

# Disponibilidad del fósforo de la pasta de soya y sorgo-gluten de maíz, adicionadas con fitasa en pollos de engorda en iniciación

## Phosphorus availability in soybean meal and sorghum-corn gluten meal, supplemented with phytase for starter broilers

Manuel Cuca García<sup>a</sup>, Guadalupe R. De la Rosa Carrillo<sup>b</sup>, Arturo Pró Martínez<sup>a</sup>,  
Jorge Baeza López<sup>b</sup>

### RESUMEN

Se realizaron dos experimentos para evaluar la adición de fitasa a dietas pasta de soya y sorgo + gluten de maíz, para pollos de engorda de 1 a 21 días de edad. Los niveles de fósforo disponible del primer experimento fueron 0.12, 0.25, 0.35 y 0.45 % con y sin la adición de fitasa (600 FTU unidades de fitasa por kg). En el segundo se evaluaron dos niveles de fósforo disponible 0.08 y 0.39 % y dos niveles de fitasa 0 y 600 FTU/kg de dieta. Los resultados del primer experimento indicaron para ganancia de peso, mayor respuesta ( $P < 0.05$ ) con 0.12 % de fósforo disponible más fitasa (131 vs 285 g). El consumo de alimento fue menor en las aves que consumieron dietas con concentraciones menores de fósforo disponible (0.12 %). También las cenizas aumentaron al adicionar fitasa. La mortalidad más alta (56.8 %) se presentó con 0.12 % de fósforo disponible, disminuyendo a 7.15 % con la adición de fitasa. En el segundo experimento, en ganancia de peso y consumo de alimento la respuesta a fitasa sólo se observó con el nivel bajo de fósforo disponible (137 vs 240 g) y (240 vs 420 g) respectivamente. La mortalidad disminuyó con ambos niveles de fósforo con fitasa. El fósforo excretado se incrementó en los niveles altos de fósforo con y sin fitasa. Se puede concluir que la ganancia de peso es mayor con la adición de fitasa en los niveles bajos de fósforo disponible.

**PALABRAS CLAVE:** Disponibilidad, Fósforo fítico, Pasta de soya, Gluten de maíz.

### ABSTRACT

Two experiments were conducted to evaluate phytase addition to sorghum grain-soybean meal-corn gluten diets for broilers of 1 to 21 d of age. In experiment 1 the available phosphorus (AvP) levels of 0.12, 0.25, 0.35 and 0.45 %, with and without phytase (600 FTU / kg) were used. There was higher weight gain ( $P < 0.05$ ) with 0.12 % AvP plus phytase (131 vs 285 g). Feed intake was reduced as dietary AvP was reduced to less of 0.12 %. Ash increased with phytase addition. The highest mortality (56.8 %) was observed with 0.12 % AvP and reduced (to 7.15 %) with phytase supplementation. In experiment 2, two AvP levels (0.08 and 0.39 %) and two levels of phytase (0 and 600 FTU per kg of feed) were evaluated. There was an improvement of weight gain and feed intake only at the low level of available phosphorus (137 vs 240 g) and (240 vs 420 g) respectively. Mortality was reduced with both levels of phytase. Excreted phosphorus levels was higher with highest levels of phosphorus, with or without phytase. It was concluded, that weight gain is higher with phytase supplementation in low-phosphorus diets.

**KEY WORDS:** Availability, Phytic acid, Soybean meal, Corn gluten meal.

### INTRODUCCIÓN

En México, el sorgo y la pasta de soya son los ingredientes que más se utilizan en dietas para

### INTRODUCTION

In Mexico, sorghum and soybean meal are the most common ingredients used in broiler diets;

Recibido el 10 de marzo de 2003 y aceptado para su publicación el 23 de abril de 2003.

<sup>a</sup> Programa de Ganadería, IREGEP, Colegio de Postgraduados. Km 36.5 Carretera México- Texcoco. 56230. Montecillo, Texcoco, Estado de México. Tel. (595) 20200 Fax: (595) 20279. jmcuca@colpos.colpos.mx. Correspondencia y solicitud de separatas al primer autor.

<sup>b</sup> Departamento de Zootecnia, UACH.

pollos de engorda; ambos aportan fósforo (P), pero entre 60 y 70 % del total de éste se encuentra como ácido fítico, compuesto que no se hidroliza por las enzimas endógenas de animales no rumiantes. Nelson *et al.*<sup>(1)</sup> señalan que sólo entre 30 y 40 % del fósforo fítico es disponible, por consiguiente, es necesario que las dietas de las aves sean complementadas con fuentes de fósforo inorgánico, para satisfacer las necesidades de este elemento, lo cual aumenta el costo de las dietas, la excreción de P y por lo tanto, se contamina el ambiente. Una opción para mejorar la disponibilidad del fósforo fítico es el empleo de fitasa microbiana, cuyo potencial para mejorar la disponibilidad del fósforo fítico se conoce desde hace tiempo<sup>(2)</sup>. Nelson *et al.*<sup>(3)</sup> trataron a la pasta de soya con un extracto crudo de fitasa producido por *Aspergillus ficuum* antes de mezclar la dieta, e informaron que la fitasa hidroliza el fósforo fítico de la pasta de soya.

La incorporación de la fitasa como suplemento en la dieta animal, tiene importancia desde dos puntos de vista: la cantidad de fósforo inorgánico requerido disminuye, y el nivel de fósforo en las excretas se reduce<sup>(4)</sup>. En la literatura se informa que la adición de fitasa a dietas bajas en fósforo mejora la disponibilidad del fósforo fítico de la pasta de soya y esto se traduce en un mejor crecimiento y mineralización de los huesos de los pollos de engorda<sup>(5)</sup>.

