

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**UTILIZAÇÃO DE ENZIMAS NA AVICULTURA INDUSTRIAL**

**Natália Chaves Serafini**

**Porto Alegre  
2015**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**UTILIZAÇÃO DE ENZIMAS NA AVICULTURA INDUSTRIAL**

**Autor: Natália Chaves Serafini**

**Trabalho apresentado como  
requisito parcial para graduação  
em Medicina Veterinária**

**Orientador: Sergio Luiz Vieira  
Coorientadora: Catarina  
Stefanello**

**PORTO ALEGRE**

**2015/1**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao professor Sergio Vieira, por toda a orientação ao longo dos anos de estágio no Aviário de Ensino e Pesquisa. Agradeço pelos ensinamentos que vão além do científico, e pela compreensão nos momentos difíceis. Agradeço pela confiança.

De igual importância destaco a colega, amiga e doutoranda do Aviário de Ensino e Pesquisa, Catarina Stefanello, pela incrível inteligência e competência que demonstra constantemente. Agradeço pelas correções ao trabalho e principalmente por ser um exemplo a ser seguido de profissional para todos que têm a oportunidade de trabalhar em sua companhia. Agradeço pelos anos de trabalho e por todos os ensinamentos. Agradeço também pela paciência e compreensão.

Aos meus amigos da faculdade, que acompanharam toda ou parte da longa e exaustiva trajetória que significa cursar a Medicina Veterinária da UFRGS. Obrigada principalmente por terem sido a companhia do longo amadurecimento pelo qual todos os alunos passam do primeiro ao décimo semestre de aulas.

Agradeço aos colegas do Aviário de Ensino e Pesquisa com os quais trabalhei nos últimos anos, pela companhia e aprendizado durante o estágio, e por me mostrarem o valor do trabalho em equipe. Agradeço pelas companhias em dias difíceis e pela compreensão nos mesmos.

Agradeço aos meus pais, que além de serem o alicerce da minha formação como pessoa, me dão total apoio e têm minhas vitórias como suas; agradeço por ter sido educada por um casal de batalhadores que me ensinaram a valorizar os meus esforços. Já é parte da família, também, o meu namorado Gabriel, a quem dedico todo o meu amor e respeito. Obrigada por dividir sonhos e projetos comigo, e pelos esforços feitos para torná-los realidade.

Por fim, gostaria de agradecer a todos os professores da UFRGS que contribuíram para a minha formação como profissional, e dedico este trabalho a todos aqueles que contribuíram para a realização do mesmo; seja pelo apoio científico e acadêmico ou pelo estímulo, apoio e motivação que me passaram.

## RESUMO

A utilização de enzimas exógenas na formulação de rações para aves, mais precisamente para frangos de corte, os quais representam a maior parte do segmento avícola, é recente e tem demonstrado bons resultados na indústria de alimentos. Estes aditivos possibilitam que os ingredientes da ração tenham maior aproveitamento, maior digestibilidade e também podem melhorar a rentabilidade da produção. Em geral, a adição de enzimas exógenas na alimentação das aves apresenta dois objetivos definidos: a suplementação de enzimas já produzidas pelo próprio animal, complementando as enzimas endógenas, como amilase e protease; ou pelo fornecimento de enzimas não sintetizadas no trato gastrointestinal, como xilanase, glucanase e fitase. O número de pesquisas envolvendo a utilização de enzimas em dietas para aves é crescente e objetiva fornecer maior conhecimento da digestibilidade dos nutrientes, a atuação das enzimas em seus substratos específicos e sua participação nas funções digestivas, tornando a alimentação animal mais eficiente e econômica. É de extrema importância reconhecer as ações das enzimas que são adicionadas nas dietas de frangos de corte, assim como as interações enzimáticas e possíveis efeitos adversos, pois ainda há lacunas a serem preenchidas no conhecimento de enzimas na nutrição de aves. As contribuições deste trabalho serão fornecer uma caracterização das principais enzimas utilizadas na formulação de rações para frangos de corte, utilizando uma revisão bibliográfica relevante para a melhor compreensão das funções das enzimas e resultados obtidos até o momento.

**Palavras-chave:** carboidrase; digestibilidade; frangos de corte; fitase; protease.

## **ABSTRACT**

The utilization of exogenous enzymes in feed formulation for poultry and more precisely to broiler chickens, which account for most of the poultry sector, is a recent subject that has shown good results by the feed industry. These additives allows the feed ingredients to be better used, having higher digestibility and can improve production rentability. In general, exogenous enzyme addition in poultry nutrition has two specific goals: supplementation of enzyme that is synthesized by the animal, complementing the endogenous enzymes, as amylase and protease, or to provide enzymes that are not synthesized by the gastrointestinal tract, as xylanase, glucanase and phytase. The amount of studies involving enzyme utilization in poultry diet is growing and has the objective to increase knowledge about nutrient digestibility, enzyme actions in their specific substrates and its participation in the digestive functions, making the diets more efficient and cheaper. It is extremely important to know the action of the enzyme that are added in poultry diets, as well as the enzymatic interactions and its possible adverse effects, because there is still gaps to be filled in the knowledge of the role of enzyme in animal nutrition. The contribution of this work will provide a characterization of the main enzymes used in feed formulation for broilers, using a relevant literature review to better understand enzyme functions and results obtained to date.

