P. J. Moughan. 2002.** The effect of microbial phytase on ileal phosphorus and amino acid digestibility in the broiler chicken. Brit. Poultry Sci. 44, 598-606.
- Rutherford, S. M., T. K. Chung, P. C. H. Morel i P. J. Moughan. 2004.** Effect of microbial phytase on ileal digestibility of phytate phosphorus, total phosphorus and amino acids in a low-phosphorus diet for broilers. Poult. Sci. 83, 61-68.
- Sandberg, A. S. 2002.** Bioavailability of minerals in legumes. Brit. J. Nutr. 88, 3, S281-S285.
- Sandberg, A.-S. i H. Andersson. 1988.** Effect of dietary phytase on the digestion of phytate in the stomach and small intestine of humans. J. Nutr. 118, 469-473.
- Sandberg, A.-S. i R. Ahderinne. 1986.** HPLC method for determination of inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates in foods and intestinal contents. J. Food Sci. 51 (3), 547-550.
- Sandberg, A.-S., H. Andersson, N. G. Carlsson i B. Sandström. 1987.** Degradation products of bran phytate formed during digestion in the human small intestine: effect of extrusion cooking on digestibility. J. Nutr. 117, 2061-2065.
- Sandberg, A.-S., L. R. Hulthén i A. M. Türk. 1996.** Dietary *Aspergillus niger* phytase increases iron absorption in humans. J. Nutr. 126, 476-480.
- Sands, J. S., D. Ragland, C. Baxter, B. C. Joern, T. E. Sauber i O. Adeola. 2001.** Phosphorus bioavailability, growth performance, and nutrient balance in pigs fed high available phosphorus corn and phytase. J. Anim. Sci. 79, 2134-2142.
- Sauveur, B. 1989.** Phosphore phytique et phytases dans l'alimentation des volailles. INRA Prod. Anim. 2 (5), 343-351.
- Saxena, H. C. 1996.** Need for reappraisal. Practical aspects of calcium, phosphorus and vitamin D3 nutrition for broilers. World Poultry. 12, 57.
- Schinkell, A. P. 1999.** Swine management. http://www.ansc.purdue.edu/courses/ansc443/Class_notes/Nutrition.html
- Scott, T. A., R. Kampen i F. G. Silversides. 1999.** The effect of phosphorus, phytase enzyme, and calcium on the performance of layers fed corn-based diets. Poult. Sci. 78, 1742-1749.
- Sebastian, S., S. P. Touchburn i E. R. Chavez. 1998.** Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: a review. Worlds Poultry Sci. J. 54, 27-47.

