



ARTIGO 246

REVISÃO

EFEITO ANTINUTRICIONAL DO ÁCIDO FÍTICO SOBRE O CÁLCIO E USO DE FITASE EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE

Antinutritional effect of the phytic acid on calcium and use of phytase in broiler diets

Luciana de Paula Naves¹

RESUMO: Na produção de frangos de corte, é desejável que as aves desenvolvam e mantenham uma boa estrutura óssea, de maneira que os níveis de cálcio e fósforo na ração assim como a suplementação desta com fitase estão diretamente correlacionados aos parâmetros ósseos dessas aves. Todavia, o estudo da eficiência da fitase na nutrição de frangos de corte não é uma tarefa simples devido à quantidade e complexidade de fatores envolvidos. Para isso, é necessário conhecer o máximo possível todas as variáveis que possam influenciar a atividade catalítica das fitases. Importantes pontos que devem ser considerados referem-se à complexação do ácido fítico com o cálcio e o efeito deste substrato complexado sobre a eficiência da fitase suplementada na ração, sendo estes aspectos os principais objetivos deste trabalho de revisão.

Palavras-chave: ave, complexo, enzima, fitato, fósforo, nutrição

ABSTRACT: In broiler rearing, it is desirable that birds develop and maintain a good bone structure of manner that the levels of calcium and phosphorus in the feed, as well as its supplementation with phytase, are directly linked to the bone parameters of these birds. However, the study of the efficiency of phytase at the broiler nutrition is no simple task, due to the number and complexity of factors involved. Thus, it is necessary to have as much knowledge as possible of the variables that might influence the catalytic activity of phytases. Important points need to be considered referring to the complexation of phytic acid to calcium, and the effect of this complexed substrate on efficiency of the phytase supplemented in the feed, being these aspects the principal objectives of this study of review.

Keywords: Bird, complex, enzyme, phytate, phosphorus, nutrition

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, 37200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: luciana.naves@hotmail.com



INTRODUÇÃO

O fitato é a principal forma de armazenamento de fósforo (P) em sementes e grãos comumente utilizados nas rações de frangos de corte, entretanto, apenas uma pequena fração do P fítico (P_{fit}) da dieta é naturalmente aproveitada por esses animais. Além disso, o ácido fítico pode complexar-se com nutrientes da dieta durante sua passagem pelo trato digestório, diminuindo a biodisponibilidade desses nutrientes e podendo comprometer o desempenho zootécnico das aves. Outros fatores também favorecem o uso de fitase exógena na ração de aves: (1) o P inorgânico é um recurso natural não-renovável, representando um dos ingredientes mais caros da ração, (2) há atualmente um forte apelo ambiental pela redução da deposição de P no solo/água e (3) o preço das fitases comercializadas vem sendo reduzido em função do avanço das técnicas de biotecnologia e fermentação (Selle et al., 2009). Portanto, fitases têm sido adicionadas às rações de frangos de corte para minimizar esses problemas e pesquisas comprovaram que seu uso é viável nutricionalmente, ambientalmente e economicamente (Nagata et al., 2009; Santos et al., 2008).

As fitases hidrolisam as ligações fosfoéster da molécula de fitato, tornando o P hidrolisado disponível para ser aproveitado pelas aves (Han et al., 2009). O P e cálcio (Ca) desempenham importantes funções no metabolismo das aves contribuindo para o seu desenvolvimento adequado (Macari et al., 2002). Embora a fonte inorgânica de Ca seja de custo relativamente baixo, é importante avaliar qual deve ser o nível de inclusão deste nutriente quando se formula a ração com determinado teor de P e certa atividade de fitase suplementada. Se por um lado, o excesso de Ca na ração pode reduzir sua utilização e também a de outros nutrientes como o P (Schoulten et al., 2002), além de poder diminuir a atividade catalítica da fitase utilizada (Santos et al., 2008), sua

deficiência pode prejudicar a integridade óssea e o desempenho dos frangos (Selle & Ravindran, 2007). Portanto, este trabalho de revisão objetiva abordar os principais aspectos relacionados ao efeito antinutricional do ácido fítico sobre o cálcio e uso de fitase em dietas de frangos de corte.

REFERENCIAL TEÓRICO

Fitato: nomenclatura, símbolos e considerações sobre seu precursor (o mio-inositol)

Vários nomes e símbolos têm sido usados para referir-se à molécula de fitato, como: ácido fítico, hexafosfato de mio-inositol, IP_6 , $InsP_6$ ou $Ins(1,2,3,4,5,6)P_6$ (Almeida et al., 2003). Segundo Selle e Ravindran (2007), o termo fitato refere-se quimicamente ao sal do ácido fítico com um único tipo de mineral como, por exemplo, fitato de sódio ou fitato de potássio. Entretanto, o termo fitato é cotidianamente utilizado na área zootécnica independentemente da forma na qual a molécula se encontra (forma livre ou complexada).

