

## Aspectos fundamentales de las fitasas

### Fundamentals of phytases

Alberto Antonio Neira Vielma,<sup>1</sup> Erika Nava Reyna,<sup>1</sup> Anna Iliná,<sup>1</sup>  
 Georgina Michelena Álvarez,<sup>2</sup> José Gerardo Gaona Lozano,<sup>1</sup>  
 José Luis Martínez Hernández<sup>3</sup>

Revisión Científica

Martínez Hernández, J.L.; Neira Vielma, A.A.; Nava Reyna, E.; Iliná, A.; Michelena Álvarez, G.; Gaona Lozano, J., Aspectos fundamentales de las fitasas, *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. 57, 58-63, 2013.

#### RESUMEN

El uso de cereales como principal ingrediente de interés zootécnico se ha mantenido hasta la fecha, debido a su composición balanceada. Sin embargo, estas materias primas contienen, en diversas proporciones, factores antinutricionales, entre los que destaca el ácido fítico, que disminuye la biodisponibilidad del fósforo y otros nutrientes. Debido a que los métodos fisicoquímicos para hidrolizar el fitato son costosos y reducen el valor nutritivo de los alimentos, la industria está interesada en la optimización y mejora de enzimas fitasas incorporadas en la alimentación animal. Estas enzimas pueden producirse por diferentes sistemas de fermentación, en algunos casos, con altos costos y baja producción. Actualmente, se promueve la búsqueda de microorganismos productores de fitasas, y la caracterización de

**Palabras clave:** fitasa, factor antinutricional, ácido fítico, *Aspergillus*, fermentación.

**Key words:** phytase, antinutritional factors, phytic acid, *Aspergillus*, fermentation.

Recibido: 21 de Agosto de 2012, aceptado: 16 de Noviembre de 2012

<sup>1</sup> Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila.

<sup>2</sup> Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar, (ICIDCA), Cuba.

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, jose-martinez@uadec.edu.mx.

residuos agroindustriales con alta concentración de fitatos para aplicarlos en la producción de esta enzima, mediante procesos de fermentación, buscando obtener altos rendimientos y disminuir los costos de producción.

#### ABSTRACT

The main use of cereals as zootechnical interest has remained to date due to its balanced composition. However, these raw materials contain in different proportions antinutritional factors, among which the phytic acid, and this reduces the availability of phosphorus and other nutrients. Because physicochemical methods for hydrolyzing phytate are costly and reduce the nutritional value of food, industry is interested in optimizing and improving incorporated phytase in animal feed. These enzymes may be produced by different fermentation systems, in some cases with high costs and low yields. At this moment, the search for microorganisms producing phytase is being promoted and the characterization of agro industrial waste containing high phytate concentration for application in the production of this enzyme by fermentation processes, is to obtain high yields and lower costs of production.

#### INTRODUCCIÓN

Las dietas animales compuestas en su mayoría por alimentos de origen vegetal, como los cereales y leguminosas, deben contener la cantidad de nutrientes necesarios que permitan un buen desarrollo fisiológico y productivo (Rutherford *et al.*, 2003; SAGARPA, 2009). Para

su formulación se toma en cuenta el balance apropiado entre macronutrientes, que se encargan de proporcionar la mayor parte de la energía metabólica, así como la presencia de micronutrientes esenciales en procesos importantes del organismo, como: desarrollo fisiológico, principalmente del sistema óseo; desarrollo productivo, como lo es la ganancia de peso, la producción de leche, entre otros; y la regulación de procesos metabólicos (Zobac *et al.*, 1997; Silva y Silva, 1999; Sotelo *et al.*, 2002; Vallardi *et al.*, 2002). Entre los macronutrientes minerales, uno de los más importantes es el fósforo, el cual aunque suele encontrarse presente en altas cantidades en las dietas, no es asimilado correctamente en la mayoría de los casos. De la cantidad total consumida de este mineral, solamente 33% es retenido, mientras que 67% restante es desechado en las heces (Helander *et al.*, 1996; SAGARPA, 2003; Perello, 2004). La problemática en la asimilación del fósforo y otras sustancias esenciales, se debe a la presencia de factores antinutricionales en los alimentos, que actúan uniéndose a los nutrientes, ocasionando una disminución en la disponibilidad de éstos (Adeola *et al.*, 1995; Huyghebaert, 1996; Sangronis *et al.*, 2006; Martínez y Ortiz, 2008).

