

UTILIZACIÓN DE FITASAS EN LA ALIMENTACIÓN DE NO RUMIANTES

AUTOR: Caballero Celan, Juan Martin.

FECHA: Junio 2018

INTRODUCCION

El uso de enzimas en la alimentación de no rumiantes ha crecido de forma importante, generalizándose su uso especialmente en las últimas dos décadas (Tiago Tedeschi dos Santos, 2016). Tienen como principal objetivo reducir el costo de la formulación. Además, factores tales como la mejora del desempeño de los animales, la eliminación de factores antinutricionales y la reducción de la excreción de residuos contaminantes han sido planteados como beneficios adicionales de esta tecnología. Su inclusión tiene como principal objetivo manipular las condiciones existentes en el tracto digestivo, mejorando el valor nutricional de los ingredientes (Meng *et al.*, 2005).

La fitasa es una enzima ampliamente utilizada en la alimentación de animales no rumiantes. Mejora el aprovechamiento del fósforo de los ingredientes de origen vegetal, por lo cual es posible reducir la cantidad de fósforo inorgánico de la dieta, y por la misma razón, reducir la excreción de fósforo a través de las heces. Su uso está bien establecido, siendo comercializada desde el año 1991. La generalización de su uso ha acompañado a los cambios en la disponibilidad y precios de las fuentes de fósforo (fosfato dicálcico) para la alimentación animal y a el aumento del costo de otras materias primas como el maíz y la harina de soja. La comercialización de las fitasas mueve más de 250 millones de dólares por año, con un crecimiento de 10 a 15% anual (Tiago Tedeschi dos Santos, 2016). Actualmente, su uso le ahorra a la industria global no rumiante cerca de \$3 billones por año en costos alimenticios (Revista AB vista, 2016)

Las fitasas están presentes de forma natural en numerosos cultivos de bacterias y hongos, así como en ciertos granos. A nivel comercial, existen diferentes con características particulares. A pesar de que actúan sobre el mismo sustrato (fitato o más específicamente, sobre el ácido fítico), estas características interfieren con la acción de la fitasa en el tracto intestinal, afectando la capacidad de rompimiento del ácido fítico y por consiguiente del desempeño posterior de los animales. Las fitasas hidrolizan únicamente los fitatos en solución, por lo que su actuación requiere humedad en el medio y condiciones determinadas de pH y temperatura, que son variables según el tipo de enzima (Wodzinsky y Ullah, 1990).

Objetivo: El objetivo de la presente revisión es describir los efectos de la enzima fitasa en la alimentación de animales no rumiantes, teniendo en cuenta las características del sustrato sobre el que actúa, el mecanismo de acción de esta enzima y los beneficios que se esperan por su inclusión dentro de la alimentación.

FÓSFORO

El fósforo (P) es un mineral esencial que juega un papel muy importante en el desarrollo y mantenimiento de las estructuras óseas. Es un componente del ATP y los ácidos nucleicos y forma parte de los fosfolípidos que integran y dan flexibilidad a las membranas celulares (Rebollar y Mateos, 1999).

El P contenido en las materias primas se encuentra en forma inorgánica, principalmente como ortofosfatos (PO_4^{3-}), o en forma orgánica en moléculas tales como ATP, ácidos nucleicos, fosfolípidos, fosfoproteínas y fosfoglicidos. La hidrólisis del P orgánico en el tracto gastrointestinal libera PO_4^{3-} , que es la única forma en que el animal puede absorber y utilizar el P (Rebollar y Mateos, 1999). En los ingredientes vegetales el P orgánico representa a la fracción mayoritaria, siendo el ácido fítico (AF) el fosfoglicido más abundante.

Debido al rápido crecimiento y desarrollo de su esqueleto, las aves y cerdos tienen una importante demanda de P. Una suplementación deficiente puede tener consecuencias severas, como reducción del rendimiento productivo, excesiva mortalidad y disminución en la calidad de la carcasa. En la práctica, las dietas de animales no rumiantes requieren de la suplementación de P para obtener una óptima tasa de crecimiento. Esto es de real importancia en las aves y cerdos debido a que sus dietas se componen principalmente de granos de cereales, los cuales contienen una gran proporción de P en forma de fitato y sus sales, generalmente como fitatos de calcio (Ca), potasio (K) y magnesio (Mg) (Ravindran *et al.*, 1995).

Desde el punto de vista práctico se admite que la disponibilidad del P inorgánico y del P orgánico no fítico es similar y cercana al 100% (rango 80-100%). Por el contrario, se considera que el P fítico no puede ser utilizado por los animales no rumiantes (aves y cerdos), asignándosele un valor de 0. Se asume que el contenido en P fítico de todas las materias primas de origen vegetal es de 70% del P total (Rebollar y Mateos, 1999). Debido a esto la biodisponibilidad es casi nula, ya que una pequeñísima cantidad de P ligado al AF llega a estar biológicamente disponible. Por lo tanto, para cubrir las necesidades de animales no rumiantes se hace imprescindible la suplementación con una fuente extra de P, principalmente en forma de fosfato bicálcico y monocálcico. Esto plantea dos problemas, incrementa los costos de producción y provoca un verdadero problema medio ambiental debido a la excesiva eliminación de P en las deyecciones (Rebollar y Mateos, 1999). Si bien Argentina todavía no posee una legislación precisa en relación con la contaminación con P por deyecciones, la legislación de algunos estados y países desarrollados tienden a penalizar este exceso. Son ejemplos las legislaciones del estado de Maryland, de los Países Bajos y otros países europeos (Rebollar y Mateos, 1999).