El presente estudio tuvo como objetivo estudiar el efecto de la adición de la enzima fitasa (Natuphos®), para mejorar la disponibilidad del fósforo fítico en dietas semipurificadas con base en pasta de soya, y en dietas sorgo-gluten de maíz, en el comportamiento productivo y utilización del fósforo en pollos de engorda en iniciación (0 a 3 semanas).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron pollos Arbor Acres de un día de edad, sin sexar, los que se alojaron en criadoras eléctricas en batería controladas por termostato. Los pollos se pesaron al inicio de los experimentos, y posteriormente cada semana hasta el día 21 de edad. El consumo de alimento se midió

both provide phosphorus, but between 60 and 70 % is found as phytates, which is not hydrolyzed by the endogenous enzymes of non-ruminant animals. Nelson *et al.*<sup>(1)</sup> point out that only 30 to 40 % of phytate phosphorus is available, therefore it should be necessary to supplement birds' diets with inorganic phosphorus (P) to satisfy minimum requirement, which increases costs, P excretion and environmental pollution. Another option for increasing phytate phosphorus availability is to use microbial phytase, which has a well-known capacity to increase its availability<sup>(2)</sup>. Nelson *et al.*<sup>(3)</sup> added a crude phytase extract produced by *Aspergillus ficuum* to soybean meal before it was incorporated into the diet and reported that phytase hydrolyzed phytate phosphorus in soybean meal.

The addition of phytase in animal diets has importance from two points of view: the amount of inorganic phosphorus is reduced, and phosphorus level in broiler excreta is reduced, too<sup>(4)</sup>. It has been reported that phytase addition to low-phosphorus diets, improves the availability of phytic phosphorus in soybean meal and this means better growth and bone mineralization in broiler chickens<sup>(5)</sup>.

The objective of this study was to investigate the effect of phytase (Natuphos®) on phytate phosphorus availability of diets based on soybean meal and on sorghum – corn gluten meal, and their effect on growth performance and phosphorus utilization in starter broilers (0 to 3 weeks).

## MATERIALS AND METHODS

Unsexed one-day-old Arbor Acres chickens were placed in electric brooder batteries, controlled by thermostat. They were weighed at the beginning of the experiment and weekly until they became three weeks old. Feed intake was measured weekly, and feed conversion was estimated each week and at the end of the experiment. Water and feed were offered *ad libitum*.

In Exp 1, soybean meal was used as the only protein source with four levels of available phosphorus (avP), 0.12 (provided by soybean meal), 0.25, 0.35 and 0.45 % and two phytase levels, 0

semanalmente, la conversión alimenticia se calculó cada semana y al final del experimento; agua y alimento se ofrecieron *ad libitum*.

En el Exp 1 se usó pasta de soya como única fuente de proteína y cuatro niveles de fósforo disponible (Pd) 0.12, (aportado por la pasta de soya) 0.25, 0.35 y 0.45 %; y dos niveles de fitasa, 0 y 600 FTU (unidades de fitasa por kg), en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 4 x 2. Cada tratamiento se suministró a tres repeticiones de 10 pollos cada una.

La dieta basal utilizada (Cuadro 1), se formuló con 22.5 % de proteína cruda y 3193 kcal/kg<sup>-1</sup> de energía metabolizable, y de acuerdo con el tratamiento, se varió la adición de carbonato de calcio, ortofosfato de calcio, fitasa y arena, para obtener el nivel deseado de Pd y FTU de fitasa. A los pollos se les proporcionó en el agua de bebida, y durante los primeros tres días, enrofloxacin (Baytril®); en el séptimo día se vacunaron contra gumboro, en el agua de bebida; y contra Newcastle, vía ocular.

Las variables de respuesta fueron: ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, y mortalidad. Al final del experimento se tomó la tibia izquierda de dos pollos, por repetición de cada tratamiento, para determinar el contenido de cenizas, el cual se obtuvo según la técnica de la AOAC<sup>(6)</sup> y fue el resultado de la relación entre peso de las cenizas y el peso del hueso libre de grasa. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza utilizando un modelo lineal y pruebas de comparación múltiple de medias mediante el método Tukey ( $P=0.05$ ); se empleó el paquete estadístico SAS<sup>(7)</sup>.

En el Exp 2 se evaluaron dos niveles de Pd, 0.08 % (aporte sólo de ingredientes vegetales) y 0.39 %<sup>(8)</sup>, y dos niveles de fitasa, 0 y 600 FTU, en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 2. Cada tratamiento se suministró a tres repeticiones de 10 pollos cada una.

Se formuló una dieta basal (Cuadro 1) con 22.0 % de proteína cruda y 3,250 kcal/kg<sup>-1</sup> de energía

and 600 PTU (phytase units per kg), in a totally randomized design with a factorial arrangement 4 x 2. Each treatment was given to three replications of 10 chicks each.

The basal diet used (Table 1) contained 22.5 % crude protein and 3,193 kcal kg<sup>-1</sup> metabolizable energy, and according with the treatment, calcium carbonate, dicalcium phosphate, phytase and sand were added in order to obtain the desired avP and PTU levels. Enrofloxacin (Baytril®) was offered on the first 3 d in the drinking water. The birds were vaccinated against Newcastle intraocularly and gumboro on d 7 in drinking water.

Response variables were: weight gain, feed intake, feed conversion, mortality and ashes of the tibia from 21 d old chickens. At the end of the experiment, the left tibia of two chickens of each replicate was taken to determine ash contents through the AOAC technique<sup>(6)</sup>, which was the result of subtracting the ash weight from the fat free bone weight. Data was tested through linear variance analysis and means compared by Tukey's test ( $P=0.05$ ), using the statistic SAS package<sup>(7)</sup>.