#### **Ácido fítico y fitatos como factores que afectan la nutrición animal**

En la clasificación de los llamados factores antinutricionales relacionados al metabolismo de fósforo, se encuentra el ácido fítico –ácido orgánico formado por seis moléculas de fosfato y una de mioinositol– (Dvořáková, 1998; Godoy *et al.*, 2010). Este compuesto es abundante en cereales y leguminosas, su presencia puede variar desde 2% en cereales, como la soya, hasta 4% en maíz y trigo (Barrientos *et al.*, 1994; Frontela *et al.*, 2008).

Aunque la función del ácido fítico en las plantas no está completamente definido, éste se ha asociado principalmente con:

- Reserva energética y fuente de cationes.
- Reserva de fósforo, regulando la concentración de este mineral en las semillas y durante el proceso de germinación.
- Fuente de mioinositol, precursor de los polisacáridos de la pared celular.
- Como antioxidante que previene la peroxidación de los lípidos y aumenta la longevidad de las semillas (Méndez, 2007).

El ácido fítico es un ácido carboxílico con un pKa menor a 3.5, el cual posee en su estructura seis protones fuertemente acoplados con un pKa de entre 4.6 a 10, lo que confiere a la estructura un fuerte potencial de quelación sobre minerales esenciales (Ca, Mg y Fe), así como la capacidad de unirse a proteínas, aminoácidos y azúcares e inhibir algunas enzimas digestivas, como tripsina y quimotripsina,  $\alpha$ -amilasas, tirosinasas y pepsinas (Rigon *et al.*, 2007). Al establecerse las uniones iónicas entre el ácido fítico y los nutrientes, se forman quelatos insolubles llamados fitatos, los cuales son un grupo amplio de compuestos altamente complejos que no pueden ser asimilados por organismos no rumiantes (Romero *et al.*, 2008). Por consiguiente, todo lo que esté unido a este compuesto no será aprovechado en su totalidad. Debido a esto las dietas deben ser complementadas con fósforo inorgánico, un mineral costoso y no renovable (Kobayashi, 2006). Conjuntamente, la baja biodisponibilidad del fósforo en los vegetales provoca que su deficiencia sea mayor en organismos no rumiantes, la cual puede conducir a diferentes estados patológicos, como osteoporosis, pérdida de apetito, descenso en la fertilidad y en la producción de leche y huevo, raquitismo, hemorragia dispersa, lesiones en el tubo digestivo, entre otras (Han *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2006). Además, el fósforo adicionado y el fitato no absorbido causan fuertes problemas de contaminación ambiental debido a las altas concentraciones de ácido fítico en el excremento, lo que resulta en una acumulación de éste en las áreas de pastoreo, mantos acuíferos y cuerpos de agua dulce, donde su presencia favorece la eutrofización, provocando la muerte de peces y animales acuáticos, y la liberación de óxido nítrico, como un potente gas de efecto invernadero (Krishna y Nokes, 2001; Gómez, 2005).

Por otro lado, existen investigaciones que demuestran que los fitatos poseen ciertas propiedades benéficas para la salud del ser humano, como lo son: efectos anticancerígenos, disminución en la probabilidad de padecer cálculos renales, así como propiedades antioxidantes, acción atribuida a la capacidad de formar complejos con metales, principalmente hierro (Sotelo *et al.*, 2002).

Los fitatos son formados durante la maduración de las semillas y los granos de diversos cereales. También se favorece su formación durante la digestión, esto debido al pH ligeramente alcalino

del intestino de animales no rumiantes (Quan *et al.*, 2001).