EL FITATO

Las sustancias sobre las que actúa la fitasa se denominan de tres formas diferentes en la literatura: Fitato, Fitina y AF. Fitato, es el término utilizado con más frecuencia y se refiere a la sal de AF. Fitina, se refiere específicamente al complejo de mioinositol hexafosfato de K con Mg y Ca que se produce en las plantas, mientras que el AF es el anillo libre mioinositolhexafosfato (Tiago Tedeschi dos Santos, 2016).

El AF se sintetiza a partir de mioinositol a través de una serie de pasos de fosforilación. Consiste en un anillo de inositol con seis enlaces éster de fosfato (IP6) (IUPAC-IUB, 1988). Esta molécula es la principal forma de almacenamiento de P en las semillas de plantas. Está escasamente disponible para los animales y puede reducir la digestibilidad de otros nutrientes y el rendimiento de los animales debido a su efecto antinutricional (Woyengo y Nyachoti, 2013).

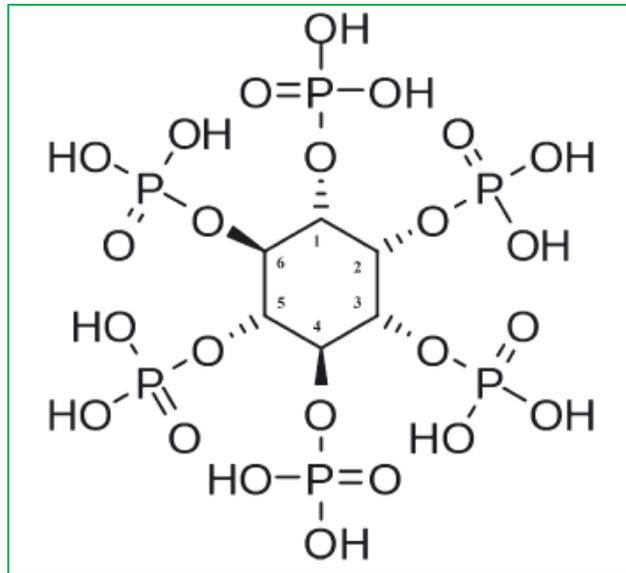


Figura 1. Estructura del Ácido Fítico (mioinositol 1, 2, 3, 4, 5,6 hexafosfato)

El AF tiene 12 sitios reactivos reemplazables, que llevan fuertes cargas negativas en el rango de pH del tracto digestivo de los animales. Es capaz de unir minerales di- y trivalentes y formar complejos muy estables, disminuyendo su disponibilidad, así como la disponibilidad de P para los animales (Dersjant-Li, 2014). Como el AF (y fitato) se disocia y es soluble a pH ácido (por ejemplo, estómago), la formación de minerales y complejos se produce principalmente en el pH del intestino delgado superior (Dersjant-Li, 2014).

Las dietas de los animales contienen grandes cantidades de Ca. El AF forma complejos principalmente con el Ca en el intestino delgado. En adición, el AF puede aumentar las pérdidas endógenas de minerales tales como Na en cerdos y aves de corral (Cowieson *et al.* 2004 y Woyengo *et al.*, 2009), proteínas y enzimas específicas, tales como la amilasa (Deshpande y Cheryan, 1984) y tripsina (Dersjant-Li, 2014). La deficiencia de Na puede tener un impacto en la actividad de Na-K-ATPasa en el tracto gastrointestinal (GI), que está involucrada en la absorción de nutrientes. Se ha informado que la ingestión de AF reduce la actividad de Na-K-ATPasa en el tracto GI en pollos de engorde (Liu *et al.*, 2008) y lechones (Woyengo *et al.*, 2010).

En concordancia con lo anterior, diversos trabajos muestran que la formación del fitato en el tracto intestinal aumenta la producción de bicarbonato de Na y su excreción en la luz del intestino (Cowieson *et al.*, 2004), interfiriendo con la absorción de los aminoácidos (AA) (Ravindran *et al.*, 2008).