O fitato é a principal forma de armazenamento de P durante o desenvolvimento de grãos, legumes e sementes (Lei & Porres, 2003). Segundo Almeida et al. (2003), o fitato é sintetizado a partir da fosforilação completa do mio-inositol que, por sua vez, tem a glicose como precursora.

Segundo a nomenclatura oficial, o único grupo hidroxila axial do mio-inositol ocupa a posição C_2 na estrutura, conseqüentemente, o único grupo fosfato do fitato disposto axialmente será aquele ligado ao C_2 . A posição C_2 no fitato tem um papel particular, pois as fitases são estereoespecíficas e apresentam forte preferência pelos grupos fosfatos ligados equatorialmente ao anel de mio-inositol, sendo o grupo fosfato disposto axialmente no C_2 resistente à hidrólise enzimática (Lei & Porres, 2003).



Concentração de fitato na dieta das aves

O fitato está naturalmente presente na dieta das aves, pois as rações contêm ingredientes vegetais, destacando-se o milho e o farelo de soja como os mais comuns. Segundo Ravindran et al. (1995), as dietas das aves contêm de 2 a 4 g de P_{fit} /kg de ração indicando uma variação de até 100%. Parte dessa variabilidade no teor de P_{fit} da ração é devida a diferenças na concentração de fitato nos alimentos ocasionadas por variações no clima, solo/adubação, idade e estágio de maturação do vegetal, cultivar, grau de processamento, melhoramento genético (Exemplo: milho híbrido com baixo teor de fitato) entre outros.

Na Tabela 1 consta a concentração média de P_{total} , P disponível (P_{disp}) e P_{fit} dos principais alimentos utilizados na formulação de rações para aves.

Tabela 1 Teor de fósforo dos principais alimentos utilizados nas rações de aves.

Alimentos	% de fósforo (P)*		
	P total	P disponível ¹	P fítico
Farelo de arroz	1,67	0,24	1,43
Farinha de carne e ossos (41% de PB ²)	6,53	5,88	–
Farinha de carne e ossos (46% de PB ²)	5,97	5,37	–
Milho	0,25	0,06	0,19
Farelo de soja (45% de PB ²)	0,56	0,22	0,34
Soja integral tostada	0,52	0,19	0,33
Sorgo baixo tanino	0,26	0,08	0,18
Farelo de trigo	0,97	0,33	0,64
Farinha de vísceras de aves	2,54	2,54	–
Fosfato bicálcico	18,5	18,5	–

*Em matéria natural. Adaptado de Rostagno et al. (2011). ¹Valores calculados ou estimados. ²PB = proteína bruta.

Utilizando as informações contidas na Tabela 1, tem-se que apenas 14,37% do P_{total} contido no farelo de arroz está disponível. Para os demais ingredientes de origem vegetal entre 24,00 a 39,29% do P_{total} é P_{disp} . Segundo o National Research Council - NRC (1994), em média, 30% do P de origem vegetal é P_{disp} , sendo os 70% restantes correspondentes ao P_{fit} .

Já as farinhas de carne e ossos e a farinha de vísceras de aves contribuem com, respectivamente, 90% e 100% de P_{disp} . Todavia, há limitações para o seu uso em rações, sendo que determinados países (principalmente europeus) não importam carnes advindas de animais alimentados com essas fontes de P (Bellaver, 2002). Já o fosfato bicálcico é considerado uma fonte inorgânica de P 100% disponível, embora sua digestibilidade para aves seja de apenas 70% (Rostagno et al., 2011); mas é importante considerar que trata-se de um ingrediente caro que onera o custo com a alimentação das aves, além de ser um recurso mineral não renovável o que tem provocado a preocupação de uma crise futura no seu suprimento.

O P é um nutriente que desempenha várias funções fisiológicas incluindo aquelas responsáveis pelo crescimento da ave (Assuena et al., 2009). A molécula de ácido fítico tem alto conteúdo de P (282 g de P/kg de IP₆) e diante dos problemas discutidos anteriormente, justifica-se a necessidade de um maior aproveitamento do P_{fit} pelas aves, utilizando fitases exógenas para diminuir os custos da ração além de permitir uma produção animal com maior responsabilidade ambiental pela redução na excreção de P.

Atuação do fitato como fator antinutricional

O ácido fítico possui alto potencial para complexar nutrientes (íons ou até mesmo moléculas), conforme demonstrado na Figura 1.