**Keywords:** carbohydrase; digestibility; broilers; phytase; protease.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	6
2. ENZIMAS NA AVICULTURA INDUSTRIAL .....	8
2.1. Fitase.....	9
2.2. Carboidrases .....	11
2.3. Proteases .....	12
3. FONTES DE ENZIMAS.....	15
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	18
5. REFERÊNCIAS .....	19

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o principal exportador de carne de frango no mundo, mantendo esta posição desde 2004, e é o terceiro maior produtor, atrás somente dos Estados Unidos e da China (ABPA, 2014). Juntamente com o crescimento do mercado de carnes, cresce também a demanda por quantidade e qualidade de grãos para a fabricação das rações para as aves. Os custos com ração têm grande participação nos custos de produção, representando cerca de 70%. O aprofundamento do estudo da composição nutricional dos alimentos e da formulação de rações são áreas do conhecimento importantes para atingir uma produção com qualidade, rentável e que satisfaça as exigências alimentares dos animais.

A formulação de dietas para aves é um dos grandes desafios do setor avícola, e a melhoria do aproveitamento dos ingredientes presentes na ração é um dos principais objetivos do trabalho dos nutricionistas em produção animal. As dietas fornecidas aos animais na produção avícola são compostas, principalmente, por ingredientes de origem vegetal. Conseqüentemente, grande variedade de fatores anti-nutricionais podem estar presentes em tais ingredientes, como os polissacarídeos não amídicos (PNAs), oligossacarídeos e inibidores de proteases, que geralmente possuem baixa digestibilidade, fornecem menor energia e podem limitar o aproveitamento de alguns nutrientes que poderiam ser utilizados pelos animais. Dessa forma, no intuito de melhorar a digestibilidade e absorção dos nutrientes presentes nos ingredientes da ração, muitas pesquisas têm se direcionado ao estudo do efeito da adição de enzimas exógenas nas rações para frangos de corte.

As enzimas são os aditivos alimentares comumente utilizados nas rações avícolas e que são incorporadas às dietas objetivando melhorar o desempenho zootécnico, atuando como catalisadores biológicos agindo no metabolismo dos animais (SLOMINSKI, 2011). A suplementação de enzimas exógenas na alimentação das aves apresenta como principais objetivos complementar a ação de enzimas endógenas já produzidas pelo animal, como ocorre com as amilases e proteases, e também fornecer enzimas que não são sintetizadas no trato gastrointestinal, por exemplo as xilanases, glucanases e fitases (COWIESON & ADEOLA, 2005). O estudo sobre o modo de ação das enzimas com seus substratos específicos tem sido de muita importância para melhor compreender onde e como se pode interferir positivamente na função absorviva das aves.

Os ingredientes vegetais presentes na composição das dietas na avicultura são principalmente milho e farelo de soja. Estes ingredientes possuem alta digestibilidade, porém

apresentam em suas composições substâncias que não são eficientemente digeridas pelas enzimas digestivas das aves. Este é o caso do fósforo presente nestes ingredientes, que se encontra em sua maior parte em uma forma não acessível para os animais não-ruminantes. Mais da metade deste mineral essencial para o desenvolvimento dos animais está na forma de fitato, que é degradado pela enzima fitase, que não é secretada pelo trato gastrointestinal das aves. Dessa maneira, a quantidade de fósforo disponível para absorção é reduzida, sendo necessária suplementação com fontes inorgânicas na ração para atender ao requerimento nutricional dos animais, o que contribui com o aumento dos custos de formulação. Além disso, a indisponibilidade do fósforo fítico para absorção pelos animais tem como consequência sua maior excreção pelos animais, contribuindo para o impacto ambiental, pois o fósforo é grande contribuinte da contaminação dos solos.

Outro aspecto a ser considerado no âmbito de digestibilidade é o aproveitamento do amido e da energia das rações, pois o amido é o principal constituinte do grão de milho e a principal fonte de energia da dieta. A suplementação de amilases exógenas permite potencializar a ação de amilases endógenas, aumentando a disponibilidade de energia que poderá ser utilizada nos processos metabólicos e no desenvolvimento corporal das aves.

Proteases são enzimas que efetuam a quebra das proteínas da ração, podendo ser chamadas também de peptidases ou proteinases. Embora dietas tradicionais de milho e farelo de soja sejam consideradas de alta digestibilidade para as aves, estes ingredientes podem conter concentrações significativas de fatores antinutricionais, como inibidores de tripsina e lectinas, dependentes da qualidade do processo térmico e qualidade dos produtos. Pode apresentar também complexos proteicos que não são facilmente digeridos por aves jovens, que apresentam menor secreção enzimática nessa fase (UNI et al., 1999). Outro benefício da adição enzimática para degradar proteínas é a possibilidade de utilização de alimentos de baixa digestibilidade e o maior aproveitamento dos aminoácidos e da proteína bruta (ROSTAGNO et al., 2011).

Objetivou-se com este trabalho caracterizar as principais enzimas utilizadas na avicultura industrial, através de uma revisão bibliográfica, reunindo publicações relevantes e demonstrando os efeitos da utilização de enzimas exógenas na nutrição das aves de interesse comercial.