Debido a esta acción antinutricional y a la variación en la cantidad de fitato de la dieta se puede observar que existe interferencia en el crecimiento de los animales, en la capacidad de respuesta del sistema inmune y en la capacidad de absorción de nutrientes. Newkirk y Classen (1998) observaron una mayor absorción de aminoácidos (AA) en pollos alimentados con dietas a base de maíz, soja y canola “sin fitina” en comparación con la dieta estándar con canola (con concentraciones normales de fitina). Linn *et al.* (2008), a su vez, no encontraron ninguna diferencia en el rendimiento del crecimiento de cerdos alimentados con maíz naturalmente bajos en fitina en comparación con los animales alimentados con maíz normal. Es importante destacar aquí que el nivel de fitina en el maíz es naturalmente bajo, mientras que el contenido de fitina de la dieta se relaciona más con el contenido de ésta en el salvado de trigo y en la harina de soja. Liu *et al.* (2008)

encontraron variaciones en los patrones de la respuesta inmune de pollos de engorde alimentados con dietas con baja y alta concentración de fitato con diferentes dosis de fitasa.

Una característica de los fitatos es formar quelatos los cuales se cristalizan a pH alcalino. Esta acción es muy importante para la eficiencia *in vivo* de las fitasas. En este sentido, una característica de las fitasas es que se activan a pH ácido (estómago), donde el AF es más soluble y puede ser hidrolizado. A partir de que el bolo alimenticio llega al intestino delgado, las secreciones pancreáticas incrementan el pH produciendo la formación de cristales y por más que la fitasa esté activa, el sustrato (fitato) ya no estará más disponible, lo que hace que la hidrólisis del fitato se produzca principalmente en el estómago (Selle, 2007) Se han descrito detalladamente algunas de las interacciones:

- Interacción con proteínas: Se produce fundamentalmente a pH inferiores al punto isoeléctrico de algunas proteínas con elevado contenido en AA básicos, como lisina, histidina y arginina. La interacción da lugar a empaquetamientos de proteína alrededor del fitato, que reducen su digestibilidad, además, es posible que el fitato pueda bloquear también una parte de la lisina sintética administrada en las dietas.
- Interacción con minerales: El Ca o el Zn, pueden formar interacciones de tipo ternario con la proteína en el intestino delgado. En este caso, las interacciones se pueden producir a pH más elevados, como los observados a lo largo de todo el intestino delgado.
- Incremento en la excreción de mucinas: se describe que el consumo de fitatos incrementa la expresión génica de los genes Muc1 y Muc2 en la mucosa del yeyuno y del colon del ratón. Se describen dos mecanismos, por su acción directa sobre la mucosa del tracto digestivo, o indirectamente por un incremento en la secreción de pepsina y ácido clorhídrico. Las mucinas contienen gran cantidad de proteína (343 g/kg) con un elevado contenido en treonina, prolina y serina.
- Inhibición de las secreciones de enzimas digestivas y la disminución de los nutrientes en la región pilórica-cecal del intestino. En efecto, la presencia de fitatos puede inhibir de forma importante enzimas como la α -amilasa, pepsina o tripsina. En este último caso, posiblemente al unirse con iones Ca. Asimismo, el AF también inhibe la conversión del tripsinógeno en tripsina, por un mecanismo similar de quelación del Ca.
- El fitato de Ca puede aumentar la formación de jabones metálicos en la luz intestinal, lo que resulta en reducción de la digestión de grasas saturadas.

CLASIFICACION DE LAS FITASAS

El primer y más estudiado grupo de fitasas es clasificado como histidin-ácido fosfatasa (HAPs); otras clases de fitasas son de tipo β -fitasas (fitasa alcalina), proteín-tirosin-fosfatasa, etc. Actualmente las fitasas de uso comercial pertenecen todas a las HAPs y son fosfatasa ácidas. La primera generación de enzimas comercializada fue una fitasa fúngica (*Aspergillus niger*) que se lanzó en 1991. En 1999, se descubrió que las fosfatasa ácidas de *E. coli* eran más efectivas que las fitasas fúngicas. Esto condujo al desarrollo de nuevas generaciones de enzimas bacterianas, que pueden ser superiores en varias formas a la primera generación de fitasas fúngicas como aditivos para alimentos. Se dividen en 3 y 6-fitasa, dependiendo de la ubicación del carbono donde comienza la hidrólisis del AF (posición 3 frente a 6). Algunos ejemplos disponibles que actualmente se comercializan se presentan en la tabla 1. Éstas difieren en el pH óptimo,

resistencia a las proteasas endógenas y afinidad al sustrato, que pueden ser los principales factores que influyen en su eficacia in vivo. Se ha observado que las fitasas bacterianas de nueva generación tienen una afinidad muy específica por IP6 e IP5 y poseen una mayor resistencia a la digestión proteolítica que las fúngicas, que puede en parte explicar su mayor eficacia informada en diversos estudios (Adeola y Cowieson, 2011).