In Exp 2, two available phosphorus (avP) levels were evaluated, 0.08 % (provided by plant ingredients) and 0.39 %<sup>(8)</sup>, and two phytase levels, 0 and 600 PTU, in a totally randomized design with a factorial arrangement 2 x 2 was employed. Each treatment was given to three replicates of 10 chickens each.

The basal diet (Table 1) contained 22.0 % crude protein and 3,250 kcal kg<sup>-1</sup> metabolizable energy, and according with treatment, the inclusion of calcium carbonate, dicalcium phosphate and phytase were changed in order to obtain the desired avP and PTU levels. Chickens were vaccinated against Newcastle disease and chicken smallpox on d 7.

Response variables were: weight gain, feed intake, feed conversion, mortality rate and levels of phosphorus in faeces. When chickens were 20 and 21 d old, faeces were collected, to assess the effect of phytase on phosphorus excretion in all treatments. In order to do this, data on feed intake and faeces

metabolizable, y de acuerdo con el tratamiento, se varió la inclusión de carbonato de calcio, ortofosfato de calcio y fitasa, para obtener el nivel deseado de Pd y FTU. Los pollos se vacunaron contra Newcastle, y viruela aviar a los 7 días.

Las variables de respuesta evaluadas fueron ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, mortalidad y cantidad de fósforo en excretas.

A los 20 y 21 días de edad de los pollos, se hizo la recolección de las excretas, para observar el efecto de la fitasa en la excreción de fósforo en todos los tratamientos evaluados; para esto se registró el consumo de alimento y cantidad de excretas para su posterior análisis de fósforo. Una vez colectadas, se secaron en la estufa a una temperatura de 56 °C; después se colocaron en una mufla por un período de 3 h a una temperatura de 550 °C para obtener cenizas, las cuales fueron solubilizadas con HCl al 50 % y agua desionizada. Después de la solubilización, las cenizas, se filtraron en papel Whatman y el contenido se aforó a 50 ml; de este filtrado se hicieron diluciones hasta llegar a 1:5,000; de esta dilución se tomó 1 ml y se le adicionó 1 ml de ácido molibdicó, 1 ml de solución de Elón y 7 ml de agua desionizada, para llegar a una dilución de 1:50,000 para su lectura en un espectrofotómetro de luz (AOAC)<sup>(6)</sup>.

Para calcular el porcentaje de fósforo excretado (Pex):

$$Pex = \frac{\% \text{ de Pt en el alimento} \times \text{consumo de alimento}}{\% \text{ de Pt en excretas} \times \text{total de excretas}} \times 100$$

Donde: Pt = fósforo total.

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza utilizando el mismo modelo del Exp 1. Los datos de las variables expresadas en porcentaje se transformaron a la función arcoseno antes del análisis. La comparación de medias se hizo con la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ); se utilizó el procedimiento "Anova" de SAS<sup>(7)</sup>.

were collected for a later phosphorus content analysis. Collected faeces were dried at 56 °C in an oven, and afterwards placed for 3 h at 550 °C

Cuadro 1. Dietas basales utilizadas en los experimentos (%)

Table 1. Basal diets used in both experiments (%)

	Exp 1	Exp 2
Components:		
Sorghum	0	68.31
Soybean meal	48.30	0
Starch	41.30	0
Corn gluten	0	26.45
Vegetable oil	6.00	1.00
DL-methionine	0.20	0
L-lysine-HCl	0	0.75
L-threonine	0	0.08
L-tryptophane	0	0.09
Salt	0.30	0.30
Vitamin mix*	0.20	0.20
Mineral mix**	0.10	0.10
Calcium carbonate	2.30	2.72
Dicalcium phosphate	0	0
Phytase***	0	0
Sand	1.30	0
	100	100
Estimated analysis:		
EM, kcal/kg <sup>-1</sup>	3193	3262
PC, %	22.5	22.0
Lysine, %	1.30	1.15
Methionine, %	0.57	0
Methionine + Cysteine, %	0.90	1.01
Threonine, %	0.88	0.80
Tryptophane, %	0.23	0.23
Available phosphorus, %	0.12	0.08
Calcium, %	1.0	1.0
PTU, Phytase	0	0

\* Per kilogram of mix: A (4,800 IUM); cholecalciferol, (1,000 IUM); E (12,000 IU); K (30.8 g); thiamin (0.9 g); riboflavin (3 g); pyridoxine (1.4 g); B<sub>12</sub> (8 mg); niacin (18 g); pantothenic acid (5 g); biotin (50 mg); folic acid (0.6 g); antioxidants (10 g).

\*\* Per kilogram of mix: Fe (110 g), Zn (50 g), Mn (110 g), Cu (2 g), I (0.3 g), Se (0.1 g), Co (0.2 g).

\*\*\* 600 PTU (phytase activity units) correspond to 0.012 % of the ration.

## RESULTADOS

### *Experimento 1*

Los resultados de ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y cenizas en tibia, se muestran en el Cuadro 2. Para todas las variables se presentó un efecto significativo ( $P < 0.01$ ) para la interacción fitasa x fósforo disponible. Para ganancia de peso, los niveles de fósforo disponible de 0.25, 0.35 y 0.45 % sin la adición, dieron resultados similares que con la suplementación de fitasa, y sólo hubo diferencia ( $P < 0.05$ ) entre el nivel de fósforo de 0.25 sin fitasa y los niveles de 0.35 más fitasa y 0.45 % con y sin fitasa.