## 2. ENZIMAS NA AVICULTURA INDUSTRIAL

Enzimas são proteínas com complexa estrutura tridimensional, que aceleram processos químicos (ANGEL & SORBARA, 2014), também são catalisadores biológicos, responsáveis por diversas reações bioquímicas necessárias ao metabolismo animal. O entendimento das limitações e potencialidades do uso de enzimas na nutrição de aves requer o conhecimento de aspectos de enzimologia, em que, as enzimas são moléculas proteicas complexas que catalisam uma reação química; são altamente específicas para as reações que catalisam e para os substratos que estão envolvidos na reação; exigem que sua estrutura permaneça inalterada para garantir sua atividade; podem ser inativas e desnaturadas por pH extremo e calor, e também podem ser degradadas por outras enzimas (LEHNINGER, 2000).

As enzimas são classificadas de acordo com os substratos onde atuam. De acordo com Rotter (1990), as enzimas adicionadas ao alimento são ativadas pela associação dos seguintes fatores: mistura aos fluidos digestivos (pH), temperatura do organismo e presença de substrato. A presença de substrato no trato gastrointestinal do animal também é fator limitante para que as enzimas possam atuar. O sucesso da utilização das enzimas exógenas depende da associação correta entre a dieta utilizada e a enzima escolhida, uma vez que cada enzima, para desempenhar sua função, necessita da presença de substrato específico. Adicionalmente, é fundamental o conhecimento a respeito das condições nas quais as reações de hidrólise enzimática são realizadas (temperatura, pH, umidade e presença de coenzimas e inibidores) (LIMA et al., 2002).

De acordo com Soto-Salanova (1996), a utilização de enzimas exógenas possui como principais objetivos: a remoção ou hidrólise de fatores antinutricionais, o aumento da metabolizabilidade dos nutrientes presentes na ração, a suplementação das enzimas endógenas e a hidrólise de polissacarídeos não amídicos solúveis. As enzimas atuam na quebra de fatores antinutricionais, como fibra e fitato, que estão presentes em muitos ingredientes da ração. Os fatores antinutricionais são gerados nos alimentos *in natura*, pelo metabolismo normal da espécie da qual o alimento se origina. Eles não são tóxicos para os animais, porém sua presença na dieta resulta em menores taxas de ganho de peso, piora na conversão alimentar e outras alterações metabólicas.

A possibilidade de redução no custo de formulação das rações e o melhor aproveitamento dos nutrientes são os principais objetivos da utilização de enzimas exógenas. Energia, proteína e minerais são os principais constituintes da alimentação das aves, também

os componentes que representam os maiores custos na formulação das rações e consequentemente, melhorias são os principais alvos quando se objetiva melhorar o aproveitamento dos ingredientes presentes nas formulações. Por que enzimas melhoram a digestibilidade e disponibilidade de energia, proteínas e minerais na ração, a indústria de rações pode reduzir custos se utilizar enzimas com eficácia comprovada e que permitam reduzir os constituintes como cálcio, fósforo, proteína ou energia das rações (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001). Portanto, os principais produtos enzimáticos utilizados nas rações para aves de alto desempenho atualmente são os que atuam sobre ácido fítico e fitato, frações fibrosas, amido e proteína.

## **2.1. Fitase**

Para compreender a importância da utilização de fitases em rações para aves, é importante a compreensão das principais funções que o fósforo desempenha no organismo animal. Dentre as principais funções do fósforo no desenvolvimento e crescimento de frangos de corte, destacam-se, a essencialidade para a construção da estrutura óssea; participação no desenvolvimento de membranas celulares; presença na composição dos ácidos nucleicos, na diferenciação celular; ação na transferência de energia (na forma de ATP); além de seu efeito no controle do apetite e na eficiência alimentar destas aves (RUNHO et al., 2001).

Os ingredientes mais utilizados nas rações para frangos de corte no Brasil são o milho e o farelo de soja, os quais são as principais fontes de energia e proteína nas dietas, respectivamente. Mesmo considerados de alta digestibilidade, estes ingredientes vegetais apresentam em suas composições substâncias que não são eficientemente digeridas pelas enzimas digestivas das aves, o que requer a utilização de enzimas exógenas específicas para melhorar o aproveitamento dos nutrientes (COWIESON & ADEOLA, 2005; SORBARA, 2009).

O fitato (hexafosfatado de mio-inositol) é a maior forma de estocagem de fósforo na maioria das plantas, sendo abundante nas sementes (ZENG et al., 2011). Para que ocorra a utilização do fósforo fítico pelo animal, é necessária a utilização da enzima fitase, que não é secretada por não-ruminantes (SILVA, 2005). Assim, grande parte do fósforo dietético é excretado por esses animais, contribuindo para a contaminação ambiental. Adicionalmente, o fósforo dietético não é todo aproveitado pelas aves e a baixa digestibilidade do fósforo fítico pode aumentar o custo de produção, pois se faz necessária a adição de outra fonte de fósforo

disponível na formulação de rações para que as exigências nutricionais das aves sejam alcançadas.