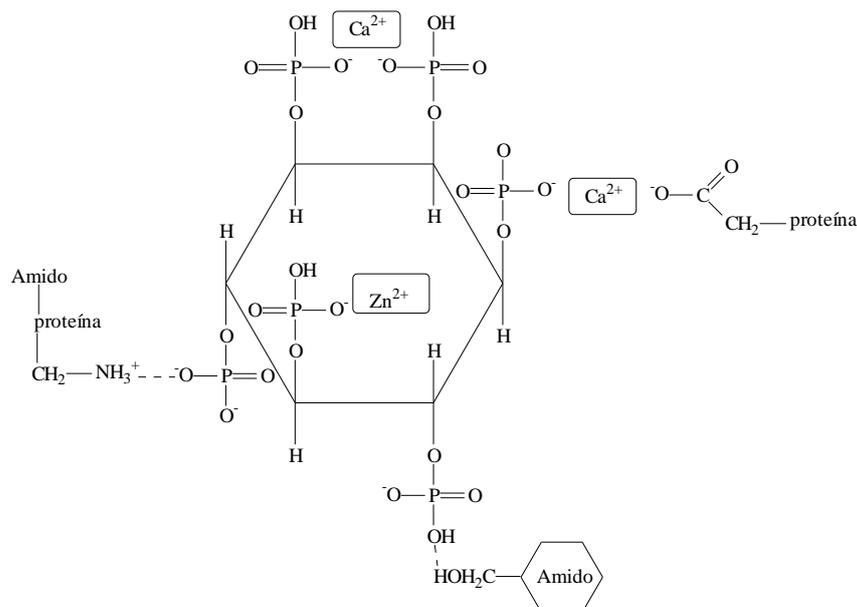


Figura 1 - Exemplos de possíveis ligações entre o ácido fítico e alguns nutrientes (Kornegay, 2001).

O número de cargas iônicas no fosfato de mio-inositol influencia sua capacidade complexante e a desprotonação dos grupos fosfatos está intimamente ligada ao pH no qual a molécula se encontra. O fitato pode ter até 12 cargas negativas, sendo 2 cargas localizadas em cada um dos 6 grupos fosfatos da molécula (Quirrenbach et al., 2009). O fitato carregado negativamente pode complexar-se com minerais catiônicos sendo que os divalentes (Ca^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+}) são mais susceptíveis (Kornegay, 2001). A formação de complexos fitato-nutriente tem grande importância nutricional, pois os nutrientes complexados podem não ser absorvidos no intestino (Lei & Porres, 2003), o que pode reduzir o desempenho/produzitividade das aves.

Quanto maior o grau de fosforilação do mio-inositol, maior é o seu poder de complexação. Segundo Cúneo et al. (2000), os fosfatos de inositol determinados em grãos correspondem, aproximadamente, a 90% na forma hexafosfórica com os 10% restantes referentes ao somatório das frações penta-, tetra- e trifosfórica.

É importante lembrar que o Ca dietético pode se ligar ao fitato formando complexos ou se ligar ao P inorgânico – P_{inorg} – formando fosfatos de cálcio como o $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (Tamim et al., 2004). As concentrações molares relativas de P_{inorg} e fitato podem influenciar a espécie química que vai ser formada, entretanto, sabe-se que o Ca^{2+} tem maior afinidade pelo fitato do que pelo ortofosfato (Gosselin & Coghlan, 1953). Segundo Selle et al. (2009), é provável que o Ca não esteja complexado com o fitato nos ingredientes que compõem a ração (ex.: milho, soja, etc) porque eles possuem baixa concentração desse mineral. Portanto, a maior taxa de formação dos complexos se dá no trato digestório das aves e é de relevância nutricional, pois estima-se que aproximadamente um terço do Ca dietético forme complexos com o fitato durante a passagem da ração pelo intestino reforçando, assim, a necessidade de suplementar as rações com fitase.

Plumstead et al. (2008) realizaram um experimento com frangos de corte para avaliar o efeito de quatro níveis de Ca na ração (0,47; 0,70; 0,93 e 1,16 g/100g) e de três níveis de P_{fit} (0,28; 0,24 e 0,10 g/100g) sobre a digestibilidade e retenção de



nutrientes. Os níveis de P_{fit} foram obtidos utilizando-se farelos de soja produzidos a partir de três variedades de soja contendo diferentes teores de fitato. A digesta ileal foi coletada aos 21 dias de idade e, assim como a ração, teve os teores de Ca, P_{total} e P_{fit} determinados. A digestibilidade pré-cecal do P_{fit} foi reduzida linearmente em até 71% quando o nível de Ca variou de 4,7 até 11,6 g/kg de ração provavelmente, devido à maior taxa de formação do complexo fitato-Ca. As proporções de $Ca:P_{disp}$ que

resultaram na maior retenção e menor excreção de P foram 2,53:1 (dieta com 0,28% de P_{fit}), 2,40:1 (dieta com 0,24% de P_{fit}) e 2,34:1 (dieta com 0,10% de P_{fit}).