**Tabla 1.** Contenido de fitatos en diferentes fuentes naturales

Material	Contenido de ácido fítico g/kg <sup>-1</sup>
Triticale	14.91
Cebada	11.92
Centeno	11.92
Trigo	10.934
Maíz	9.94
Avena	9.44
Habas	7.45

Fuente: Vallardi *et al.* (2002).

La cantidad de ácido fítico presente en las muestras naturales puede variar ampliamente, como se observa en la tabla 1; esto debido la acción de fitasas intrínsecas presentes en los granos y semillas de la muestra (Vallardi *et al.*, 2002).

Para corregir la problemática que los fitatos ocasionan, entre ellas la disponibilidad del fósforo, se busca que la actividad enzimática fitásica permita remediar esto de una forma económica y manteniendo sin alteración alguna las características nutricionales del producto (Barrier *et al.*, 1996; Biehl y Baker, 1997; Cervantes *et al.*, 2009).

#### Fitasas como enzimas hidrolíticas

Las fitasas forman parte de un subgrupo de enzimas de la familia de las fosfatasas ácidas, las cuales son del tipo hidrolasas. Éstas actúan rom-



Feed Additives Help Agriculture and the Environment  
 By Erin Peabody, July 5, 2006.  
<http://www.ars.usda.gov/is/pr/2006/060705.htm>

piendo los enlaces fosfomonoéster degradando los fitatos a mioinositol hexafosfato y fósforo inorgánico, los cuales tienen menor o nulo efecto quelante (Kim *et al.*, 2006). Las fuentes naturales de fitasas, como se puede observar en la tabla 2, incluyen algunas variedades de plantas (cereales, legumbres, tubérculos, etc.), el intestino de ciertos animales no rumiantes, determinados microorganismos componentes de la microflora de animales rumiantes y otros microorganismos (*Aspergillus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, levaduras, etc.) (Jeroch, 1994; Diplock *et al.*, 1999; Méndez, 2007). La actividad fitásica en animales fue señalada por primera vez en el intestino de ratas, mientras que otros estudios han demostrado su presencia en humanos. No obstante, se ha reportado que

**Tabla 2.** Origen y ubicación de las fitasas

Origen	Ubicación
Animal	Intestino de rumiantes, principalmente ganado bovino.
Vegetal	Cascarilla y granos de cereales, legumbres y algunos vegetales.
Microbiana exógena	<i>Aspergillus ssp.</i> , <i>Candida</i> , <i>Pseudomonas</i> , entre otros.
Microbiana endógena	<i>E. coli</i> , principalmente.

Fuente: Méndez (2007).

la presencia de fitasa endógena de los cereales y leguminosas es esencial para producir la hidrólisis del ácido fítico a nivel intestinal, ya que la actividad fitasa propia del intestino es insignificante (McAllister y Cheng, 1996; Kemme *et al.*, 1997; Ruesga *et al.*, 2009).

De las anteriores, las fitasas de origen microbiano han recibido una mayor atención debido a las altas posibilidades para ser empleadas en la industria de alimentos para animales. Esto ha llevado al desarrollo de distintos procesos biotecnológicos para la producción de fitasas, principalmente a partir de cepas de *Aspergillus*, por ser un microorganismo por excelencia productor de gran cantidad de enzimas (Frontela *et al.*, 2008; Ali y Zulkali, 2011). Las fitasas de origen fúngico tienen dos principales ventajas sobre las de origen bacteriano: 1) el pH óptimo de actividad de las fitasas de origen fúngico está entre 2.5 y 5.5, valores similares a los que posee el tubo intestinal de los animales no rumiantes, a diferencia de las fitasas de origen bacteriano cuyo pH óptimo de actividad es próximo al neutro (Bedford, 1996; Dvoráčová, 1998; Dragone *et al.*, 2005); y 2) las fitasas fúngicas se pueden separar de la matriz en donde se producen con mayor facilidad debido a que son extracelulares, a diferencia de las bacterianas, las cuales son intracelulares, exceptuando las del género *Bacillus*. Esto hace que los procesos de purificación de las fitasas de origen fúngico sean económicamente más viables (Ebune *et al.*, 1995; Carrillo, 2003; Costa *et al.*, 2010).