Pesquisadores têm relatado que dois terços do fósforo presente nos ingredientes de origem vegetal estão na forma de ácido fítico (MCKNIGHT, 1996; ROSTAGNO et al., 2005). O ácido fítico interage com proteínas solúveis em pH baixo, aminoácidos, minerais (cátions multivalentes) e amido, o complexo conhecido como fitato. Este processo torna a molécula de fitato resistente ao processo digestivo e também diminui a digestibilidade dos nutrientes que estão complexados (YU et al., 2012). O pH aproximado do intestino, onde a absorção dos minerais ionizados ocorre, coincide com o pH em que os complexos precipitam, e na forma precipitada o fitato-mineral é inacessível para a hidrólise e posterior absorção (ANGEL et al., 2002). A enzima fitase é responsável por efetuar a hidrólise do fitato, assim, suplementar a dieta com fitase exógena permite liberar os minerais, proteínas e o amido complexados com o fitato, que podem então ser digeridos e absorvidos pelo animal, melhorando a eficiência alimentar. Em relação à sua importância ambiental, o fósforo é eliminado em grande quantidade pelas fezes e pela urina das aves (RUNHO et al., 2001), o que merece atenção especial, pois juntamente com o nitrogênio, polui o solo e a água, o que representa efeito nocivo para o ambiente (NAVES, 2009). A utilização da fitase também se faz interessante por reduzir a quantidade de fósforo excretada pelos animais, pois possibilita maior retenção deste nutriente no trato gastrointestinal.

De acordo com Salanova (1996) e Ferlin (2006), o modo de ação da fitase consiste na transferência do grupo fosfato do substrato para a enzima e desta para a água. A principal ação da fitase é na degradação do ácido fítico, sendo máxima no estômago e na porção inicial do intestino delgado, o que libera minerais e outros nutrientes contidos nos alimentos de origem vegetal, por meio da hidrólise e da ruptura das paredes celulares das sementes.

A fitase (mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase) é uma enzima produzida por várias espécies de bactérias, fungos e leveduras, capaz de eliminar as propriedades antinutricionais do fitato, também por catalisar e dobrar o ácido fosfórico de inositol, e liberar ortofosfato para ser absorvido (BRANDÃO et al., 2007). Sua atividade é expressa de diferentes maneiras, pois ainda não há uma padronização. Assim, as unidades de fitase fúngica presentes nos diferentes produtos enzimáticos podem ser chamadas de FTU, FYT, PPU, PU ou simplesmente U (unidade de fitase ativa, definida como a quantidade da enzima necessária para liberar um micromol de fósforo inorgânico, em um minuto, em substrato de sódio fitato, à temperatura de 37°C e pH 5,5).

Os dois principais fatos que levaram à utilização de fitase a nível industrial e que tornaram esta prática economicamente viável foram a biotecnologia, modificando geneticamente fungos e a pressão para reduzir a excreção de fósforo no meio ambiente (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001). Atualmente, o gênero *Aspergillus* constitui os microrganismos mais utilizados para produzi-la em escala comercial (SEBASTIAN et al., 1998), sendo baseado no gene encontrado no *A. niger*.

## 2.2. Carboidrases

Carboidrases são enzimas que clivam carboidratos em açúcares simples. São enzimas que têm apresentado crescente interesse pela indústria de rações, pois grande parte dos ingredientes vegetais contém frações fibrosas que são indigestíveis para animais não-ruminantes. Em nutrição animal, essas enzimas podem ser utilizadas para digerir dois grandes grupos de substrato: polissacarídeos não amídicos (PNAs) ou amido.

Todos os ingredientes de origem vegetal contêm fibras solúveis e insolúveis. As fibras são estruturas compostas por carboidratos complexos, os PNAs, que são encontrados na parede celular das plantas. Os PNAs são compostos principalmente por celulose e hemicelulose, que devido à natureza de suas ligações, são resistentes à hidrólise no trato digestório (ROSA & UTTPATEL, 2007), tornando mais difícil a exposição do amido, que está envolto pela parede celular fibrosa das células vegetais. Assim, a digestão e absorção do amido estão associadas ao acesso, pelas enzimas, ao material contido dentro da célula vegetal, sendo necessária a degradação a parede celular. Os PNAs também são considerados fatores antinutricionais pois estão associados ao aumento da viscosidade da digesta, tornando o conteúdo intestinal mais viscoso, alterando a taxa de passagem e, conseqüentemente, diminuindo a digestibilidade do amido, proteína e gordura (CHOCT & ANNISTON, 1990).

A utilização de carboidrases tem sido relacionada com a degradação de frações fibrosas indigestíveis, sendo que as principais carboidrases de importância em avicultura são xilanase, beta-glucanase e amilase. Xilanases e glucanases atuam na fração principal da molécula de hemicelulose e nos glucanos da hemicelulose, respectivamente, possibilitando a quebra da parede celular, expondo o amido e assim melhorando o aproveitamento da energia por favorecer a ação de amilases (endógenas) e também de amilases exógenas que atuam diretamente nas moléculas de amido

A maior parte dos estudos focados na utilização de xilanases e glucanases é realizada em regiões como a Europa, onde se utiliza aveia, cevada e trigo na alimentação animal. Estes grãos possuem níveis mais elevados de PNAs do que o milho e a soja, tradicionalmente utilizados para alimentar a produção avícola no Brasil, Estados Unidos e continente Asiático. O efeito das enzimas exógenas sobre o valor nutritivo de dietas à base de trigo e aveia já é bastante estabelecido; porém, para dietas à base de milho e soja, ainda não tem recebido tamanha atenção da comunidade científica. O milho contém aproximadamente 0,9% de PNAs solúveis e 6% de PNAs insolúveis, enquanto o grão de soja contém 6% e de 18 a 21% respectivamente (BACH, 1997).