- Sebastian, S., S. P. Touchburn, E. R. Chavez i P. C. Lague.** 1996a. The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper, and zinc in broiler chickens fed corn-soybean diets. *Poult. Sci.* 75, 729-736.
- Sebastian, S., S. P. Touchburn, E. R. Chavez i P. C. Lague.** 1996b. Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization of broiler chickens. *Poult. Sci.* 75, 1516-1523.
- Sebastian, S., S. P. Touchburn, E. R. Chavez i P. C. Lague.** 1997. Apparent digestibility of protein and amino acids in broiler chickens fed a corn-soybean diet supplemented with microbial phytase. *Poult. Sci.* 76, 1760-1769.
- Selle, P. H., D. J. Cadogan i W. L. Bryden.** 2003. Effects of phytase supplementation of phosphorus-adequate, lysine-deficient, wheat-based diets on growth performance of weaner pigs. *Austral. J. Agric. Res.* 54, 323-330.
- Shelton, J. L., L. L. Southern, T. D. Bidner, M. A. Persica, J. Braun, B. Cousins i W. F. McKnight.** 2003. Effect of microbial phytase on energy availability, and lipid and protein deposition in growing swine. *J. Anim. Sci.* 81, 2053-2062.
- Shirley, R. B. i H. M. Edwards jr.** 2003. Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. *Poult. Sci.* 82, 671-680.
- Simons, P. C. M., A. W. Jongbloed, H. A. J. Versteegh i P. A. Kemme.** 1992. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in poultry and pigs. En: *Nutrition Conference for the Feed Industry*. Atlanta, USA. pp. 100-109.
- Simons, P. C. M., H. A. J. Versteegh, A. W. Jongbloed, P. A. Kemme, P. Slump, K. D. Bos, M. G. E. Wolters, R. F. Beudeker i G. J. Verschoor.** 1990. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. *Br. J. Nutr.* 64, 525-540.
- Skoglund, E., M. Näsi i A.-S. Sandberg.** 1998. Phytate hydrolysis in pigs fed a barley-rape seed meal diet treated with *Aspergillus niger* phytase or steeped with whey. *Can. J. Anim. Sci.* 75, 175-180.
- Skoglund, E., N. G. Carlsson i A.-S. Sandberg.** 1997. Determination of isomers of inositol mono- to hexaphosphates in selected foods and intestinal contents using high-performance ion chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 45, 431-436.
- Smith, T. N., G. M. Pesti, R. I. Bakalli, J. Kilburn i H. M. Edwards Jr.** 2001. The use of near-infrared reflectance spectroscopy to predict the moisture, nitrogen, calcium, total phosphorus, gross energy, and phytate phosphorus content of broiler excreta. *Poult. Sci.* 80, 314-319.
- Snow, J. L., M. W. Douglas i C. M. Parsons.** 2003. Phytase effects on amino acid digestibility in molted laying hens. *Poult. Sci.* 82, 474-477.

- Sohail, S. S. i D. A. Roland sr.** 1999. Influence of supplemental phytase on performance of broilers four to six weeks of age. *Poult. Sci.* 78, 550-555.
- Sohail, S. S. i D. A. Roland sr.** 2000. Influence of phytase on calcium utilization in comercial layers. *J. Appl. Poult. Res.* 9, 81-87.
- Soonchanrernying, S. i H. M. Edwards Jr.** 1993. Phytate content of excreta and phytate retention in the gastrointestinal tract of young chickens. *Poult. Sci.* 72, 1906-1916.
- Spencer, J. D., G. L. Allee i T. E. Sauber.** 2000. Phosphorus bioavailability and digestibility of normal and genetically modified low-phytate corn for pigs. *J. Anim. Sci.* 78, 675-681.
- Stahl, C. H., K. R. Roneker, J. R. Thornton i X. G. Lei.** 2000. A new phytase expressed in yeast effectively improves the bioavailability of phytate phosphorus to weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 78, 668-674.
- Swick, R. A. i F. J. Ivey.** 1991. Effect of dietary phytase addition on broiler performance in phosphorus deficient diets. Comunicació personal.
- Tangendjaja, B., T. K. Chung i J. Broz.** 2002. Effects of different sources of microbial phytase on production performance of brown-egg layers fed diets containing a high level of rice bran. *J. Appl. Poult. Res.* 11, 212-216.
- Torrallardona, D., D. Solà-Oriol, J. Broz i J. Brufau.** 2003. Effects of dicalcium phosphate level and of phytase on performance and P excretion in growing pigs. En: 9th International Symposium on Digestive Physiology in Pigs. Banff, Canada Vol.2, 323-325.
- Traylor, S. L., G. L. Cromwell, M. D. Lindemann i D. A. Knabe.** 2001. Effects of level supplemental phytase on ileal digestibility of amino acids, calcium, and phosphorus in dehulled soybean meal for growing pigs. *J. Anim. Sci.* 79, 2634-2642.
- Um, J. S. i I. K. Paik.** 1999. Effects of microbial phytase supplementation on egg production, eggshell quality, and mineral retention of laying hens fed different levels of phosphorus. *Poult. Sci.* 78, 75-79.
- Valaja, J., S. Plaami i H. Siljander-Rasi.** 1998. Effect of microbial phytase on digestibility and utilisation of phosphorus and protein in pigs fed wet barley protein with fibre. *Anim. Feed Sci. Tech.* 72, 221-233.
- Valencia, Z. i E. R. Chavez.** 2002. Phytase and acetic acid supplementation in the diet of early weaned piglets: effect on performance and apparent nutrient digestibility. *Nutrition Research.* 22, 623-632.
- Vallardi González, M., R. Morales López i E. Ávila González.** 2002. Efecto de la adición de fitasa como fuente de fósforo inorgánico en dietas para gallinas de postura. *Téc Pecu Méx.* 40 (2), 181-186.