Principais locais de complexação do fitato com o cálcio

O pH do trato digestório do frango é alterado em função do segmento (Figura 2), o que irá influenciar diretamente na taxa de formação dos complexos fitato-nutrientes.

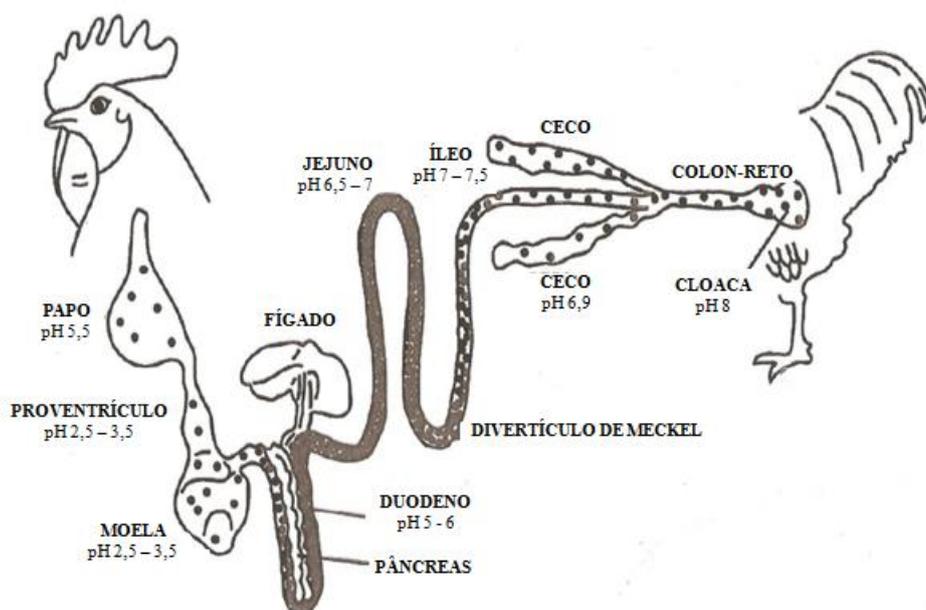


Figura 2 pH do alimento (ração farelada) nos diferentes segmentos do trato digestório de frango de corte alimentado, ad libitum, durante 6 semanas (Gauthier, 2002).

Segundo Oh et al. (2001), o complexo fitato-Ca é formado principalmente em pH de 5,0 a 8,5 sendo que a afinidade do fitato pelo Ca^{2+} aumenta com o aumento do pH. Portanto, teoricamente, esse tipo de complexo não pode ser formado *in vivo* apenas no proventrículo e moela devido ao forte caráter ácido desses segmentos. Até o momento, as fitases comercializadas atuam de modo eficiente apenas sobre o substrato livre (fitato não complexado), portanto, são suplementadas na ração no sentido de reduzir a formação de complexos pelo fitato aumentando, conseqüentemente, a

biodisponibilidade de nutrientes da dieta. Diante disso, muita atenção tem sido dada para as fitases que atuam em baixo pH e a maioria das fitases comercializadas atualmente possuem essa particularidade que as caracteriza como fitases ácidas.

Liebert et al. (1993) concluíram, em aves de 3 a 5 semanas de idade, que 25 a 50% da atividade da fitase microbiana adicionada à ração foi detectada no papo, 10 a 25% no proventrículo e nenhuma atividade foi detectada no intestino delgado. Posteriormente, Yu et al. (2004) avaliaram a digesta retirada de diferentes segmentos do



trato digestório (papo, moela, duodeno, jejuno e íleo) de frangos alimentados com dietas contendo 750 unidades de atividade de fitase/kg de ração e identificaram, por meio de Western blot com anticorpos específicos, a presença da fitase (ou seja, da cadeia proteica) no papo, moela, duodeno e jejuno sendo que nos dois últimos segmentos a massa molecular da fitase foi inferior à 65 kDa indicando proteólise parcial da enzima. Por outro lado, a fitase apresentou atividade apenas no papo, moela e duodeno, sendo a menor atividade determinada no duodeno.

Embora ainda existam algumas dúvidas sobre este tema, a hipótese mais aceita atualmente é que as fitases exógenas hidrolisam o fitato em segmentos anteriores ao duodeno resultando em fosfatos de mio-inositol menores, os quais têm uma capacidade desproporcionalmente reduzida (em relação ao IP_6) para quelar e indisponibilizar o Ca^{2+} . Esse mecanismo permitiria, portanto, que maiores concentrações de Ca e P estejam potencialmente disponíveis para serem absorvidas ao passar pelo intestino delgado (Luttrell, 1993).