O amido é o principal carboidrato presente no milho, e é a principal fonte de energia, o que caracteriza este grão como altamente energético. No grão, o amido está protegido pela parede celular, portanto são necessárias algumas técnicas de processamento para torná-lo mais disponível para os animais, como extrusão, moagem e trituração do grão.

As amilases são enzimas que terão cada vez mais importância futuramente na indústria de alimentos, visto que atuam no amido dos ingredientes vegetais, o qual é quantitativamente o principal componente da maioria das rações utilizadas na avicultura e, por isso, qualquer melhoria no seu aproveitamento possibilitará benefícios. Por melhorar a digestibilidade do amido, as amilases potencialmente permitem que as aves extraiam mais energia da dieta, que pode ser eficientemente convertida em produção de carne e ovos. Para Angel e Sorbara (2014), qualquer aumento na digestibilidade do milho e do amido melhora a performance animal e diminui os custos de formulação.

Também é importante ressaltar que os índices de digestibilidade do amido dos ingredientes vegetais variam de acordo com os níveis de amido resistente, a granulometria, a composição e a encapsulação do amido. Diferenças na genética das plantas, condições de crescimento, condições de colheita, manejo, a secagem, o armazenamento e os processos de industrialização são também contribuintes para a variabilidade da digestibilidade do amido.

### **2.3. Proteases**

As proteases são classificadas de acordo com a porção das cadeias polipeptídicas onde atuam, sendo chamadas de endopeptidases ou exopeptidases, quando atuam na porção interna ou externa da molécula, respectivamente sendo sua principal função catalisar a clivagem de ligações peptídicas de proteínas (WISEMAN, 1991). Segundo a União Internacional de

Bioquímica, as enzimas proteolíticas podem ser classificadas, ainda, de acordo com as propriedades elétricas e a especificidade do substrato (THYS, 2004). As proteases representam 60% do mercado mundial de enzimas, sendo 40% referente às proteases de origem microbiana (JOHNVESLY & NAIK, 2001). Reconhecida a importância da proteína para o desenvolvimento do animal, principalmente na avicultura industrial intensiva, além do custo da proteína na dieta, alternativas como a utilização de proteases exógenas tem sido também o alvo de pesquisas em nutrição animal. O principal objetivo do uso de proteases é possibilitar a redução da proteína bruta da dieta, sem prejudicar o desempenho zootécnico das aves (YU et al., 2007).

A grande variedade de proteases endógenas produzidas no trato gastrointestinal das aves geralmente é suficiente para uma adequada utilização de proteínas (NIR et al., 1993). No entanto, os resultados de digestibilidade indicam que consideráveis quantidades de aminoácidos e proteína passam pelo trato gastrointestinal sem serem aproveitados e completamente digeridos (LEMME et al., 2004). A utilização de proteases exógenas também pode maximizar a disponibilidade de aminoácidos e direcioná-los para manutenção e deposição muscular e, conseqüentemente, melhorando o desempenho e/ou diminuindo o custo de alimentação.

A utilização de proteases na nutrição de aves visa o melhor aproveitamento da proteína presente nos ingredientes vegetais, bem como atuar sobre alguns antinutrientes proteicos. Sementes, particularmente de leguminosas como a soja, contêm alta concentração de proteínas de armazenamento. Essas proteínas de armazenamento são proteínas geradas principalmente durante a produção da semente e estocada para servir como fonte de nitrogênio para o desenvolvimento durante a germinação, podendo se combinar com o amido. As proteases exógenas podem potencializar a atuação de proteases endógenas e ajudar a quebrar essas proteínas, liberando amido de alta energia que pode então ser digerido pelo animal, exercendo importância também quando a proteína dos ingredientes possui baixa qualidade.

Os dois principais antinutrientes proteicos presentes no farelo de soja são inibidores de tripsina e lectinas. Os inibidores da tripsina são encontrados nas proteínas vegetais cruas, como o grão de soja. Como o nome diz, eles podem inibir a digestão proteica ao bloquear a enzima tripsina, que é secretada pelo pâncreas e efetua a quebra das proteínas no intestino delgado. As lectinas são proteínas que se ligam aos açúcares. A presença destes antinutrientes no farelo de soja depende da qualidade do processamento, por isso, enquanto a tostagem da soja é uma prática comum para reduzir os inibidores da tripsina e as lectinas durante o

processamento, o calor excessivo reduz a disponibilidade de aminoácidos, principalmente de lisina. Para não prejudicar o perfil aminoacídico das dietas, as rações com grãos de soja adequadamente processados contêm níveis de inibidores de tripsina e lectinas residuais. As proteases podem ser utilizadas para reduzir os níveis de inibidores de tripsina e lectinas, e assim, melhorar a digestibilidade proteica e contribuir para que melhores resultados sejam alcançados na produção avícola.