El mayor consumo de alimento se observó en las aves que recibieron 0.45 % de fósforo disponible con la adición de fitasa, aún cuando no hubo diferencia ( $P > 0.05$ ) con 0.45 sin fitasa y 0.35 adicionado con fitasa (Cuadro 2). Los consumos más bajos corresponden a las aves que consumieron las dietas con las concentraciones menores de fósforo (0.12 %). Para la conversión alimenticia, la adición de fitasa sólo fue diferente ( $P < 0.05$ ) con el mismo nivel de Pd (0.12 %) sin adición de fitasa. La adición de fitasa a niveles mayores de fósforo mejoró la conversión alimenticia sólo hasta el nivel de 0.25 % Pd, después de este nivel no se observó mejoría. Cuando se incrementó el fósforo disponible de 0.12 a 0.45 %, la conversión alimenticia fue diferente ( $P < 0.05$ ) entre el nivel de 0.12 % con y sin fitasa y el resto de los tratamientos.

En las aves de los tratamientos sin adición de fitasa se incrementaron las cenizas a medida que aumentó el nivel de fósforo disponible en la dieta ( $P < 0.05$ ). Al adicionar fitasa también existen diferencias entre los niveles de Pd hasta el nivel de 0.35, que es similar a 0.45. Así mismo, 0.35 Pd sin fitasa no produjo diferencias ( $P > 0.05$ ) con respecto a 0.25 Pd + 600 FTU, y el nivel de 0.45 sin fitasa es similar a 0.35 con fitasa, lo que evidencia el efecto de la adición de la enzima y el ahorro de fósforo inorgánico. El porcentaje de cenizas con los niveles de 0.12 Pd, 0.12 Pd + 600 FTU y 0.25 Pd sin fitasa son diferentes ( $P < 0.05$ ) entre ellos y con los otros niveles de fósforo.

in a muffle oven to obtain ashes, which in turn were made soluble with HCl 50 % and deionized water. After becoming soluble, ashes were filtered through a Whatman paper filter and its contents diluted to 50 ml. This filtrate was then diluted to 1:5,000, of this dilution was used 1 ml was, to which 1 ml of molybdic acid, 1 ml of Elon's solution and 7 ml of deionized water were added, so as to obtain a 1:50,000 dilution for reading in a light spectrophotometer (AOAC)<sup>(6)</sup>.

Excreted P (exP) percentage was estimated using the following formula:

$$\text{ExP} = \frac{\% \text{ P in feed} \times \text{feed intake}}{\% \text{ P in faeces} \times \text{total faeces}} \times 100$$

where P= total phosphorus.

The data were analyzed, using the same model as in Exp 1. Data expressed as percentages were transformed into an arcsine function previous to being analyzed. Means were compared through Tukey's test ( $P < 0.05$ ), and the SAS Anova procedure was used<sup>(7)</sup>.

## RESULTS

### *Experiment 1*

Results for weight gain, feed intake, feed conversion and ash contents in the tibia are shown in Table 2. In all these variables, the phytase x available phosphorus interaction showed significant differences ( $P < 0.01$ ). For weight gain, 0.25, 0.35 and 0.45 % available phosphorus levels without phytase showed results similar to those with phytase and the only significant differences ( $P < 0.05$ ) were observed between 0.25 % without phytase and 0.35 with phytase and 0.45 % with and without phytase.

The highest feed intake was observed in the 0.45 % AvP plus phytase group, although no significant differences could be observed ( $P < 0.05$ ) with the 0.45 % AvP without phytase and 0.35 % AvP with phytase (Table 2). The lowest feed intake was observed at the lower AvP levels (0.12 %). For

La mortalidad fue diferente ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos con 0.12 de Pd sin y con fitasa (56.8 vs 7.1 %), y con los demás tratamientos que no presentaron mortalidad.

Cuadro 2. Ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y cenizas en tibias de pollos a 21 días de edad (Exp 1)

Table 2. Weight gain, feed intake, feed conversion and ash content in tibial bones in 21 days old chickens (Exp 1)

Available phosphorus (%)	Phytase (FTU/kg)		Mean
	0	600	
Weight gain (g)			
0.12	131 <sup>d</sup>	285 <sup>c</sup>	208
0.25	446 <sup>b</sup>	516 <sup>ab</sup>	481
0.35	518 <sup>ab</sup>	539 <sup>a</sup>	528
0.45	585 <sup>a</sup>	569 <sup>a</sup>	577
Mean	420	477	
SEM= 18.8			
Feed intake (g)			
0.12	386 <sup>e</sup>	529 <sup>d</sup>	458
0.25	705 <sup>c</sup>	761 <sup>c</sup>	733
0.35	840 <sup>b</sup>	866 <sup>ab</sup>	853
0.45	891 <sup>ab</sup>	906 <sup>a</sup>	899
Mean	706	766	
SEM= 10.5			
Feed conversion			
0.12	2.74 <sup>a</sup>	1.82 <sup>b</sup>	2.28
0.25	1.53 <sup>c</sup>	1.50 <sup>c</sup>	1.52
0.35	1.67 <sup>bc</sup>	1.60 <sup>bc</sup>	1.64
0.45	1.49 <sup>c</sup>	1.49 <sup>c</sup>	1.48
Mean	1.85	1.60	
SEM= 0.048			
Ash content (%)			
0.12	29.7 <sup>e</sup>	36.6 <sup>d</sup>	33.2
0.25	42.1 <sup>c</sup>	48.9 <sup>b</sup>	45.5
0.35	48.6 <sup>b</sup>	52.1 <sup>a</sup>	50.4
0.45	52.0 <sup>a</sup>	53.2 <sup>a</sup>	52.6
Mean	43.1	47.7	
SEM= 0.8			

abcd Means within rows and columns with no common superscripts differ ( $P < 0.05$ )

SEM= standard error of means.

feed conversion, the addition of phytase showed significant differences ( $P < 0.05$ ) only at the same AvP level (0.12 %) without phytase. When phytase was added to higher Pav levels, feed conversion showed improvements up to the 0.25 % AvP level, after which there were no improvements. When the AvP level was increased from 0.12 to 0.45 %, feed conversion was different ( $P < 0.05$ ) between 0.12 % AvP with and without phytase and all the other treatments.