O tempo de permanência, em minutos (min), da digesta em diferentes partes do trato digestório de frangos de corte é de aproximadamente 50 min no papo, 90 min no proventrículo e moela, 5 a 8 minutos no duodeno, 20 a 30 min no jejuno, 50 a 70 min no íleo e 25 min no reto (Gauthier, 2002). Considerando estes dados e que as fitases ácidas atuam com eficiência catalítica máxima no papo, proventrículo e moela, essas enzimas dispõem de aproximadamente 55% do tempo total de permanência da digesta no trato digestório para atuar sobre o fitato da dieta.

Entretanto, a possibilidade de formação de complexos durante a passagem da ração pelo papo não pode ser descartada, pois é

provável que o pH 5,5 permita algum grau de ação antinutricional do fitato podendo diminuir, no proventrículo e moela, a eficácia da fitase ácida suplementada na ração.

Forma de complexação entre o fosfatos de mio-inositol e o cálcio

Em pH neutro ou básico, a desprotonação dos grupos fosfatos do fitato aumenta sua afinidade por cátions metálicos divalentes, como por exemplo Ca^{2+} e Mg^{2+} , promovendo a formação de complexos fitato-metal. Como o íon Ca^{2+} possui grande raio iônico (0,99 Å), ele se liga a dois oxigênios de grupos fosfatos adjacentes do fitato, de uma maneira bidentada (Martin & Evans, 1986). Posteriormente, Oh et al. (2006) confirmaram essa preferência de ligação bidentada por meio de estudos cinéticos e de cromatografia em camada delgada.

A quelação pelo grupo fosfato envolve a ligação de coordenação do ligante para um íon metálico pela doação de elétrons dos átomos de oxigênio do fosfato. Cátions divalentes como o Ca^{2+} são mais susceptíveis à quelação do que os monovalentes (Oh et al., 2006). A ligação dos grupos fosfatos depende do raio iônico do cátion e do número de grupos fosfato da molécula (Martin & Evans, 1986) (Figura 3). Por exemplo, com 1 único grupo fosfato em um anel de inositol ($InsP_1$) ou 2 grupos fosfatos distantes, como o $Ins(1,4)P_2$, forma-se preferencialmente um quelato monodentado com o Mg^{2+} que possui pequeno raio iônico. Entretanto, se houverem 2 grupos fosfato adjacentes, como no $Ins(4,5)P_2$ e no $Ins(1,4,5)P_3$, é provável a formação de um quelato bidentado com o Ca^{2+} , o qual possui raio iônico maior que o do Mg^{2+} (0,99 Å versus 0,65 Å).

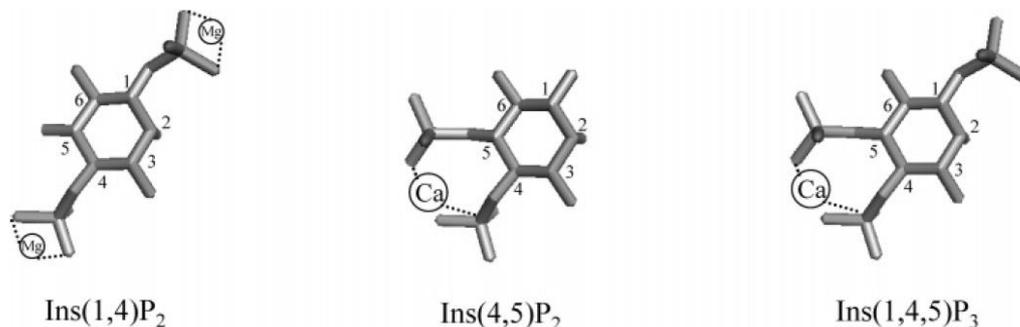


Figura 3 Interação de fosfatos de inositol com cátions divalentes (Cheryan, 1980 citado por Oh et al., 2006).

O InsP₆ é um forte quelante do Ca²⁺ e pode formar vários quelatos bidentados em uma mesma molécula (Oh et al., 2006). Portanto, sua presença compromete a absorção intestinal do Ca²⁺ da dieta, entre outros nutrientes.

FITASES

As fitases (hexafosfato de mio-inositol fosfohidrolases) são enzimas amplamente encontradas nos microrganismos, plantas e certos tecidos animais, entretanto as fontes microbianas são as mais adequadas para sua produção em escala comercial (Vats & Banerjee, 2004). A fitase catalisa a reação de desfosforilação do ácido fítico em ésteres de fosfato de mio-inositol menores e P_{inorg} (Lei & Porres, 2003). A atividade dessa enzima é, normalmente, expressa em unidades de atividade de fitase (FTU) sendo que 1 FTU é a quantidade de P_{inorg} liberado (μmol) durante um minuto de reação em uma solução de fitato de sódio 5,1 mmol/L em pH 5,5 e temperatura de 37 °C (Engelen et al., 1994).