- Van der Klis, J. D., H. A. J. Versteegh, P. C. M. Simons i A. K. Kies.** 1997. The efficacy of phytase in corn-soybean meal-based diets for laying hens. *Poult. Sci.* 76, 1535-1542.
- Viveros, A., A. Brenes, I. Arija i C. Centeno.** 2002. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broilers chicks fed different levels of phosphorus. *Poult. Sci.* 81, 1172-1183.
- Viveros, A., C. Centeno, A. Brenes, R. Canales i A. Lozano.** 2000. Phytase and acid phosphatase activities in plant feedstuffs. *J. Agric. Food Chem.* 48, 4009-4013.
- Viveros, A., I. Arija, C. Centeno i A. Brenes.** 2002a. Efecto de la administración de fitasas de origen vegetal y microbiano sobre la utilización del fósforo en pollos broilers. *Investigaciones Agrarias.* 17 (1-2), 81-92.
- Vogt, H.** 1992. Effect of supplemental phytase to broiler rations different in phosphorus content. 2nd trial. *Arch. Geflügelkd.* 56, 5, 222-226.
- Vohra, A. i T. Satyanarayana.** 2003. Phytases: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. *Critical Reviews in Biotechnology.* 23 (1), 29-60.
- Vollhardt, K. P. C.** 1987. Ácidos carboxílicos y espectroscopia infrarroja. En: *Química Orgánica.* Ed. Omega S.A., Barcelona, Espanya.
- Waldroup, P. K.** 2001. Dietary nutrient allowances for chickens and turkeys. *Feedstuffs.* July, 11, 56-65.
- Waldroup, P. W., J. H. Kersey, E. A. Saleh, C. A. Fritts, F. Yan, H. L. Stilborn, R. C. Crum jr i V. Raboy.** 2000. Nonphytate phosphorus requirement and phosphorus excretion of broiler chicks fed diets composed of normal or high available phosphate corn with and without microbial phytase. *Poult. Sci.* 79, 1451-1459.
- Ward, N. E.** 2002. Phytase stability may be improved by new technology. *Feedstuffs.* March, 4, 11-12.
- Webb, E. C.** 1992. Enzyme nomenclature. Academic Press, INC. Londres, Regne Unit. p. 349.
- Windisch, W. i M. Kirchgeßner.** 1996. Effect of microbial phytase supplementation on performance data and metabolism of phosphorus, calcium and nitrogen at different levels of calcium supply in broilers. *Arch. Geflügelkd.* 60 (1), 42-47.
- Wodzinsky, R. J. i A. H. J. Ullah.** 1996. Phytase. *Advances in Applied Microbiology.* 42, 263-302.
- Wu, Y. B., V. Ravindran, D. G. Thomas, M. J. Birtles i W. H. Hendriks.** 2004. Influence of phytase and xylanase, individually or in combination, on performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology in broilers fed wheat-based diets containing adequate level of phosphorus. *Brit. Poultry Sci.* 45 (1), 76-84.