Ash contents increased in birds in treatments without phytase when available phosphorus content in the feed increased ( $P < 0.05$ ). When phytase was added, AvP content showed differences between levels up to 0.35 %, which was similar to that of 0.45 % AvP. Likewise, 0.35 % AvP without phytase showed no differences ( $P < 0.05$ ) with regard to 0.25 % AvP + 600 PTU and 0.45 % AvP without phytase showed similar ash contents to 0.35 % AvP plus phytase, which supports evidence that the addition of this enzyme helps save inorganic phosphorus. Ash percentages at 0.12 % Pav, 0.12 AvP + 600 PTU and 0.25 % AvP without phytase show significant ( $P < 0.05$ ) differences among each other and with the other AvP levels.

Mortality was different ( $P < 0.05$ ) between 0.12 % AvP with and without phytase treatments (56.8 vs 7.1 %) and with all the other treatments which did not show mortality.

### Experiment 2

Results for weight gain, feed intake, feed conversion and mortality rates can be seen in Table 3. For all variables there were significant effect ( $P < 0.05$ ) for interaction between phytase and AvP levels, and due to this, the results that are discussed are the obtained though a combination of factors. When AvP increases from 0.08 to 0.39 % significant differences ( $P < 0.05$ ) in feed intake, feed conversion and weight gain are found.

When 600 PTU were added to 0.08 % AvP, significant differences ( $P < 0.05$ ) for feed intake and weight gain were observed. However no differences in any of the assessed variables were

### Experimento 2

Los resultados de ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y porcentaje de mortalidad, se presentan en el Cuadro 3. Para todas las variables se presentó un efecto significativo ( $P < 0.05$ ) para la interacción entre el nivel de fitasa y el nivel de fósforo disponible, por lo que los resultados que se discuten son los obtenidos por la combinación de los factores. Se puede observar que al incrementar el nivel de fósforo disponible de 0.08 a 0.39 % se encontraron diferencias ( $P < 0.05$ ) en el consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia.

Al adicionar 600 FTU al nivel de 0.08 % de Pd se presentaron diferencias ( $P < 0.05$ ) en ganancia de peso y consumo de alimento, sin embargo, cuando se agregó fitasa al nivel de 0.39 de Pd no hubo diferencias en las variables evaluadas. El nivel de fósforo disponible afecta ( $P < 0.05$ ) el porcentaje de mortalidad, siendo menor con el nivel de 0.39 % durante las tres semanas que duró el experimento; los mismos resultados se observaron al suplementar 600 FTU al nivel de 0.08 de Pd, ya que la mortalidad disminuyó ( $P < 0.05$ ) en las tres semanas del experimento.

El fósforo excretado fue menor ( $P < 0.05$ ) en los días 20 y 21 de edad de los pollos, cuando el nivel de fósforo en la dieta fue menor, sin embargo, el agregar la enzima no tuvo efecto en el porcentaje de fósforo excretado (Cuadro 4).

### DISCUSIÓN

Los resultados muestran que la adición de fitasa mejora la disponibilidad del fósforo fítico de la pasta de soya, sorgo y gluten de maíz, lo cual se refleja en mayor ganancia de peso, consumo de alimento y mejor mineralización de las tibias de los pollos de engorda. Esto indica que la fitasa hidroliza el fósforo del fitato de la pasta de soya, del sorgo y del gluten de maíz, haciéndolo disponible para los pollos, lo cual se corroboró por la menor ganancia de peso obtenida con los pollos que recibieron el mismo nivel de fósforo disponible pero sin suplementación de fitasa. Los resultados

found at the 0.39 % AvP level when phytase was added. AvP level affects the mortality rate ( $P < 0.05$ ), being lower at the 0.39 % AvP level throughout the experiment. The same results were seen at AvP 0.08 % + 600 PTU treatment, since mortality diminished ( $P < 0.05$ ).

Excreted phosphorus was less ( $P < 0.05$ ) on d 20 and 21 of age in diets with lower P content, although, when phytase was added, no effects on excreted phosphorus was found (Table 4).

Cuadro 3. Medias de ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y mortalidad de pollos con diferentes niveles de fósforo disponible y fitasa (Exp 2)

Table 3. Average weight gain, feed intake, feed conversion and mortality in chickens subject to diverse available phosphorus levels and phytase (Exp 2)

Available phosphorus (%)	Phytase (PTU/kg)		Mean
	0	600	
Weight gain (g)			
0.08	137 <sup>c</sup>	240 <sup>b</sup>	199
0.39	362 <sup>a</sup>	380 <sup>a</sup>	371
Mean	272	310	
SEM=	10.26		
Feed intake (g)			
0.08	263 <sup>c</sup>	420 <sup>b</sup>	357
0.39	629 <sup>a</sup>	618 <sup>a</sup>	623
Mean	446	519	
SEM=	17.68		
Feed conversion			
0.08	1.92 <sup>a</sup>	1.75 <sup>ab</sup>	1.82
0.39	1.74 <sup>b</sup>	1.63 <sup>b</sup>	1.68
Mean	1.81	1.69	
SEM=	0.0258		
Mortality (%)			
0.08	80.0 <sup>a</sup>	23.0 <sup>b</sup>	51.5
0.39	13.0 <sup>b</sup>	0.0 <sup>b</sup>	6.5
Mean	46.0	11.5	
SEM=	7.46		

abc Means within rows and columns with no common superscripts differ ( $P < 0.05$ )

SEM= standard error of means.

obtenidos con niveles bajos de fósforo disponible son similares a los de otros investigadores<sup>(9)</sup>. También se ha encontrado que al suplir con 600 FTU de fitasa/kg de dieta, aumenta la ganancia de peso de pollos a los 21 días de edad<sup>(10)</sup>, lo cual concuerda con los resultados aquí presentados, que indican claramente que el fósforo fítico de la pasta de soya, sorgo y gluten de maíz se hace más disponible cuando se adiciona la fitasa, y que la respuesta está relacionada con los niveles de fitasa y los de fósforo disponible.