CLASSIFICAÇÃO DAS FITASES

Segundo o local do substrato onde a hidrólise se inicia, duas classes de fitases são reconhecidas pela International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) e pela International Union of Biochemistry (IUB): 3-fitases (EC 3.1.3.8) que removem o primeiro ortofosfato na posição D-3 (L-1) do fitato e 6-fitases (EC 3.1.3.26) as quais

iniciam preferencialmente a desfosforilação na posição L-6 (D-4) (RAGON et al., 2008).

Segundo o pH de ação, as fitases podem ser classificadas em fitases ácidas (com pH ótimo entre 2,5 e 6,0) ou fitases alcalinas (com pH ótimo entre 6,0 e 8,0) (Greiner et al., 2001). Baseado nas suas diferenças estruturais e catalíticas, as fitases foram subdivididas em três principais classes: histidina fosfatase ácida (HFA), fitase β-hélice (FBH) e fosfatase ácida “purple” (FAP) (Mullaney & Ullah, 2003). A Classe HFA é a que possui maior número de representantes, sendo caracterizada pela presença de uma sequência conservada de aminoácidos no sítio ativo (RHG_xR_xP) e um dipeptídeo cataliticamente ativo (His³⁶¹Asp³⁶²). As demais classes (FBH e FAP) não possuem a sequência conservada no sítio ativo e/ou o dipeptídeo cataliticamente ativo (Lei & Porres, 2003). A FBH tem sido isolada principalmente de microrganismos do gênero *Bacillus* e exibe atividade máxima em pH de 6,0 a 8,0 (Fu et al., 2008) e são capazes de hidrolisar o Ca ligado ao fitato, pois o seu substrato é o complexo fitato de cálcio (Shin et al., 2001). Segundo Selle et al. (2009), a inclusão destas fitases em rações para aves e suínos parece promissora, entretanto, até o momento não são comercializadas apesar de já estarem bem caracterizadas quanto suas propriedades moleculares e catalíticas.



HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO ÁCIDO FÍTICO

De acordo com Greiner et al. (2002), a hidrólise do fitato pela fitase é um processo serial, portanto, cada intermediário fosfatado do mio-inositol é liberado do sítio ativo da enzima mas pode ser substrato para a hidrólise seguinte.

Teoricamente, a hidrólise enzimática completa do fitato gera uma série de fosfatos de mio-inositol menores ($IP_6 \rightarrow IP_5 \rightarrow IP_4 \rightarrow IP_3 \rightarrow IP_2 \rightarrow IP_1$), por meio de uma série de reações de desfosforilação, para produzir o mio-inositol e seis P_{inorg} . Entretanto, o mecanismo de catálise e o grau de desfosforilação do ácido fítico são variáveis entre fitases diferentes (Greiner et al., 2002).

EFEITO DOS NÍVEIS DE CA E RELAÇÃO CA:P SOBRE A ATIVIDADE DA FITASE

Trabalhando com frangos de corte de 1 a 42 dias de idade, Aksakal e Bilal (2002) concluíram que a fitase (600 FTU/kg) aumentou em 39,8% a retenção de P nos animais que receberam dietas com relação Ca: P_{total} de 1:1, todavia, quando as dietas continham relação Ca: P_{total} de 2:1 houve um aumento na retenção de P de apenas 8,5%. Esses resultados corroboram com o trabalho de revisão escrito por Selle et al. (2009) no qual os pesquisadores relataram que é aceito atualmente que as fitases comercializadas são mais eficientes quando as dietas contém reduzido nível de Ca e baixa relação Ca: P_{total} , entretanto esses valores ainda não estão completamente estabelecidos para as diferentes fases de criação dos frangos de corte.

Isso provavelmente acontece porque o aumento da concentração de Ca na dieta intensifica a formação de complexos fitato-Ca resistentes à hidrólise pelas fitases até então utilizadas (Tamim & Angel, 2004). Portanto, ao comparar trabalhos diferentes quanto à eficiência da fitase é importante considerar também os níveis de cálcio utilizados nas dietas. Desta forma, faz-se

necessário avaliar qual a real concentração de P_{fit} nas rações, além de determinar a relação Ca:P indicada para frangos de corte alimentados com dietas deficientes em P_{disp} e suplementadas com fitase, nas diferentes fases de criação.