Type [†]	Protein origin	Expression	pH optima	Temperature optima (°C)	Trade name
3	<i>A. niger</i> *	<i>A. niger</i>	2; 5–5.5	65	Natuphos®
3	<i>A. niger</i> *	<i>A. niger</i> , non-recombinant	6.0	–	Allzyme® SSF
3	<i>A. niger</i> *	<i>Trichoderma reesei</i>	2.5	–	Finase® P/L
6	<i>Escherichia coli</i> *	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (ATCC 5233)	4.5	55	Phyzyme® XP
6	<i>Escherichia coli</i> *	<i>Pichia pastoris</i>	4.5	–	Quantum®
6	<i>Escherichia coli</i>	<i>Trichoderma reesei</i>	–	–	Quantum Blue®
6	<i>Escherichia coli</i> *	<i>Pichia pastoris</i>	3.4, 5.0	58	OptiPhos®
6	<i>Peniophora lycii</i> *	<i>Aspergillus oryzae</i>	4–4.5	50–55	Ronozyme®
6	<i>Citrobacter braakii</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	–	–	Ronozyme Hiphos®
6	<i>Buttiauxella</i> spp.	<i>Trichoderma reesei</i>	3.5–4.5 [#]	60 [#]	Axtra® PHY

*Adapted from Lei *et al.*¹ with modifications;
[†]3- or 6-phytase; —, no information available;
[#]personal communication (C Evans).

Tabla 1. Algunos ejemplos actuales comercialmente disponibles, 3 y 6 fitasas y sus características. Dersjant-Li, 2014.

MECANISMO DE ACCION

Las fitasas (mioinositol hexafosfato fosfohidroxilasas) catalizan la eliminación gradual del fosfato del AF o su fitato de sal (Wyss *et al.*, 1999 y Yu *et al.*, 2012). La eliminación del grupo fosfato comienza con un AF totalmente fosforilado (IP6), seguido de penta- (IP5), tetra- (IP4), tri- (IP3), di y monoésteres de inositol, liberando de forma secuencial hasta 6 grupos ortofosfatos libres, plenamente disponibles para los no rumiantes (Irving, 1980; Gibson y Ullah, 1990). Se han mostrado que no solo el AF tiene efectos antinutricionales; los productos del rompimiento del fitato – IP5, IP4 e IP3 – pueden también tener estos efectos en el animal y que luego de la degradación del IP6, todavía existen concentraciones importantes de estos intermediarios. En una situación ideal, se obtendría una hidrólisis completa en mioinositol y fosfato, este último paso catalizado por la fosfatasa alcalina propia del intestino animal (más AA, minerales y otros nutrientes que están relacionados con el AF). Sin embargo, en la situación in vivo, la hidrólisis estará incompleta y por lo tanto normalmente da como resultado una mezcla de ésteres de inositol-fosfato (por ejemplo, IP5, IP4, IP3).

Según Igsaban (2000) las fitasas bacterianas tienen mayor estabilidad térmica (en particular fitasas de *Bacillus sp*) y una mayor resistencia a la acción proteolítica (en particular la fitasa de *E. coli*), en relación con las fitasas fúngicas. Esa mayor estabilidad a la acción proteolítica puede explicar los resultados encontrados por el Adeola *et al.* (2006) que observaron que las fitasas de *E. coli* aumentaron la cantidad de P disponible (es decir, pueden liberar mayores cantidades de P) con relación a las fúngicas basándose en la mineralización del tercer hueso metatarsiano de cerdos en crecimiento.

SITIOS DE ACCION

En cerdos, los datos de la literatura mostraron que sin suplementos de fitasa microbiana en la alimentación, la actividad principal se da en el colon. Con la suplementación de fitasa microbiana, el principal el sitio activo fue el estómago y la parte superior del intestino delgado. Un grupo investigó el sitio de la actividad de la fitasa en el tracto GI de cerdos jóvenes alimentados con una dieta que contenía fitasa de *A. niger* y descubrieron que era más alta en la digesta del estómago que la digesta del intestino delgado superior. En cerdos alimentados con dieta que contiene 1050 UF/kg, la actividad en la digesta fue de 579, 348 y 53 UF/kg de materia seca (MS) en el estómago, parte superior e inferior del intestino delgado, respectivamente. La actividad de fitasa en la digesta de cerdos alimentados con un alimento basal en la dieta fue de alrededor de 30 UF/ kg en el estómago y el intestino delgado. Estos datos sugieren que el estómago es el sitio de mayor actividad fitásica microbiana debido a un pH más favorable. Una conclusión similar fue hecha por Kemme *et al.* 1998, Lantsch *et al.* (1992) y Mroz *et al.* (1994) para quienes el estómago es el sitio de acción principal de la fitasa en cerdos. Jongbloed *et al.* (1992) no encontraron actividad exógena en la digesta ileal. Pagano *et al.* (2007) observaron que en lechones jóvenes que reciben un dieta complementada con fitasa de *E. coli*, las actividades más altas fueron en el estómago y el yeyuno superior, considerando que no se detectaron actividades en la digesta de la parte inferior del yeyuno o íleon. Los cerdos alimentados con alimentación suplementada con fitasa mostraron actividad dependiente de la dosis en la parte superior del tracto digestivo y una reducción en la concentración total de P y Ca en el colon. Sin embargo, la dieta basal no mostró actividad de fitasa en el estómago y el intestino delgado, pero con alta actividad y concentración de P soluble en el colon (figura 2). En las aves de corral, el sitio de actividad principal para la fitasa microbiana añadida es en el buche en la parte superior del tracto digestivo, que es similar a los cerdos. Esto coincide con Yi y Kornegay, 1996, quienes informaron que del 40-50% de la actividad fitásica de la dieta se observa en el estómago (y buche y proventrículo) y del 16-31% en el intestino delgado anterior.