Las enzimas fúngicas se obtienen principalmente por fermentación en medio sólido, utilizando comúnmente sustratos naturales a base de cereales, debido a que éstos contienen altas cantidades de fitatos, como se indica en la tabla 1 (Fujita *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2009). Estos sustratos agregan valor al residuo que lo compone, ya que contiene los nutrientes necesarios para el desarrollo del microorganismo que llevará a cabo la fermentación (Ruiz *et al.*, 2007; Romero *et al.*, 2008;).

Otro sistema de fermentación comúnmente usado para la producción de fitasas es el medio líquido, el cual permite mayor control de

factores, como la temperatura y el pH, además de obtener un producto más equilibrado, debido a que el microorganismo se desarrolla en un medio en donde los nutrientes se encuentran homogéneamente distribuidos (Zou y Zhejiang, 2008; Ruesga *et al.*, 2009; Rodríguez *et al.*, 2010).

A diferencia de la fermentación sumergida, en la fermentación sobre sustrato sólido, el microorganismo se desarrolla sobre una matriz rígida que sirve como soporte. En este sistema los niveles de actividad acuosa están entre 40 y 70%, ya que el sustrato debe contener sólo la humedad necesaria para favorecer los procesos metabólicos del microorganismo (Lerchundi, 2006; Rodríguez *et al.*, 2010). De acuerdo con estudios realizados por Ali (2011), este sistema posee ventajas evidentes frente a la fermentación en medio líquido, destacando el empleo de reactores con volúmenes más pequeños, los cuales a su vez tienen menor probabilidad de contaminación debido a la baja humedad que se maneja en el sistema. Asimismo, se facilita la separación del producto por métodos más sencillos, como filtración, y se ha comprobado que tiene mayores rendimientos de producción, incrementándose en algunos casos hasta en 30% (Domínguez, 1997; Hirimuthugoda *et al.*, 2006; Díaz *et al.*, 2009).

## CONCLUSIÓN

La producción a gran escala de fitasas promete ser factible y económicamente aceptable, pues el uso de estas enzimas en el sector agropecuario impulsará el desarrollo y promoverá su crecimiento, esto originado por los beneficios nutricionales aportados a los animales no rumiantes. El uso de estas enzimas permitirá no sólo incrementar la biodisponibilidad de nutrientes, sino que disminuirá el daño ambiental ocasionado por las grandes concentraciones de fósforo en las heces, lo cual constituye un problema tanto en mantos acuíferos como en áreas de pastoreo, y lo más importante es el enfoque a disminuir los altos costos que ocasiona la complementación de las dietas para los animales, en donde el fósforo inorgánico ocupa el primer lugar en cuanto a costos elevados, seguido por otros minerales y proteínas.