- Wu, Y. B., V. Ravindran i W. H. Hendriks.** 2003. Effects of microbial phytase, produced by solid-state fermentation, on the performance and nutrient utilisation of broilers fed maize- and wheat-based diets. *Brit. Poultry Sci.* 44 (5), 710-718.
- Wyss, M., L. Pasamontes, R. Rémy, J. Kohler, E. Kuszniir, M. Gadiant, F. Müller i A. P. G. M. van Loon.** 1998. Comparison of the thermostability properties of three acid phosphatases from molds: *Aspergillus fumigatus* phytase, *A. niger* phytase, and *A. niger* pH 2.5 acid phosphatase. *Applied and Environmental Microbiology*. 64 (11), 4446-4451.
- Yan, F., C. A. Fritts i P. Waldroup.** 2003a. Evaluation of modified dietary phosphorus levels with and without phytase supplementation on live performance and fecal phosphorus levels in broiler diets. 1. Full-term feeding recommendations. *J. Appl. Poult. Res.* 12, 174-182.
- Yan, F., J. H. Kersey i P. W. Waldroup.** 2001. Phosphorus requirement of broiler chicks three to six weeks of age as influenced by phytase supplementation. *Poult. Sci.* 80, 455-459.
- Yan, F., J. H. Kersey, C. A. Fritts i P. Waldroup.** 2003b. Phosphorus requirement of broiler chicks six to nine weeks of age as influenced by phytase supplementation. *Poult. Sci.* 82, 294-300.
- Yan, F., J. H. Kersey, C. A. Fritts, P. W. Waldroup, H. L. Stilborn, R. C. Crum jr, D. W. Rice i V. Raboy.** 2000. Evaluation of normal yellow dent corn and high available phosphorus corn in combination with reduced dietary phosphorus and phytase supplementation for broilers grown to market weights in litter pens. *Poult. Sci.* 79, 1282-1289.
- Yanke, L. J., H. D. Bae, L. B. Selinger i K. J. Cheng.** 1998. Phytase activity of anaerobic ruminal bacteria. *Microbiology*. 144, 1565-1573.
- Yi, Z. i E. T. Kornegay.** 1996. Sites of phytase activity in the gastrointestinal tract of young pigs. *Anim. Feed Sci. Tech.* 61, 361-368.
- Yi, Z., E. T. Kornegay i D. M. Denbow.** 1996a. Effect of microbial phytase on nitrogen and amino acid digestibility and nitrogen retention of turkey poult fed corn-soybean meal diets. *Poult. Sci.* 75, 979-990.
- Yi, Z., E. T. Kornegay, V. Ravindran i D. M. Denbow.** 1996b. Improving phytate phosphorus availability in corn and soybean meal for broilers using microbial phytase and calculation for phosphorus equivalency values for phytase. *Poult. Sci.* 75, 240-249.
- Yi, Z., E. T. Kornegay, V. Ravindran, M. D. Lindemann i J. H. Wilson.** 1996c. Effectiveness of Natuphos® phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in soybean meal-based semipurified diets for young pigs. *J. Anim. Sci.* 74, 1601-1611.
- Zacharias, B., H. Ott i W. Drochner.** 2003. The influence of dietary microbial phytase and copper on copper status in growing pigs. *Anim. Feed Sci. Tech.* 106, 139-148.
- Zanini, S. F. i M. H. Sazzad.** 1999. Effects of microbial phytase on growth and mineral utilisation in broilers fed on maize soyabean-based diets. *Brit. Poultry Sci.* 40, 348-352.