### 3. FONTES DE ENZIMAS

A maioria das enzimas comercialmente disponíveis no mercado são obtidas por sistemas de fermentação otimizada com o uso de bactérias ou fungos geneticamente modificados. Estes microrganismos têm sido manipulados para produzir altas concentrações da enzima de interesse, e geralmente produzem entre 50 e 100 gramas da enzima ativa por litro do caldo de fermentação, resultando em um produto que contribui com a rentabilidade de sua produção. Alguns exemplos de tais microrganismos incluem *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Escherichia coli*, *Bacillus licheniformis*, e *Pichia pastoris*. Após a fermentação, uma série de passos de purificação são seguidos, para garantir que nenhum DNA geneticamente recombinado seja detectado no produto final, e que qualquer resíduo da fermentação tenha sido eliminado. A proteína ativa é então formulada para estabilidade, utilizando componentes como sorbitol e NaCl para melhorar a estabilidade no armazenamento e conferir características gerais do produto. A tolerância térmica pode ser adquirida pelo uso de algumas técnicas de revestimento, obtendo um produto final granulado. As enzimas de uso na nutrição animal são frequentemente oferecidas no mercado em uma variedade de concentração, e na forma líquida (para aplicação pós-peletização) ou seca (ADEOLA & COWIESON, 2011).

No caso da produção de proteases exógenas, elas podem ser de três origens: vegetal, animal ou microbiana. As de origem vegetal requerem muito espaço e tempo para o plantio de espécies vegetais e o tempo para o desenvolvimento total da planta sadia. Algumas proteases de origem vegetal são papaína, bromelaína, queratinases e ficinas (RAO, 1998). As proteases de origem animal também requerem grandes quantidades de animais abatidos para sua produção. As principais proteases deste tipo são a tripsina pancreática, quimiotripsina, pepsina e quimosina (RAO, 1998). As proteases de origem microbiana representam a principal fonte (40% do total das proteases comercializadas) devido à sua ampla diversidade bioquímica. De maneira geral, os microrganismos são preferidos frente a outras fontes de proteases devido ao seu rápido crescimento, ao pequeno espaço requerido para seu cultivo (RAO, 1998) e à grande variedade de atividades catalíticas que dispõem.

Proteases microbianas têm sido a principal fonte exógena por serem mais estáveis que as homólogas de plantas e animais e o seu processo de produção é mais fácil e seguro (WISEMAN, 1991). Em geral, as enzimas fúngicas possuem um pH ótimo ácido ou neutro, sendo termolábeis, enquanto as proteases bacterianas possuem pH ótimo alcalino ou neutro, sendo com frequência termoestáveis (WISEMAN, 1991). A grande maioria das proteases

comerciais são produzidas por organismos pertencentes ao gênero *Bacillus*, principalmente pela sua facilidade de adaptação e crescimento tanto em meios complexos quanto sintéticos (TAKAMI et al., 1989). As proteases bacterianas, também, parecem ser mais efetivas em neutralizar inibidores de tripsina do que as proteases fúngicas (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001).

A fitase obtida através de processos bacterianos tem melhorado a utilização do fósforo liberado do complexo fósforo-fitato pelas aves. A atividade no trato gastrointestinal da fitase de origem vegetal é menor em relação à fitase microbiana, e isso ocorre devido ao espectro ótimo de pH a qual a enzima é submetida (EECKHOUT & DE PAEPE, 1991). Em pH ácido, a fitase vegetal sofre forte desnaturação e é mais suscetível à digestão proteolítica do que as fitases microbianas (PHILLIPPY, 1999). A fitase microbiana é encontrada em diversas bactérias, fungos e leveduras (HARLAND & MORRIS, 1995). O primeiro estudo que relatou a relação entre a hidrólise do fósforo fítico através do uso de uma fitase microbiana foi Nelson *et al.* (1971), utilizando dietas à base de milho e soja, contendo preparados de *Aspergillus*.

A amilase exógena também é produzida por vários fungos e bactérias, principalmente do gênero *Aspergillus* e *Bacillus*, respectivamente. As alfa-amilases fúngicas possuem muitas aplicações na indústria, desde panificadoras, sucos de frutas e bebidas alcoólicas, bem como aditivos na produção animal. Estas amilases possuem alta eficiência quando comparadas com amilases bacterianas. A espécie *A. oryzae* possui um eficiente sistema de secreção proteica, e é utilizada extensivamente na produção de enzimas industriais, pois sua produção é facilmente obtida através de técnicas baratas, simples e rápidas, com substratos igualmente acessíveis, que geralmente são subprodutos de indústria alimentícia e agropecuária, como óleos de coco, amendoim, gergelim, farelo de trigo, bagaço de mandioca, farelo de arroz, utilizando a técnica de fermentação em estado sólido (SIVARAMAKRISHNAN et al., 2007).