**LITERATURA CITADA**

- ADEOLA, O.; LAWRENCE, B.V.; SUTTON, A.L.; CLINE, T. R., Phytase-induced changes in mineral utilization in zinc-supplemented diets for pigs. *Journal Animal Science*, 73: 3384-339, 1995.
- ALI, Q.H.K.; ZULKALI, M.M.D., Utilization of agro-residual ligno-cellulosic substances by using solid state fermentation: a review. *Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 6(1): 5-12, 2011.
- BARRIENTOS, L.; SCOTT, J.J.; MURTHY, P.P.N., Specificity of Hydrolysis of Phytic Acid by Alkaline Phytase from Lily Pollen. *Plant Physiology*, 106: 1489-1495, 1994.
- BARRIER, G.; BEDFORD, M.; METAYER, J.P.; GATEL, F., Utilización práctica de compuestos enzimáticos en avicultura. *European Symposium on Poultry Nutrition XII Barcelona*, 324-325, 1996.
- BEDFORD, M.R., Enzymes in Poultry and Swine Nutrition. *International Development Research Center Canada*, 19-28, 1996.
- BIEHL, R.R.; BAKER, D.H., Microbial phytase improves amino acid utilization in young chicks fed diets based on soybean meal but not diets based on peanut meal. *Poultry Science*, 76: 355-360, 1997.
- CARRILLO, L., Los hongos de los alimentos y los forrajes. Curso de posgrado regional de ciencia y tecnología en alimentos. *Universidad Nacional de Salta Argentina*, 25-60, 2003.
- CERVANTES, M.; SAUER, W.C.; MORALES, A.; ARAIZA, B.; ESPINOZA, S.; YÁNEZ, J., Manipulación nutricional del cerdo para disminuir la contaminación ambiental. *Revista Computadorizada de Producción Animal*, 16(1): 13-22, 2009.
- COSTA, M.; LERCHUNDI, G.; VILLARROEL, F.; TORRES, M.; SCHÖBITZ, R., Producción de enzima fitasa de *Aspergillus ficuum* con residuos agroindustriales en fermentación sumergida y sobre sustrato sólido. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(1): 73-83, 2009.
- COSTA, M.; TORRES, M.; MAGARIÑOS, H.; REYES, A., Producción y purificación parcial de enzimas hidrolíticas de *Aspergillus ficuum* en fermentación sólida sobre residuos agroindustriales. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 12(2): 163-175, 2010.
- DÍAZ, A.B.; CARO, I.; DE ORY, I.; BLANDINO, A., Solid state fermentation in a rotating drum bioreactor for the production of hydrolytic enzymes. *Chemical Engineering Technology*, 17: 1041-1046, 2009.
- DIPLOCK, A.T.; AGGETT, P.J.; ASHWELL, M.; BORNET, F.; FERN, E.B.; ROBERFROID, M.B., Scientific Concepts in Functional Foods in Europe: Consensus Document. *Journal of Nutrition*, 81(4): S1-S27, 1999.
- DOMÍNGUEZ, P., *Desperdicios procesados y subproductos agroindustriales y de pesca en la alimentación porcina en Cuba*. Cuba: Instituto de investigaciones porcinas La Habana, 1997.
- DRAGONE, G.; MUSSATTO, S.I.; SILVA, J.B., Levaduras inmovilizadas en soporte lignocelulósico para la producción continua de cerveza. *Brazilian Journal Food Technology*, 5: 70-73, 2005.
- DVOŘÁKOVÁ, J.; VOLFOVÁ, O.; KOPECKÝ, J., Characterization of phytase produced by *Aspergillus niger*. *Folia Microbiologica*, 42: 349-352, 1997.
- DVOŘÁKOVÁ, J., Phytase: Sources, preparation and exploitation. *Folia Microbiologica*, 43: 323-338, 1998.
- EBUNE, A.; AL-ASHEH, S.; DUVNJAK, Z., Effects of phosphate, surfactants and glucose on phytase production and hydrolysis of phytic acid in canola meal by *Aspergillus ficuum* during solid-state fermentation. *Bioresource Technology*, 54: 241-247, 1995.
- FRONTELA, C.; ROS, G.; MARTÍNEZ, C., Empleo de fitasas como ingrediente funcional en alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 58(3): 215-220, 2008.
- FUJITA, J.; SHIGETA, S.; YAMANE, Y.; FUKUDA, H.; KIZZAKUI, Y.; WAKABAYASHI, S.; ONO, K., Production of two types of phytase from *Aspergillus oryzae* during industrial Koji Making. *Journal of Bioscience Bioengineering*, 95(5): 460-465, 2003.
- GODOY, S.; HERNÁNDEZ, G.; CHICCO, C., Effect of supplemental microbial phytase on the utilization of phosphorus phytate in broiler chickens fed corn-soybean diets. *Revista Internacional Arbitrada de la Divulgación de Investigaciones Originales en el área Agropecuaria*, 12(2): 508-512, 2010.
- GÓMEZ, E., Transformación y mejoramiento del valor nutritivo de la harina de guisante mediante la adición de enzima fitasa. Tesis para obtener el grado de doctor, Melilla, España, Universidad de Granada, 2005.
- HAN, Y.M.; YANG, F.; ZHOU, A.G.; MILLER, E.R.; KU, P.K.; HOGBERG, M.A.; LEI, X.G., Supplemental phytases of microbial and cereal sources improve dietary phytate phosphorus utilization by pigs from weaning through finishing. *Journal of Animal Science*, 75: 1017-1025, 1997.
- HELANDER, E.; NÄSI, M.; PARTANEN, K., Effects of supplementary *Aspergillus niger* phytase on the availability of plant phosphorus, other minerals and nutrients in growing pigs fed on high-pea diets. *Journal Animal Physiology and Nutrition*, 76: 66-79, 1996.
- HIRIMUTHUGODA, N.Y.; CHI, Z.; LI, X.; WANG, L.; WU, L., Diversidad de levaduras marinas productoras de fitasas. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 32(004): 673-682, 2006.