La razón de establecer un óptimo de actividad en la parte ácida es que el fitato es más soluble y susceptible ante el ataque de la fitasa a bajos niveles de pH. Bedford (2004) obtuvo micro imágenes de diferentes secciones del tracto digestivo y demostró que, aproximadamente, 100 % del fitato soluble en dietas no suplementadas con fitasa reaparece en el yeyuno de manera íntegra. Lo anterior es importante porque cuando el alimento pasa del proventrículo hacia el intestino delgado el pH se incrementa, y la solubilidad del sustrato y su susceptibilidad ante el ataque de la fitasa se ven disminuidos (Zhang *et al.* 2000). De este modo, la estrategia de la fitasa para ser exitosa es que la hidrólisis debe estar concentrada en las partes altas del tracto digestivo, especialmente en el proventrículo, donde por los rangos de pH no solo se solubiliza el fitato, sino que se favorece el trabajo de la fitasa.

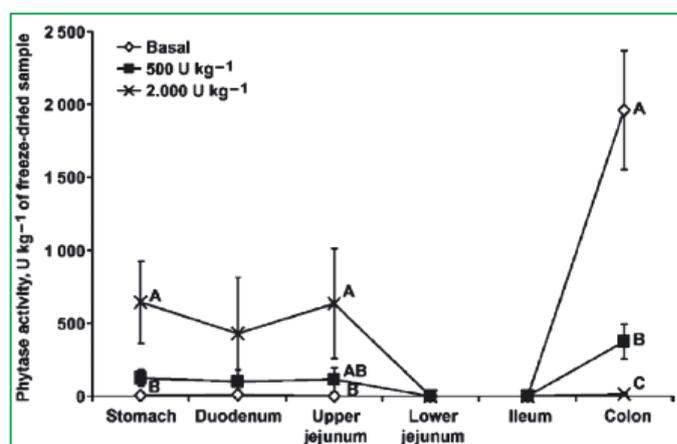


Figura 2. Actividad de fitasa de digesta de varios segmentos del intestino de cerdos alimentados con una dieta basal o dietas suplementadas con 500 y 2000 FTU de fitasa. A-C: para cada segmento, significa que no se comparte una letra común y difiere ($P < 0.05$). Gráfico adaptado de Pagano *et al.* 2007.

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ACTIVIDAD DE LAS FITASAS

Algunos de los factores más importantes en orden de importancia son:

- I. Procesado y granulación del alimento (tiempos, temperaturas y moliendas, etc) (Reddy y cols., 1982; Kasin y Edwards, 1998; Jongbloed y Kemme, 1990; Engelen y van der Poel, 1999).
- II. Presencia de Ca en la dieta
- III. Actividad fitásica intrínseca de las materias primas (Eeckhout y de Paepe, 1994; Viveros y cols., 2000)
- IV. Presencia de ácido orgánicos en la dieta (Kemme y cols., 1999)
- V. Germinación del grano
- VI. Proceso fisiológico digestivo del animal (Kemme y cols., 1997)
- VII. Solubilidad de los fitatos (Kemme, 1998)
- VIII. Tipo y sistema de alimentación (Larsen y cols., 1999; Carlson y Poulsen, 2003)

EFFECTOS EN LA ALIMENTACION DE NO RUMIANTES

Las fitasas permiten sustituir el uso de fuentes de fósforo inorgánico en la dieta. Recientes estudios han mostrado que al agregar la enzima fitasa a la dieta de las aves y cerdos se puede aumentar la cantidad de fósforo disponible al animal. Lo cual debe de permitir a los productores poder reducir de 0.1 a 0.12% la cantidad de fósforo inorgánico. En la práctica se ha visto que el uso de fitasa en dietas para aves puede disminuir el costo de la ración entre 0,5 y 5 dólares por tonelada. Sin embargo, la magnitud del ahorro depende del precio y disponibilidad de los ingredientes, así como del requerimiento de nutrientes definido en cada fórmula. (Acosta, 2006).

Además de la desfosforilación también se ve mejorada la digestión y absorción de minerales tales como Ca, Mg, Mn, Fe (Hierro), Zn, Cu (Cobre), Mn (Manganeso), Mo (Molibdeno) y Co (Cobalto), de proteínas, AA y/o energía, ya que las fitasas van a degradar los complejos fitatos-proteína-almidón de los vegetales. De todos ellos, quizás sea el Ca el de mayor relevancia, de manera que podríamos establecer una equivalencia de 0,7-1 gramos de Ca por cada 500 UF/kg (Radcliffe y cols., 1995). La mayor respuesta en la adicción de fitasas (mejor utilización del P) se obtiene cuando la relación Ca/P total es de 1-1,1:1 (Qian y cols., 1996). Por su parte, Hanni y cols., (2003) afirmaron que cuando el contenido en fitasas de la dieta es de 300 UF/kg de alimento, la relación Ca/P total no debería ser superior a 1,5:1, ya que de lo contrario se produciría un descenso en el consumo y en el crecimiento. En este caso la presencia de vitamina D3 va a ejercer una acción beneficiosa sobre la fitasa al aumentar la absorción del Ca (Lei y cols., 1994).