En ambos experimentos se encontró un mayor consumo de alimento en las aves que consumieron la dieta con el nivel más bajo de Pd más fitasa, y como resultado de ese mayor consumo de alimento, también se obtuvo una mayor ganancia de peso. Estos resultados concuerdan con los de otros investigadores<sup>(5,11)</sup> quienes encontraron que al adicionar 600 FTU/kg en la dieta, aumenta el consumo de alimento en aves de 21 días de edad; también en la literatura<sup>(12)</sup> se menciona que dietas con pasta de soya y adición de 600 u 800 FTU por kilogramo de alimento y 0.20 o 0.27 % de Pd, aumenta el consumo de alimento.

Los consumos más bajos, corresponden a los pollos que consumieron las dietas con el nivel de fósforo de 0.12 y 0.08 %, ya que dieron los pesos más bajos, lo que indica que es necesario agregar más fósforo inorgánico o fitasa para mejorar el consumo de alimento y consecuentemente la ganancia de peso.

Después de ciertos niveles de adición de fitasa o fósforo disponible no hay efecto benéfico en conversión alimenticia cuando se agrega fitasa o se incrementa el Pd, debido a que hay un aumento simultáneo de ganancia de peso y consumo de alimento. Resultados similares se obtuvieron en otras investigaciones<sup>(5,11,12)</sup>.

También como consecuencia del mayor consumo de alimento se observó un incremento en el porcentaje de cenizas ( $P < 0.05$ ) en tibias de pollos alimentados con niveles de fósforo más fitasa. El aumento en las cenizas del hueso sugiere un incremento en su mineralización, y debido a la

## DISCUSSION

Results show that when phytase is added, phytate phosphorus availability in soybean meal, sorghum and corn gluten meal increases. This in turn produces higher weight gains and feed intake, as well as a better mineralization of the tibia in broilers. This indicated that phytase hydrolyzes phytate phosphorus in soybean meal, sorghum and corn gluten meal, making it available for chickens, which can be corroborated through the lower weight gain obtained by broilers fed the same available phosphorus level without phytase. Results obtained in this study with low available phosphorus levels are similar to those obtained by other authors<sup>(9)</sup>. Other researchers report increases in weight gain at 21 d of age in broilers supplemented with 600 PTU phytase/kg of feed<sup>(10)</sup>, which are similar with results shown here, which clearly show that phytate phosphorus in soybean meal, sorghum and corn gluten meal increases in availability when phytase is added, and also that responses are related to phytase and available phosphorus levels.

In both experiments, the highest feed intakes were found in those treatments with the lower AvP level plus phytase, which resulted in greater weight gains. These results agree with those of other researchers<sup>(5,11)</sup>, who found that when 600 PTU

Cuadro 4. Medias de fósforo excretado en pollos a los 20 y 21 días de edad, como respuesta a diferentes niveles de fósforo disponible y fitasa (%) (Exp 2)

Table 4. Excreted phosphorus averages in 20 and 21 days old broilers in response to diverse phosphorus and phytase levels (%) (Exp 2)

Available phosphorus (%)	Phytase (PTU/kg)		Mean
	0	600	
0.08	46 <sup>b</sup>	42 <sup>b</sup>	44±8.1
0.39	59 <sup>a</sup>	63 <sup>a</sup>	61±3.8
Mean	53	53	
SEM= 2.8			

ab Means within rows and columns with no common superscripts differ ( $P < 0.05$ )

SEM= standard error of means.



mayor disponibilidad del fósforo o Ca y su mejor utilización, causada por la liberación de estos elementos de la molécula de fitato por la enzima fitasa en el sistema digestivo<sup>(2)</sup>. Algunos investigadores<sup>(12)</sup> informan que se mejora el porcentaje de cenizas al usar la fitasa; y otros además, indican que esta relación del porcentaje de cenizas puede ser de gran utilidad para mostrar la retención de fósforo<sup>(13)</sup>.

Cuando el nivel de fósforo disponible fue de 0.08 % sin agregar fitasa, la mortalidad fue de 80 %, debido a que el fósforo presente en la dieta no es suficiente para cubrir los requerimientos del NRC<sup>(14)</sup>, por lo que la mineralización de los pollos fue deficiente y por consecuencia pobre comportamiento productivo, comparado con los pollos que recibieron una dieta adicionada con fitasa o con 0.39 % de Pd . Es posible que la mayoría de la mortalidad se deba a problemas relacionados con raquitismo e hipoxia, que no les permite respirar normalmente, por la deformación y debilidad de las costillas<sup>(15)</sup>.

Los resultados de mortalidad son similares a los de Vogt<sup>(16)</sup> quien encontró que al disminuir el fósforo debajo de lo recomendado aumenta la mortalidad, pero disminuye con la suplementación con fitasa. También se ha observado<sup>(5)</sup> una mortalidad alta en aves que recibieron niveles de 0.20 y 0.27 % de fósforo, (45 y 35 % respectivamente), pero al agregar fitasa disminuyó a niveles normales. Otros investigadores<sup>(17)</sup> también encontraron una mortalidad alta (40 %) en pavos, con dietas con 0.27 de Pd, pero cuando agregaron fitasa disminuyó.