- HUYGHEBAERT, G., The response of broiler chicks to phase feeding for P, Ca and phytase. *Archiv fur Gefluegelkunde*, 60: 132-14, 1996.
- JEROCH, H., The present knowledges about phytase application in poultry feeding. *Archiv fur Gefluegelkunde*, 58(1): 1-7, 1994.
- KEMME, P.A.; JONGBLOED, A.W.; MROZ, Z.; BEYNEN, A.C., The efficacy of *Aspergillus niger* phytase in rendering phytate phosphorus available for absorption in pigs is influenced by pig physiological status. *Journal of Animal Science*, 75: 2129-2138, 1997.
- KIM, T.; MULLANEY, E.J.; PORRES, J.M.; RONEKER, K.R.; CROWE, S.; RICE, S.; KO, T.; ULLAH, A.H.J.; DALY, C.B.; WELCH, R.; LEI, X.G., Shifting the pH profile of *Aspergillus niger* PhyA phytase to match the stomach pH enhances its effectiveness as an animal feed additive. *Applied Environmental Microbiology*, 72(6): 4397-4403, 2006.
- KOBAYASHI, Y., Inclusion of novel bacteria in rumen microbiology: Need for basic and applied science. *Journal of Animal Science*, 77: 75-85, 2006.
- KRISHNA, C.; NOKES, S.E., Influence of inoculum size on phytase production and growth in solid-state fermentation by *Aspergillus niger*. *Transactions of the ASAE*, 44(4): 1031-1036, 2001.
- LERCHUNDI, G.N., Obtención de enzima fitasa a partir de una cepa del hongo *Aspergillus ficuum*, por medio de fermentación en sustrato sólido y sumergido. Tesis de licenciatura en la Universidad Austral de Chile unidad Valdivia, Chile, 2006.
- MARTÍNEZ, I.J.; ORTIZ, J., Uso de fitasas microbianas en reacciones de ponedoras comerciales post-muda. *Universidad Evangélica Boliviana*, 1-16, 2008.
- McALLISTER, T.A.; CHENG, K.J., Microbial strategies in the ruminal digestion of cereal grains. *Animal Feed Science and Technology*, 62: 29-36, 1996.
- MÉNDEZ, J., Avances en nutrición y alimentación animal. España: COREN S.C.L. Ourense, 2007.
- PERELLO, J., Fitato: estudios sobre su actividad biológica y los efectos sobre la prevención de las calcificaciones patológicas. Tesis para obtener el grado de doctor, Palma de Mallorca Universitat de les Illes Balears, 2004.
- QUAN, Ch.; ZHANG, L.; WANG, Y.; OHTA, Y., Production of phytase in low phosphate medium by a novel yeast *Candida krusei*. *Journal of Bioscience Bioengineering*, 92(2): 154-160, 2001.
- RIGON, M.; GREINER, R.; RODRIGUEZ, J.; WOJCIECHOWSKI, A.; PANDEY, A.; THOMAZ, V.; SOCCOL, C., Phytase production using citric pulp and other residues of the agroindustry in SSF by fungal isolates. *Food Technology Biotechnology*, 46(2): 178-182, 2007.
- RODRIGUEZ, D.E.; RODRÍGUEZ, J.A.; DE CARVALHO, J.C.; THOMAZ, V.; PARADA, J.L.; SOCCOL, C.R., Recovery of Phytase Produced by Solid-state Fermentation on Citrus Peel. *Brazilian Archives Biology and Technology*, 53(6): 1487-1496, 2010.