Sebastian *et al.* (1996) reportaron que pollitos alimentados con raciones de maíz-soja y 600 UF/kg, tuvieron desempeño semejante y mayor retención de P, Ca, Cu y Zn, con respecto a los pollitos que no recibieron la

enzima. En otro estudio, pero con lotes comerciales de ponedoras, Niekerk y Reuvekamp (1997), llegaron a la conclusión de que es posible utilizar fitasas en avicultura, con equivalencias de 1 g de P disponible por cada 500 UF, sin que haya diferencias en los resultados.

Las proteínas unidas a los fitatos son menos susceptibles de ser atacadas por las proteasas, que las proteínas libres, lo que provoca una reducción de la digestibilidad de las mismas. En el caso de la soja, el AF está unido a ciertas mananoproteínas y parece estar relacionado con la agregación de la aglutinina y α -conglucina. En líneas generales, el grado de unión entre las proteínas y el AF está relacionado con el tipo de proteína y, más concretamente, con su composición aminoacídica, en donde la presencia de lisina, favorece esta unión, como ocurre en el caso de la soja. En este sentido, el efecto de la fitasa microbiana, procedente del *Aspergillus niger*, es aumentar la digestibilidad total aparente de la proteína bruta en el tubo digestivo en un 2-3% (Mroz y cols., 1994). Namkung y Leeson (1999) demostraron un efecto positivo de aproximadamente 2% con la suplementación de fitasa (1200 UF/kg) en la digestibilidad de la proteína y de AA totales en pollos de engorde. Ravindran *et al.* (1995) observaron aumento en la digestibilidad ileal de la proteína bruta y de la energía de 2.4 y 3.9 %, respectivamente, en raciones de maíz y soja suplementadas con fitasas. Asimismo, esta fitasa, en una dieta alta en contenido de P, mejora la digestibilidad total aparente de la energía bruta entorno al 2% (Jongbloed y cols., 1996). Namkung y Leeson (1999) también cuantificaron el efecto de la fitasa en el contenido de energía metabolizable aparente (EMA) en una dieta típica de maíz y soja para pollos. Estos autores hallaron que la suplementación con 1200 UF aumentó el contenido en EMA de 2.836 Kcal/kg a 2.904 Kcal/kg en el grupo suplementado. En cerdos en crecimiento (> 20 kg), la fitasa microbiana aumenta significativamente la deposición de proteína diaria, la relación proteína retenida/proteína ingerida y la relación energía retenida/energía ingerida, así como la utilización de AA en dietas de maíz y soja (Biehl y Baker, 1996; Kemme y cols., 1999). Igualmente, la fitasa microbiana mejora la digestibilidad total aparente de la proteína en cerdas en gestación y lactación en un 2,3 y 1,9%, respectivamente (Grela y Krasucki, 1997).

SUPERDOSIS

Informes recientes han sugerido que los mecanismos adicionales pueden conducir a una mayor respuesta de crecimiento más allá de la liberación de P cuando se utilizan altas dosis de fitasa. Esto se ha denominado 'superdosing' (superdosificación). Según Bedford (Revista AB vista, 2016), superdosis es la cantidad de fitasa necesaria (más allá de dosis estándar) para prevenir la formación de IP3 e IP4 en el intestino del animal, normalmente de tres a cuatro veces la dosis estándar. La literatura sugiere que la sobredosis de fitasa tiene el potencial de tener un mayor efecto en el rendimiento de los cerdos, con menos evidencia de su efecto en el rendimiento del cerdo de finalización, y el efecto relativo de la sobredosis de fitasa parece ser mayor si los niveles de P, AA u otros nutrientes son marginales en la dieta. Algunos estudios, se resumen a continuación:

Cerdos en post- destete: Dos estudios (Zeng *et al.*, 2014), (Kies *et al.*, 2006) que alimentaron con concentraciones de fitasa tan altas como 20000 UF/kg dieron como resultado una mayor tasa de crecimiento y una mejor eficiencia alimenticia (CA) que las del tratamiento de control positivo (Tabla 2).

UF/kg	Kies et al.		Zeng et al.	
	GMP (%)	AC (%)	GMP (%)	AC (%)
0	79	94	85	95
100	83	96	ND	ND
250	93	97	ND	ND
500	98	98	99	98
750	100	98	ND	ND
1000	ND	ND	100	101
1500	107	99	ND	ND
15000	110	103	ND	ND
20000	ND	ND	109	104

Tabla 2. Impacto de la actividad de fitasa (UF/kg) sobre GMP y CA de cerdos post-destete como porcentajes de actividad en controles positivos. Adaptado de Kies *et al.* y Zeng *et al.* (CVB, 2000). GMP= ganancia media de peso; AC= conversión alimenticia.