O microrganismo mais versátil na produção de carboidrases e metabólitos de interesse comercial tem sido o fungo do gênero *Trichoderma*, Ascomiceto com atividade celulósica, encontrado em qualquer material vegetal em decomposição do mundo, bem como na rizosfera das plantas. Com técnicas de biotecnologia, é possível obter produtos de sua fermentação que vão desde a indústria de bebidas, como a cerveja, até a produção de suco de frutas, biocombustíveis e alimentação animal. Estes microrganismos têm tido suas características extensivamente estudadas, resultando em conhecimento sobre distribuição, filogenia, mecanismos de defesa, interações com o hospedeiro, produção e secreção enzimática, desenvolvimento sexual e resposta às condições ambientais, rendendo a este gênero o título de

fungo mais estudado. A procura por potentes enzimas com atividade celulósica levou à descoberta e isolamento deste fungo de fontes inesperadas, como algumas espécies de baratas (*Supuella longipalpa*), mexilhões e moluscos. Nos anos recentes, a pesquisa com o *Trichoderma* tem sido significativamente facilitada pelo sequenciamento do genoma de três cepas. Pesquisas relevaram que o *T. reesei*, apesar de sua importância na produção industrial de celulase, tem no seu genoma a menor quantidade de genes que codificam a produção de enzimas celulósicas e hemicelulósicas. Atualmente, essa espécie se constitui como a mais importante do gênero para a produção com fins industriais (SCHUSTER & SCHMOLL, 2010).

Produtos contendo mais de uma atividade enzimática são chamados de complexos, pois são originados a partir de fermentação com um microrganismo original, ou então misturas ou *blends* enzimáticos, obtidas a partir da fermentação de vários microrganismos. Entretanto, produtos mono-componentes, os quais possuem apenas uma atividade enzimática, tem sido bastante explorados atualmente. Cada vez mais enzimas mono-componentes tem sido utilizadas na avicultura industrial, pois as diferentes classes de enzimas hidrolisam diferentes substratos e geram diferentes produtos, assim são esperados maiores aumentos na digestibilidade do amido, proteína/aminoácidos, gordura e fósforo, podendo gerar um conseqüente acúmulo em ganho energético. Por fim, as enzimas mono-componentes que degradam diferentes substratos não competem entre si por substratos, portanto elas tendem a sobrepor seus resultados em digestibilidade de nutrientes, utilização de energia e desempenho animal, o que gera benefícios para a produção avícola.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O conhecimento acerca dos benefícios da utilização de enzimas exógenas na nutrição animal já é amplamente difundido pela comunidade acadêmica, bem como pela indústria avícola. Atualmente, a utilização da fitase na formulação de dietas vegetais já está bem consolidada e já se utilizam algumas enzimas isoladas ou combinações enzimáticas contendo carboidrases e proteases. Contudo, alguns resultados ainda são variáveis e, portanto, maiores esforços devem ser empregados a fim de se conhecer precisamente as interações entre diferentes enzimas e sua atuação no trato gastrointestinal das aves.

O número crescente de artigos científicos e publicações relacionadas a enzimas na alimentação animal claramente demonstra que esta é uma área de grande interesse para cientistas e nutricionistas; entretanto, o conhecimento dos diferentes substratos disponíveis nas rações e como eles interagem dependendo da escolha dos ingredientes não tem recebido o mesmo nível de atenção. Dessa forma, pesquisas direcionadas à compreensão da atuação das diferentes enzimas de acordo com seus substratos e a variação existente entre os ingredientes, juntamente com a utilização da biotecnologia que permite a produção de enzimas cada vez mais estáveis e eficazes, e a realização de mais estudos sobre a digestibilidade de nutrientes e a utilização da energia em dietas para frangos de corte permitirão alcançar resultados expressivos e cada vez mais consistentes para o segmento avícola.

## 5. REFERÊNCIAS

ABPA. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. *História da avicultura no Brasil*. Disponível em:

<[http://www.ubabef.com.br/a\\_avicultura\\_brasileira/historia\\_da\\_avicultura\\_no\\_brasil](http://www.ubabef.com.br/a_avicultura_brasileira/historia_da_avicultura_no_brasil)>

Acesso em: 10 jun. 2015

ADEOLA, O; COWIESON, A.J. *Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production*. **Journal of Animal Science**, v.89, p.3189-3218, 2011.

ANGEL, R.; SORBARA, J.O.B. *Why is it important to understand substrates if we are to optimize exogenous enzyme efficacy?* **Poultry Science**, v.93, p.2375-2379, 2014.

ANGEL, R.; TAMIM, N.M; APPLGATE, T.J.; DHANDU, A.S.; ELLESTAD, L.E. *Phytic acid chemistry: Influence on phytinphosphorus availability and phytase efficacy*. **Journal of Applied Poultry Research**, v.11, p.471-480, 2002.

BACH, K.K.E. *Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding*. **Animal Feed Science and Technology**, v.67, p.319-338, 1997.

BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. *Enzymes in farm animal nutrition*. **Oxfordshire: UK**, 2001. 407 p.

CHOCT, M.; ANNISON, G. *Anti-nutritive activity of wheat pentosans in broiler diets*. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.31, p.811-821, 1990.

COSTA, F.G.P.; BRANDÃO, P.A.; BRANDÃO, J.S.; SILVA, J.H.V. *Efeito da enzima fitase nas rações de frangos de corte, durante as fases pré-inicial e inicial*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.3, p.865-870, 2007.

COWIESON, A.J.; ADEOLA, O. *Carbohydrases, proteases and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks*. **Poultry Science**, v.84, n.12, p.1860-1867, 2005.

EECKHOUT, W.; DE PAEPE, M. *The quantitative effects of an industrial microbial phytase and wheat phytase on the apparent phosphorus absorbability of a mixed feed by piglets*. **Medical Faculty Landbouw Rijksuniv**, v.56, p.1643-1674, 1991.