- Zhang, X., D. A. Roland, G. R. McDaniel i S. K. Rao.** 1999. Effect of Natuphos phytase supplementation to feed on performance and ileal digestibility of protein and amino acids of broilers. *Poult. Sci.* 78, 1567-1572.
- Zimmerman, B., H. J. Lantzs, R. Mosenthin, F. J. Schöner, H. K. Biesalski i W. Drochner.** 2002. Comparative evaluation of the efficacy of cereal and microbial phytases in growing pigs fed diets with marginal phosphorus supply. *J. Sci. Food Agric.* 82, 1298-1304.
- Zimmerman, B., H. J. Lantzs, R. Mosenthin, H. K. Biesalski i W. Drochner.** 2003. Additivity of the effect of cereal and microbial phytases on apparent phosphorus absorption in growing pigs fed diets with marginal P supply. *Anim. Feed Sci. Tech.* 104, 143-152.
- Zimmerman, R. i R. Dvorak.** 1997. Reducing fecal phosphorus with lower dietary phosphorus and allzyme phytase. En: Alltech's 13th Annual Symposium (Poster).
- Zyla, K., A. Wikiera, J. Koreleski, S. Swiatkiewicz, J. Piironen i D. R. Ledoux.** 2000b. Comparison of the efficacies of a novel *Aspergillus niger* mycelium with separate and combined effectiveness of phytase, acid phosphatase, and pectinase in dephosphorylation of wheat-based feeds fed to growing broilers. *Poult. Sci.* 79, 1434-1443.
- Zyla, K., D. Gogol, J. Koreleski, S. Swiatkiewicz i D. R. Ledoux.** 1999. Simultaneous application of phytase and xylanase to broiler feeds based on wheat: feeding experiment with growing broilers. *J. Sci. Food Agric.* 79, 1841-1848.
- Zyla, K., D. R. Ledoux, M. Kujawski i T. L. Veum.** 1996. The efficacy of an enzymic cocktail and a fungal mycelium in dephosphorylating corn-soybean meal-based feeds fed to growing turkeys. *Poult. Sci.* 75, 381-387.
- Zyla, K., J. Koreleski, S. Swiatkiewicz, A. Wikiera, M. Kujawski, J. Piironen i D. R. Ledoux.** 2000a. Effects of phosphorolytic and cell wall-degrading enzymes on the performance of growing broilers fed wheat-based diets containing different calcium levels. *Poult. Sci.* 79, 66-76.
- Zyla, K., J. Koreleski, S. Swiatkiewicz, D. R. Ledoux i J. Piironen.** 2001. Influence of supplemental enzymes on the performance and phosphorus excretion of broilers fed wheat-based diets to 6 weeks of age. *Anim. Feed Sci. Tech.* 89, 113-118.

OBJECTIUS

El principal objectiu d'aquest treball és estudiar els efectes que l'addició de fitasa microbiana en diferents tipus de dietes per a aus produeix tant en el seu valor nutricional, com en els rendiments productius de les aus, i en el seu impacte mediambiental.

Amb el propòsit d'aconseguir aquest objectiu es van plantejar altres objectius més concrets:

- Avaluar l'efecte de l'addició de la fitasa microbiana i la consegüent reducció del percentatge de inclusió del fòsfor no fític en pinsos per a aus, sobre la biodisponibilitat i la retenció de fòsfor i altres minerals, en funció de la diferent composició de les matèries primeres utilitzades (per exemple, ordi, blat, segó de blat). Aquest objectiu es va pretendre assolir amb els assaigs 1, 2, 3 i 4.
- Estimar el valor de l'equivalència del fòsfor no fític amb les unitats fitasa, a realitzar en l'assaig 1.
- Valorar les millores que la fitasa pot produir, en el valor energètic de les dietes i en la digestibilitat de les diferents fraccions nutritives: proteïna i aminoàcids, fibra i altres hidrats de carboni, midó i lípids, en els assaigs 1, 2, 3, 4 i 5.
- Estudiar la utilitat de incorporació de fitasa en dietes riques en fitasa endògena i en PNA (a base de blat i ordi) i la seva interacció amb altres enzims que poden estar incorporats en aquest tipus de dietes, en l'assaig 5.
- Determinar els productes de la degradació de l'àcid fític per efecte de la fitasa, estudiant la hidròlisi en diferents punts del tracte digestiu dels animals, mitjançant la tècnica analítica de RMN, mostrant-se en el capítol 9.

L'aplicació pràctica d'aquest projecte no se centra només en avaluar la reducció en el medi ambient del fòsfor procedent de les dejeccions d'aus degut al fòsfor no fític incorporat en les dietes, si no, a més, estudiar quines millores globals produeix aquest enzim en l'aprofitament general d'altres

nutrients (nitrogen, calci i altres minerals, quantitat global d'excretes, etc.), minimitzant les seves pèrdues i, per tant, el seu impacte ambiental.