- ROMERO, C.; SALAS, M.; GARCÍA, A.C.; MENDOZA, G.; PLATA, F.X.; CERVANTES, M.; VIANA, T.; MORALES, A., Efecto de una fitasa en la digestibilidad y actividad de la tripsina y quimiotripsina en cerdos destetados. *Archivos de Zootecnia*, 58(223): 363-369, 2008.
- RUESGA, M.; ALFARO, G.; OLIARTE, R.; NAVARRO, A.; HERNÁNDEZ, T., Estudio de la capacidad hidrolítica y sintética de fitasas de *Aspergillus niger* en medio acuoso y sintético. XIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería y VII Simposio Internacional de Producción de Alcoholes y Levaduras 21 a 26 de Junio, 2009, Acapulco, Guerrero.
- RUIZ, H.A.; RODRÍGUEZ, R.M.; RODRÍGUEZ, R.; CONTRERAS, J.C.; AGUILAR, C.N., Diseño de birreactores para fermentaciones medio sólido. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6(001): 33-40, 2007.
- RUTHERFORD, S.M.; CHUNG, T.K.; MOREL, P.C.H.; MOUGHAN, P.J., Effect of microbial phytase on ileal digestibility of phytate phosphorus total phosphorus, and amino acids in a low-phosphorus diet for broilers. *Poultry Science Association Inc.*, 83: 61-68, 2003.
- SAGARPA, Análisis y perspectivas del mercado internacional del ganado porcino, Coordinación general de comercialización, dirección de operaciones financieras, dirección de estudios y análisis de mercados, Ficha técnica. 7: 1-13, México, 2003.
- SAGARPA, Situación actual y perspectiva de la producción de carne de pollo en México. Comunicado de SAGARPA. 35, México, 2009.
- SANGRONIS, E.; TORRES, A.; SANABRIA, N., A-Galactosidos y fitatos en semillas germinadas de *Phaseolus vulgaris* y de *Vigna sinensis*. *Agronomía Tropical*, 56(4): 523-529, 2006.
- SILVA, M.; SILVA, M.A.A., Aspectos nutricionais de fitatos e taninos nutritional aspects of phytases and tannins. *Revista de Nutrição Campinas*, 12(1): 5-19, 1999.
- SOTELO, Á.; MENDOZA, J.; ARGOTE, R.M., Contenido de ácido fítico en algunos alimentos crudos y procesados. Validación de un método colorimétrico. *Revista de la Sociedad de Química de México*, 43(4): 301-306, 2002.
- VALLARDI, M.; MORALES, R.; ÁVILA, E., Efecto de la adición de fitasas como fuente de fósforo inorgánico en dietas para gallinas de postura. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 40(2): 181-186, 2002.
- ZOBAC, P.; KUMPRECHT, I.; SIMECEK, K., The effect of microbial phytase in feed mix for early weaning on phosphorus and calcium digestibility and utilization in piglets. *Zivocisna Vyroba – UZPI*, 42(8): 367-373, 1997.
- ZOU, L.; ZHEJIANG, L., Expression, purification and characterization of a phyAm-phyCs fusion phytase. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 9(7): 536-545, 2008.