Los resultados obtenidos para las variables evaluadas concuerdan con los de Beltrán *et al.*<sup>(8)</sup> quienes obtuvieron resultados semejantes con la adición de fitasa, ya que no encontraron diferencias en las variables ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia en niveles de fósforo cercanos a los óptimos, al pasar de 0 a 600 FTU, pero sí cuando se tuvo sólo el nivel de fósforo contenido en los ingredientes; lo cual confirma la bondad de la fitasa a bajos niveles de fósforo disponible. Sin embargo, en otras

per kg of feed were added, feed intake increases in 21 d old chickens. Other authors<sup>(12)</sup>, mention that soybean meal diets supplemented with 600 and 800 PTU per kg of feed and having 0.20 and 0.27 % AvP, increase feed intake.

The lowest feed intakes belong to those treatments with 0.08 and 0.12 % AvP, which showed the lowest weight gains, indicating that more inorganic phosphorus or phytase should be added to those diets to increase feed intake and therefore weight gains.

Beyond certain levels of phytase or phosphorus no beneficial effects in feed conversion could be observed when more available phosphorus or phytase was added, due to a simultaneous increase in weight gain and feed intake. Similar results were found by other researchers<sup>(5,11,12)</sup>.

As a consequence of a higher feed intake, ash contents increased ( $P < 0.05$ ) in tibia bones of chickens fed with phosphorus plus phytase. This increase in bone ash suggests greater mineralization, due to higher phosphorus and calcium availability, and to a better utilization, caused by the release of these minerals from the phytate molecule by the action of the enzyme phytase into the digestive tract<sup>(2)</sup>. Some researchers<sup>(12)</sup> reported an increase in ash contents when phytase is used and others indicated that this relation between ash contents could be of great importance to show phosphorus retention<sup>(13)</sup>.

When the level of AvP was 0.08 %, without phytase, mortality reached 80 %, because the available phosphorus was not enough to meet NRC requirements<sup>(14)</sup>, and therefore mineralization in chickens was deficient and a low productive performance compared to chickens fed diets supplemented with phytase or with 0.39 % AvP. It is possible that most of the mortality could be related to rickets or to hypoxia, which does not let chickens breath normally due to rib deformities and weakness, as was suggested previously<sup>(15)</sup>.

Mortality rates in this study are similar to those observed by Vogt<sup>(16)</sup>, who found that when

investigaciones<sup>(18,19,20,21)</sup> se han encontrado diferencias también para los niveles de fósforo recomendados, al adicionar la enzima fitasa.

La excreción de fósforo es directamente proporcional al porcentaje de fósforo en la dieta, ya que la excreción se incrementa a medida que aumenta el porcentaje de Pd en la ración. Esto se debe a que cuando el nivel de fósforo es bajo, el pollo utiliza todo el Pd y excreta el fósforo presente en forma de fitatos, pero después de rebasar los requerimientos el fósforo excretado se incrementa, ya que excreta el fósforo fítico y el Pd en exceso de la dieta. Perney *et al.*<sup>(2)</sup> mencionan que la excreción de fósforo se incrementa cuando los niveles de Pd pasan de 0.21 a 0.44 %. También Yi *et al.*<sup>(18)</sup>, encontraron que al incrementarse el nivel de Pd, disminuyó la retención de fósforo, incrementando su excreción, que fue más notoria con 0.45 y 0.54 % de Pd en la dieta.

En el presente experimento la fitasa no afectó la excreción de fósforo, ya que está relacionada directamente con el consumo de alimento, y al incrementar el consumo de alimento con la adición de fitasa, el consumo de fósforo también se incrementa, por lo que no se encontraron diferencias entre tratamientos con y sin la adición de fitasa, quizá porque el nivel de 0.39 % con la suplementación de fitasa es similar a lo que sugiere el NRC,<sup>(14)</sup> y lo encontrado por otros<sup>(8)</sup>. Sin embargo, en otra investigación<sup>(21)</sup>, al probar niveles de fitasa en dietas de maíz-pasta de soya, que contenía 0.21 % de fósforo disponible, se encontró que la adición de fitasa disminuyó la excreción de fósforo de 18 a 8.3 %, en pollos de 1 a 6 semanas de edad.

## CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

De los resultados obtenidos se puede concluir que la adición de fitasa mejora la ganancia de peso y el consumo de alimento, sólo en los niveles bajos de fósforo disponible. Las cenizas se incrementan a medida que se aumenta el Pd, y al agregar la fitasa también se incrementan. La mortalidad es alta con el nivel bajo de fósforo disponible pero disminuye con la adición de fitasa o con el

phosphorus levels were reduced below requirements, mortality increases, but it was reduced with phytase supplementation. Other studies<sup>(5)</sup> show high mortality (45 and 35 % respectively) in chickens fed 0.20 and 0.27 % AvP, but when phytase was added, this mortality was similar to normal levels. Other researchers<sup>(17)</sup> observed a higher mortality in turkeys (40 %), when fed 0.27 % AvP, but this mortality decreased when phytase was added.

Results obtained for the assessed variables agree with those found by Beltrán *et al.*<sup>(8)</sup>, who obtained similar results when phytase was added to diets; they did not observe differences in weight gain, feed intake or feed conversion when AvP levels were near the optimal, when increasing from 0 to 600 PTU. Differences were only observed when the level of phosphorus in diet was just the content of the ingredients, which confirms that phytase works well at low AvP levels. However, in other studies<sup>(18,19,20,21)</sup> significant differences were observed when high phosphorus levels with supplemented phytase were fed.

Phosphorus excretion is related directly to dietary phosphorus level, because excretion increases when AvP in the diet increases. This could be explained by the fact that when AvP levels are low, chickens use all available phosphorus and excrete phytate phosphorus; but after phosphorus requirements are met, phosphorus excretions increase because phytate phosphorus and excess available phosphorus are excreted. The results observed (Table 4) agree with the reports of Perney *et al.*<sup>(2)</sup> who mentioned that phosphorus excretion increases when AvP increases from 0.21 to 0.44 %. Yi *et al.*<sup>(18)</sup> also found that increasing AvP levels phosphorus retention was reduced, thus increasing P excretion, this effect being most remarkable when dietary AvP levels were 0.45 and 0.54 %.