EQUIVALÊNCIA DE CÁLCIO POR FITASES EXÓGENAS

Augsburger e Baker (2004) realizaram um estudo com frangos de corte suplementando uma dieta a base de milho e farelo de soja deficiente em Ca (4,8 g/kg) com fitase de *E. coli* (500 FTU/kg) e concluíram que a fitase liberou em média 0,90 g de Ca/kg de ração com base nas cinzas da tíbia. Já Schöner (1994) observou, também em frangos, que 500 FTU da fitase de *A. niger* equivale a 0,444 g de Ca/kg de ração (a dieta basal continha 4,0 g de Ca/kg; 6,0 g de P_{total} /kg e 2,3 g de P_{disp} /kg), entretanto, basearam-se no ganho de peso vivo e teor de cinzas ósseas. Por outro lado, Yan et al. (2006) concluíram que a fitase disponibiliza quantidades mínimas de Ca em frangos de corte (avaliaram rações a base de milho e soja suplementadas com 1.000 FTU/kg, três níveis de Ca e oito de P_{disp}). Mitchell e Edwards (1996) também relataram que a fitase exógena não reduziu a necessidade de Ca na dieta de frangos quando as dietas continham 2,02 g de P_{fit} /kg de ração e a relação Ca:P variou de 0,86 a 2,30. Provavelmente, as diferenças entre estas pesquisas (tipo de fitase, composição da ração, parâmetros avaliados para determinar a equivalência, relação Ca: P_{disp} ; relação Ca: P_{fit} , etc.) justificam os diferentes resultados de equivalência, estabelecer uma conclusão objetiva da equivalência de Ca pela fitase.

Apesar da crescente experiência prática e científica sobre o uso de fitases microbianas na nutrição de frangos de corte, as pesquisas que avaliam a eficiência da fitase, todavia, é evidente que a fitase melhora a digestibilidade de Ca nas aves.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSAKAL, D.H.; BILAL, T. Effects of microbial phytase and 1,25-dihydroxycholecalciferol on the absorption of minerals from broiler chicken diets containing different levels of calcium. **Acta Veterinaria Hungarica**, v.50, p.307-313, 2002.

ALMEIDA, M.V.; SILVA, A.D.; SOUZA, M.V.N. et al. A cascata dos fosfoinosítídeos. **Química Nova**, v.26, p.105-111, 2003.

ASSUENA, V.; JUNQUEIRA, O.M.; DUARTE, K.F. et al. Effect of dietary phytase supplementation on the performance, bone densitometry, and phosphorus and nitrogen excretion of broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.11, p.25-30, 2009.

AUGSPURGER, N.R.; BAKER, D.H. Phytase improves dietary calcium utilization in chicks, and oyster shell, carbonate, citrate, and citrate malate forms of calcium are equally bioavailable. **Nutrition Research**, v.24, p.293-301, 2004.

BELLAVER, C. Uso de resíduos de origem animal na alimentação de frangos de corte. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 3., 2002, Chapecó. **Anais...** Chapecó: SBA, 2002. p. 6-22.

CÚNEO, F.; AMAYA-FARFAN, J.; CARRARO, F. Distribuição dos fitatos em farelo de arroz estabilizado e tratado com fitase exógena. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, p.94-98, 2000.

ENGELN, A.J.; VAN DER HEEFT, E.C.; RANDSDORP, P.H. et al. Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal of AOAC International**, v.77, p.760-764, 1994.

FU, S.; SUN, J.; QIAN, L. Effect of Ca^{2+} on beta-propeller phytases. **Protein and Peptide Letters**, v.15, p.39-42, 2008.

GAUTHIER, R. Intestinal health, the key to productivity: the case of organic acids. In: CONVENCION ANECA-WPDC, 27., 2002, Puerto Vallarta. **Proceedings...** Puerto Vallarta: WPDC, 2002. p. 1-14.

GOSSELIN, R.E.; COGHLAN, E.R. The stability of complexes between calcium and orthophosphate, polymeric phosphate and phytate. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.45, p.301-311, 1953.

GREINER, R.; ALMINGER, M.L.; CARLSSON, N.G. Stereospecificity of myo-inositol hexakisphosphate dephosphorylation by a phytate-degrading enzyme of baker's yeast. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.2228-2233, 2001.

GREINER, R.; FAROUK, A.; ALMINGER, M.L. et al. The pathway of dephosphorylation of myo-inositol hexakisphosphate by phytate-degrading enzymes of different *Bacillus* spp. **Canadian Journal of Microbiology**, v.48, p.986-994, 2002.



HAN, J.C.; YANG, X.D.; QU, H.X. et al. Evaluation of equivalency values of microbial phytase to inorganic phosphorus in 22- to 42-day-old broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v.18, p.707-715, 2009.

KORNEGAY, E. T. Digestion of phosphorus and other nutrients: the role of phytases and factors influencing their activity. In: Bedford, M. R.; Partridge, G. G. (Ed.). **Enzymes in farm animal nutrition**. Cambridge: CABI, 2001. p. 237-271.