HARLAND, B.F.; MORRIS, E.R. *Phytate: a good or a bad food component*. **Nutrition Research**, v.15, p.733-754, 1995.

JOHNVESLY, B.; NAIK, G.R. *Studies on production of thermostable alkaline protease from thermophilic and alkaliphilic *Bacillus* sp. JB-99 in a chemically defined medium*. **Process Biochemistry**, London, v.37, p.139-144, 2001.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. *Lehninger principles of biochemistry*. 3. Ed. New York: **Worth Publishers**, p.1152, 2000.

LEMME, A.; RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W.L. *Ileal digestibility of amino acids in feed ingredients for broilers*. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v.60, p.423-437, 2004.

LIMA, A.C.F.; MACARI, M.; PIZAURO, J.M.; MALHEIROS, E.B. *Atividade enzimática pancreática de frangos de corte alimentados com dietas contendo enzima ou probiótico*. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4, n.3, p.187-193, 2002.

McKNIGHT, W.F. *Technical specifications and properties of phytase*. In: **BASF Technical Symposium**. 5., 1996. Ithaca. Anais... Ithaca: BASF, 1996. p.1-15.

NAVES, L.P. *Atividade de fitases microbianas em diferentes condições de armazenamentos, pH, temperatura, e processamento térmico*. Dissertação de Mestrado. **Universidade Federal de Lavras**, 2009.

NELSON, T.S.; SHIEH, T.J.; WODZINSKI, R.J.; WARE, J.H. *Effect of supplemental phytase on the utilization of phytase phosphorus by chicks*. **Journal of Nutrition**, v.101, p.1289-1293, 1971.

NIR, I.; NITSAN, Z.; MAHAGNA, M. *Comparative growth and development of the digestive organs and of some enzymes in broiler and egg type chicks after hatching*. **British Poultry Science**, London, v.34, p.523-532, 1993.

PHILLIPPY, B.Q. *Susceptibility of wheat and Aspergillus niger phytases to inactivation by gastrointestinal enzymes*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.1385-1388, 1999.

RAO, M.B. *Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.62, n.3, p.597-635, 1998.

ROSA, A.P.; UTTAPATEL, R. *Uso de enzimas nas dietas para frangos de corte*. In: **Simpósio Brasil Sul de Avicultura**. 8., 2007, Chapecó. Anais... Chapecó. 2007.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. UFV: Viçosa, 2011. p.186.

ROTTER, B.A. *The future of crude enzyme supplements in pig nutrition*. **Pig News and Information**, v.11, n.1, p.15-17, 1990.

RUNHO, R.C.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; LOPES, P.S.; POZZA, P.C. *Exigência de fósforo disponível para frangos de corte machos e fêmeas de 1 a 21 dias de idade*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.187-196, 2001.

SCHUSTER, A; SCHMOLL, M. *Biology and biotechnology of Trichoderma*. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.87, p.787-799, 2010.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S.P.; CHAVEZ, E.R. *Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: a review*. **World's Poultry Science Journal**, Wallingford, v.54, n.1, p.27-47, 1998.

SILVA, H.O. *Efeito da fitase sobre a excreção e teor de minerais nos ossos de suínos na fase de crescimento*. **Agropecuária Técnica**, v.26, p.54-59, 2005.

SIVARAMAKRISHNAN, S.; GANGADHARAN, D.; NAMPOOTHIRI, K.M.; SOCCOL, C.R.; PANDEY, A. *Alpha amylase production by *Aspergillus oryzae* employing solid-state fermentation*. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v.66, p.621-626, 2007.

SLOMINSKI, B.A. *Recent advances in research on enzymes for poultry diets*. **Poultry Science**, v.90, p.2013-2023, 2011.

SORBARA, J.O.B. *Enzymatic Programs for Broilers*. **Brazilian archives of biology and technology**, v.52, p.233-240, 2009.

SOTO-SALANOVA, M.F. *Uso de enzimas em dietas de milho e soja para frangos de corte*. In: **Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola**. 1996. Campinas. Anais... Campinas: FACTA, 1996. p.71-76.

TAKAMI, H.; AKIBA, T.; HORIKISHI, K. *Production of extremely thermostable alkaline protease from *Bacillus* sp.* **Applied Microbiology Biotechnology**, v.34, p.157-162, 1990.

THYS, R.C.S. *Produção, caracterização, purificação e aplicação de uma protease produzida pelo microrganismo *Microbacterium* sp. kr10, 2004, 114f*. Dissertação de Mestrado. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2004.

WISEMAN, A. *Manual de biotecnologia de los enzimas*. **Zaragoza: Acribia**, 1991. 444p.

YU, S.; COWIESON, A.; GILBER, C.; PLUMSTEAD, P.; DALSGAAR, S. *Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP 1-5) including IP5 isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin*. **Journal of Animal Science**, v.90, p.1824-1832, 2012.

ZENG, Y.; KO, T.; LAI, H.; CHENG, Y.; WU, T.; MA, Y.; CHEN, C.; YANG, C.; GUO, R.; LIU, J. *Crystal structures of *Bacillus* Alkaline Phytase in complex with divalent metal ions and inositol hexasulfate*. **Journal of Molecular Biology**, v.409, p.214/224, 2011.