Cerdos de acabado: Un estudio que alimentó hasta 2500 UF/kg de una fitasa comercial no afectó la energía, la proteína cruda ni la digestibilidad de la MS (Holloway *et al.*, 2015). En otro estudio se alimentó hasta 2000 UF/ kg de la misma fitasa comercial, y se observó mejoras lineales en la ganancia diaria promedio y la CA (Wilcock *et al.*, 2014). Sin embargo, un estudio que evaluó otra fuente de fitasa observó una mejora en la CA solo hasta 500 UF/kg (Flohr *et al.*, 2014).

El efecto relativo de la sobredosis de fitasa será mayor si las concentraciones de P, AA y otros nutrientes digestibles son marginales en la dieta. El efecto también dependerá de la concentración de fitasa que ya está en la dieta. Cabe resaltar que la mayoría de los estudios de superdosificación han sido realizados o patrocinados por los fabricantes de fitasa. El mecanismo de sobredosis de fitasa sigue siendo desconocido, pero es más probable que sea una combinación de los siguientes:

- ✓ Liberando una mayor cantidad de P.
- ✓ Mejorando la utilización de energía, AA y minerales traza: Hay alguna evidencia (Johnston *et al.*, 2000) de que la sobredosificación podría aumentar utilización de energía y AA y digestibilidad de minerales. Estos efectos probablemente sean el resultado de cambios en la digestibilidad de treonina, cisteína, glicina, serina, prolina, Ca, Na, Zn y Fe.
- ✓ Restableciendo la relación digestible de Ca: P. Se sugiere que P y Ca no son necesariamente liberados por la fitasa en una relación 1: 1 (Adeola *et al.*, 2011). Por lo tanto, esto podría explicar las respuestas a altas concentraciones de fitasa, porque P continuaría siendo liberado, mientras que Ca alcanzaría la liberación máxima.
- ✓ Interacción entre fitasa y liberación de P: Existe evidencia de que 1500 g de Zn (Augspurger *et al.*, 2004) o 2000 g de ácido cítrico en alimento completo (Brenes *et al.*, 2003) reducen la eficiencia de liberación de P de la fitasa en cerdos jóvenes o pollos. Por lo tanto, la sobredosis puede restaurar la liberación de P disponible después de la inactivación de la enzima cuando la eficacia de la liberación se ha visto comprometida.

CONCLUSIONES

- Diversos estudios sugieren que el estómago es el sitio de mayor actividad fitásica microbiana en cerdos, debido a un pH más favorable. En las aves, el sitio de mayor actividad es el buche y proventrículo.
- La estrategia de la fitasa para ser exitosa es que la hidrólisis debe estar concentrada en las partes altas del tracto digestivo, especialmente en el proventrículo y estómago en aves y cerdos respectivamente, donde por los rangos de pH no solo se solubiliza el fitato, sino que se favorece el trabajo de la misma.
- La razón de establecer un óptimo de actividad en la parte ácida es que el fitato es más soluble y susceptible ante el ataque de la fitasa a bajos niveles de pH.
- Las fitasas permiten sustituir el uso de fuentes de fósforo inorgánico en la dieta. Estudios han mostrado que al agregar la enzima fitasa a la dieta de las aves y cerdos se puede aumentar la cantidad de fósforo disponible al animal. Lo cual debe de permitir a los productores poder reducir de 0.1 a 0.12% la cantidad de fósforo inorgánico.
- La magnitud del ahorro en cuanto al uso de fitasas comerciales depende del precio y disponibilidad de los ingredientes (fuentes de sales de fosfato vs fitasas), así como del requerimiento de nutrientes definido en cada fórmula.
- Además de la desfosforilación también se ve mejorada la digestión y absorción de minerales tales como Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, Mo y Co, de proteínas, AA y/o energía, ya que las fitasas van a degradar los complejos fitatos-proteína-almidón de los vegetales. Quizás sea el Ca el de mayor relevancia, debido a que se sabe que niveles altos de Ca en dietas de pollos y cerdos pueden interferir con el correcto funcionamiento de las fitasas y con la disponibilidad de P.
- La fitasa microbiana aumenta significativamente la deposición de proteína diaria, la relación proteína retenida/proteína ingerida y la relación energía retenida/energía ingerida,
- El efecto relativo de la sobredosis de fitasa será mayor si las concentraciones de P, AA y otros nutrientes digestibles son marginales en la dieta.