In the present study phytase did not affect phosphorus excretion, being directly related to feed intake, and when feed intake increases due to phytase, phosphorus intake also increases, and because of this no significant differences were found between treatments with or without phytase, maybe due to the fact that 0.39 % AvP plus phytase is

incremento en los niveles de fósforo disponible. La excreción de fósforo es mayor al incrementar el nivel de fósforo y la fitasa no tuvo efecto en su excreción.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo brindado por la división Agro & Químicos de la empresa BASF Mexicana SA de CV, por haber facilitado la enzima fitasa (Natuphos).

## LITERATURA CITADA

- Nelson TS, Ferrara LW, Storer NL. Phytate phosphorus content of feed ingredients derived from plants. *Poult Sci* 1968;47:1372-1374.
- Perney KM, Cantor AH, Straw ML, Herkelman KL. The effect of dietary phytase on growth performance and phosphorus utilization of broiler chicks. *Poult Sci* 1993;72:2106-2114.
- Nelson TS, Shieh TR, Wodzinski RJ, Ware JH. The availability of phytate P in soybean meal before and after treatment with mold phytase. *Poult Sci* 1968;47:1842-1848.
- Schwartz RW. Practical aspects of calcium and phosphorus nutrition. Technical Newsletter May 1. Avian Farms, Inc. 1996:19.
- Denbow DM, Ravindran V, Kornegay ET, Yi Z, Hulet RM. Improving phosphorus availability in soybean meal for broilers by supplemental phytase. *Poult Sci* 1995;74:1831.
- AOAC. Official methods of analysis. 15<sup>th</sup> ed. Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemists. 1990.
- SAS. SAS User's Guide: Statistics, (version 6 ed.). Cary NC, USA: SAS Inst. Inc. 1995.
- Beltrán-López J, Cuca-García M, González-Alcorta MJ, Pro-Martínez A. Estimación del nivel de fósforo con y sin adición de fitasa. *Arch Latinoam Prod Anim* 2000;8(1):1-7.
- Kornegay ET, Denbow DM, Yi Z, Ravindran V. Response of broilers to graded levels of microbial phytase added to maize-soyabean-meal-based diets containing three levels of non-phytate phosphorus. *Brit J Nutr* 1996;7:839-852.
- Sebastian S, Touchburn SP, Chavez ER, Lague PC. Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization of broiler chickens. *Poult Sci* 1996;75:1516-1523.
- Broz J, Oldale P, Perrin-Voltz AH, Rychen G, Schulze J, Simoes Nunes C. Effects of supplemental phytase on performance and phosphorus utilization in broiler chickens fed a low phosphorus diet without addition of inorganic phosphates. *Brit Poult Sci* 1994;35:273-280.
- Qian H, Viet HP, Kornegay ET, Ravindran V, Denbow DM. Effects of supplemental phytase and phosphorus on histological and other tibial bone characteristics and performance of broilers fed semi-purified diets. *Poult Sci* 1996;75:618-62.
- Nelson TS, Shieh TR, Wodzinski RJ, Ware JH. Effect of supplemental phytase on the utilization of phytate phosphorus by chicks. *J Nutr* 1971;101:1289-1294.
- NRC. National Research Council. The nutrient requirements of poultry. 9<sup>th</sup> rev. ed. Washington, DC, USA: National Academy Press; 1994.
- Julian JR, Summers J, Wilson JB. Right ventricular failure and ascites in broiler chickens caused by phosphorus-deficient diets. *Avian Diseases* 1985;30:453-459.
- Vogt H. Effect of supplemental phytase to broiler rations with different phosphorus content. Experiment 2. *Archiv-fur-Geflugelkunde* 1992;56:222-226.
- Ravindran V, Kornegay ET, Denbow DM, Yi Z, Hulet RM. Response of turkey poults to tiered levels of natuphosâ phytase added to soybean-based semi-purified diets containing three levels of nonphytate phosphorus. *Poult Sci* 1995;74:1843-1854.

## CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS

Based on the results obtained in the present study it can be concluded that the addition of phytase improves weight gain and feed intake, only when available phosphorus levels are low. Ash content increases as available phosphorus increases, and when phytase is added. Mortality rates are high when available phosphorus levels are low, but decrease when phytase is added or when available phosphorus levels increase. Phosphorus excretion is higher when phosphorus levels increase and phytase shows no effect on phosphorus excretion.

## ACKNOWLEDGEMENTS

To Agro & Químicos of BASF Mexicana SA de CV, for providing the phytase enzyme (Natuphos).

*End of english version*

18. Yi Z, Kornegay ET, Ravindran V, Denbow DM. Improving phytate phosphorus availability in corn and soybean meal for broilers using microbial phytase calculation of phosphorus equivalency values for phytase. *Poult Sci* 1996;75:240.
19. Schoner FJ, Hoppe PP, Schwartz G. Comparative effects of microbial phytase and inorganic phosphorus on performance and on retention of phosphorus, calcium and crude ash in broilers. *J Anim Physiol Anim Nutr* 1991;66:248-255.
20. Huyghebaert G, De-Groote G, Geerse C, De-Groote G. Effect of microbial phytase on the utilization of phosphorus by broilers chickens. 2. Effect on mineralization of the skeleton and/on performance. *Revue-de Li Agriculture* 1992;45:229.241.
21. Zhang ZB, Kornegay ET, Radcliffe JS, Denbow DM, Veit HP, Larsen CT. Comparison of genetically engineered microbial and plant phytase for young broilers. *Poult Sci* 2000;79:709-717.