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

LIEBERT, F.; WECKE, C.; SCHÖNER, F.J. Phytase activities in different gut contents of chickens as dependent on levels of phosphorus and phytase supplementations. In: SYMPOSIUM ON ENZYMES IN ANIMAL NUTRITION, 1., 1993, Karthause Ittingen. **Proceedings...** Karthause Ittingen: EAN, 1993. p. 202-205.

LUTTRELL, B. M. The biological relevance of the binding of calcium ions by inositol phosphates. **Journal of Biological Chemistry**, v. 268, p.1521-1524, 1993.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375 p.

MARTIN, C. J.; EVANS, W. J. Phytic acid-metal ion interactions: II., the effect of pH on Ca(II) binding. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.27, p.17-30, 1986.

MITCHELL, R. D.; EDWARDS, H. M. Effects of phytase and 1,25-dihydroxycholecalciferol on phytate utilization and the quantitative requirement for calcium and phosphorus in young broiler chickens. **Poultry Science**, v.75, p.95-110, 1996.

MULLANEY, E. J.; ULLAH, A. H. J. The term phytase comprises several different classes of enzymes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.312, p.179-184, 2003.

NAGATA, A.K.; RODRIGUES, P.B.; ALVARENGA, R.R. et al. Uso do conceito de proteína ideal em rações com diferentes níveis energéticos, suplementadas com fitase para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, p.599-605, 2009.

National Research Council. **Nutrient requirements of poultry**. 9th ed. Washington: National Academy of Science, 1994. 155 p.

OH, B.C.; KIM, M.H.; YUN, B-S. et al. Ca²⁺-inositol phosphate chelation mediates the substrate specificity of β -propeller phytase. **Biochemistry**, v.45, p.9531-9539, 2006.

OH, B.C.; CHANG, B.S.; PARK, S-C. et al. Calcium-dependent catalytic activity of a novel phytase from *Bacillus amyloliquefaciens* DS11. **Biochemistry**, v. 40, p. 9669-9676, 2001.

PLUMSTEAD, P.W.; LEYTEM, A.B.; MAQUIRE, R.O. et al. Interaction of calcium and phytate in broiler diets: 1., effects on apparent prececal digestibility and retention of phosphorus. **Poultry Science**, v.87, p.449-458, 2008.



QUIRRENBACH, H.R.; KANUMFRE, F.; ROSSO, N.D. et al. Comportamento do ácido fítico na presença de Fe(II) e Fe(III). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, p.24-32, 2009.

RAGON, M.; AUMELAS, A.; CHEMARDIN, P. et al. Complete hydrolysis of *myo*-inositol hexakisphosphate by a novel phytase from *Debaryomyces castellii* CBS 2923. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.78, p.47-53, 2008.

RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W.L.; KORNEGAY, E.T. Phytases: occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. **Poultry and Avian Biology Reviews**, v.6, p.125-143, 1995.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2011. 252 p.

SANTOS, F.R.; HRUBY, M.; PIERSON, E.E.M. et al. Effect of phytase supplementation in diets on nutrient digestibility and performance in broiler chicks. **Journal of Applied Poultry Research**, v.17, p.191-201, 2008.

SCHÖNER, F. Effect of microbial phytase on Ca-availability in broilers. In: CONFERENCE ON POULTRY AND SWINE NUTRITION, 3., 1994, Halle. **Proceedings...** Halle: CPSN, 1994. p. 147-150.

SCHOULTEN, N.A., TEIXEIRA, A.S., BERTECHINI, A.G. et al. Efeito dos níveis de cálcio sobre a absorção de minerais em dietas iniciais para frangos de corte suplementadas com fitase. **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, p.1313-1321, 2002.

SELLE, P.H.; COWIESON, A.J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**, v. 124, p.126-141, 2009.

SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v.135, p.1-41, 2007.

SHIN, S.; HA, N.C.; OH, B.C. et al. Enzyme mechanism and catalytic property of β propeller phytase. **Structure**, v.9, p.851-858, 2001.

TAMIM, N.M.; ANGEL, R.; CHRISTMAN, M. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. **Poultry Science**, v.83, p.1358-1367, 2004.

VATS, P.; BANERJEE, U.C. Production studies and catalytic properties of phytases (*myo*-inositolhexakisphosphate phosphohydrolases): an overview. **Enzyme and Microbial Technology**, v.35, p.3-14, 2004.

YAN, F.; KERSEY, J.H.; FRITTS, C.A. et al. Effect of phytase supplementation on the calcium requirement of broiler chicks. **International Journal of Poultry Science**, v.5, p.112-120, 2006.



YU, B.; JAN, Y.C.; CHUNG, T.K. et al. Exogenous phytase activity in the gastrointestinal tract of broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v.117, p.295-303, 2004.