El uso de fitasas en la dieta no sólo es una fuerte tendencia sino una realidad en animales no rumiantes a nivel mundial, ofreciendo beneficios económicos (reducción de costos), medio ambiental (reducción de la excreción de nutrientes) y otros tales como modulación de bacterias, efectos antinutricionales, etc. Eso no significa, sin embargo, que está del todo claro en la nutrición de cerdos y aves, ya que la diferencia en la actividad entre las enzimas de diferentes orígenes, e incluso la diferencia entre los productos del mismo origen, la producción de granos con gran variabilidad y los productos de origen vegetal con menor contenido de fitato están permitiendo el desarrollo de nuevas fitasas y que esta actividad seguirá evolucionando en los próximos años. Hay que tener en cuenta que las fitasas tienen características diferentes y encontrar un producto que tenga mayor estabilidad del pH, resistencia al proceso de producción de alimentos, resistencia a la estabilidad proteolítica en el tracto digestivo de los animales y el mejor costo beneficio, entonces ésta sería la "fitasa ideal", por lo tanto, es importante tratar de definir el mejor producto para la realidad de la empresa en la que se usará, obteniendo así la mayor parte de esta tecnología, expresada de un modo práctico en el rendimiento de la mayoría de los animales con menor costo de producción y una mayor rentabilidad del negocio.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

1. Acosta, A. y Cárdenas, M. Enzimas en la alimentación de las aves. *Fitasas Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, vol. 40, núm. 4, 2006, pp. 377-387 Instituto de Ciencia Animal La Habana, Cuba 2006. Disponible en: Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193017672001> .Consultado: 4/05/2018.
2. Adeola O. and Cowieson AJ, Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. *J AnimSci* 89:3189–3218 (2011).
3. Gonçalves AD, Dritz SS, Tokach D, *et al.* Fact sheets – comparing phytase sources for pigs and effects of superdosing phytase on growth performance of nursery and finishing pigs. *J Swine Health Prod.* 2016; 24(2):97–101.
4. Holloway CL, Boyd RD, Patience JF. Improving nutrient utilization through the use of superdosing of phytase in growing pig diets [abstract]. *J Anim Sci.* 2015; 93:56.
5. Jongbloed AW, Mroz Z and Kemme PA, The effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diets for pigs on concentration and apparent digestibility of dry matter, total phosphorus, and phytic acid in different sections of the alimentary tract. *J AnimSci* 70:1159–1168 (1992).
6. Kies AK, Kemme PA, Šebek LBJ, Van Diepen JTft, Jongbloed AW. Effect of graded doses and a high dose of microbial phytase on the digestibility of various minerals in weaner pigs. *J Anim Sci.* 2006; 84:1169–1175.
7. Namkung, H. & Leeson, S. 1999. Effect of phytase enzyme on dietary Nitrogen-Corrected Apparent Metabolizable energy and the ileal Digestibility of nitrogen and acids in broiler chicks. *Poult Sci.* 78: 1317.
8. Nelson, T.S. (1967) *Poultry Sci.* 46: 862-871.
9. Quiles A., 2011. Departamento de Producción Animal. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo. 30071-Murcia. . Disponible en: <http://www.ciap.org.ar/ciap/Sitio/Archivos/Papel%20de%20las%20fitasas%20en%20la%20alimentacion%20porcina.pdf> Consultado: 17/10/2017.
10. Ravindran V, Cowieson AJ and Selle PH, Influence of dietary electrolyte balance and microbial phytase on growth performance, nutrient utilization, and excreta quality of broiler chickens. *Poult Sci* 87:677–688 (2008).
11. Ravindran, V., Bryden, W.L., y Kornegay, E.T. (1995) *Poultry Av. Biol. Rev.* 6: 125-143.
12. Ravindran, V., Korneagy, E.T., Potter, L.M., Ogunabameru, O.B., Welton, M.K., Wilson, J.H. & Patchanacorn, M.1995. An evaluation of various response criteria in assessing biological availability of phosphorus for broilers. *Poult Sci.* 74: 1820.
13. Rebollar P.G. y Mateos G.G. (1999). El fósforo en nutrición animal. Necesidades, valoración de materias primas y mejora en la disponibilidad. Madrid. Disponible en: http://portal.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/F%C3%B3sforo_en_Alimentaci%C3%B3n_Animal.pdf Consultado: 17/12/2017.

14. Revista AB vista (2016). Disponible en:
<https://es.abvista.com/ABVista/media/WebsiteResources/PDFs/Whitepaper-Understanding-the-value-chain-of-phytate-destruction-ES.pdf> Consultado: 12/03/2018.
15. Tedeschi dos Santos, T. Los Porcicultores y su Entorno 109, BM Editores. AB Vista Feed Ingredients, 2016. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_porcina/00-produccion_porcina_general/256-Fitasa.pdf Consultado: 05/06/2018.
16. Woyengo TA and Nyachoti CM, Review: Anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry: current knowledge and directions for future research. *Can J Anim Sci* 93:9–21(2013).
17. Woyengo TA, Cowieson AJ, Adeola O and Nyachoti CM, Ileal digestibility and endogenous flow of minerals and amino acids: responses to dietary phytic acid in piglets. *Br J Nutr* 102:428–433 (2009).
18. Yueming Dersjant-Li, Danisco Animal Nutrition, DuPont Industrial Biosciences, PO Box 777, Marlborough SN8 1XN, UK. (2014)
19. Zhang, Z.B., Kornegay, E.T., Radcliffe, J.S., Henbow, D.M., Viet, H.P. & Larsen, C.T. 2000. Comparison of genetically engineered microbial and plant phytase for young broilers. *Poult Sci.* 78:709.