

Artigo Número 27

**UTILIZAÇÃO DE ENZIMAS NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL**

Evandro Campestrini<sup>1</sup>; Vagner Thiago Mozer da Silva<sup>2</sup>; Matias Djalma Appelt<sup>2</sup>

**Introdução**

Segundo o decreto lei nº. 76.896 de 06 de janeiro de 1976, atualmente em vigor, define-se como aditivo alimentar toda a substância intencionalmente adicionada ao alimento, com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar as suas propriedades, desde que não prejudique o seu valor nutricional.

Os aditivos enzimáticos não possuem função nutricional direta, mas auxiliam o processo digestivo melhorando a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta.

Enzimas são proteínas globulares, de estrutura terciária e quaternária, que agem como catalisadores biológicos, aumentando a velocidade das reações químicas no organismo, sem serem, elas próprias alteradas neste processo (Champe & Harvery, 1989). São altamente específicas para os substratos e dirigem todos os eventos metabólicos. As enzimas digestivas têm um sítio ativo que permite que elas atuem na ruptura de uma determinada ligação química (Penz Júnior, 1998), sob condições favoráveis de temperatura, pH e umidade.

Esses aditivos alimentares têm sido incorporados aos alimentos dos animais com o propósito de melhorar o seu desempenho e com isso a sua rentabilidade. Até hoje, somente uma fração dos componentes das dietas animais são suplementados com estes aditivos. Esta situação deverá mudar rapidamente assim que o desenvolvimento de novas enzimas alimentares ou novas formas de aplicação desses produtos progredirem (Cousins, 1999).

De acordo com a sua finalidade, as enzimas usadas em rações animais podem ser divididas em dois tipos: 1) enzimas destinadas a complementar quantitativamente as próprias enzimas digestórias endógenas dos animais (proteases, amilases, fitases) e 2) enzimas que esses animais não podem sintetizar e/ou sintetizam em pequenas proporções ( $\beta$ -glucanases, pentosanas, e  $\alpha$ -galactosidases).

Segundo Guenter (2002), as principais metas da suplementação enzimática para os animais são:

- Remover ou destruir os fatores antinutricionais dos grãos;
- Aumentar a digestibilidade total da ração;
- Potencializar a ação das enzimas endógenas e;
- Diminuir a poluição ambiental causada por nutrientes excretados nas fezes.
- 

É comum o uso de alimentos protéicos nas rações contendo grande quantidade de fatores antinutricionais e constituintes de baixa digestibilidade (Charlton, 1996). A soja, ao contrário do que se pensava, possui quantidade apreciável de polissacarídeos não amiláceos (PNA's) (Ward e Fodge, 1996) na forma de pectinas, hemiceluloses e oligossacarídeos (rafinose e estaquiase) (Charlton, 1996). Além desses PNA's, fatores antinutricionais como inibidores de proteases e lectinas estão amplamente distribuídos na soja e não podem ser degradados pelo sistema digestório dos monogástricos, principalmente aves e suínos.

<sup>1</sup> Mestrando em Zootecnia – Nutrição de Monogástricos – Universidade Estadual de Maringá – UEM.

<sup>2</sup> Graduandos em Zootecnia – Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE

As enzimas exógenas caracterizam-se por aumentar a disponibilidade de polissacarídeos de reserva, gorduras e proteínas, protegidas da atividade digestória, pelos polissacarídeos da parede celular, além de minimizar os efeitos negativos provocados pelos fatores antinutricionais presentes nos diversos ingredientes e otimizar a atividade enzimática endógena, principalmente em animais jovens que possuem um sistema enzimático imaturo.

Trabalhos recentes têm demonstrado respostas positivas quanto a digestibilidade de nutrientes e ao desempenho de suínos e aves alimentados com rações à base de milho e soja, quando estas foram suplementadas com enzimas, como carboidrases, proteases, pectinases e alfa-galactosidase, portanto, o uso de enzimas na alimentação animal pode aumentar a eficiência de produção.

### **Enzimas e suas características**

Todas as enzimas são proteínas, possuindo as estruturas protéicas primária, secundária, terciária e quaternária, que são essenciais para o exercício da atividade catalítica. Esta atividade catalítica depende, portanto, da integridade da sua conformação protéica nativa, sendo que, geralmente esta atividade é perdida caso a enzima seja desnaturada ou dissociada em subunidades (Vieira, 2003).

#### ***Substrato dependente***

A secreção enzimática é ativada pela presença do substrato ao qual será responsável pela digestão. Cada enzima é, em algum grau, específica para certo substrato, apresentando estrutura espacial adequada para atuar neste substrato. Por exemplo, a quimiotripsina catalisa especificamente a hidrólise das ligações peptídicas, nas quais o grupo carbonila pertence a um resíduo de fenilalanina, tirosina ou triptofano.

#### ***Sítio ativo***

A característica distintiva de uma reação catalisada enzimaticamente é que ela ocorre no interior dos limites de uma cavidade, ou fenda, na estrutura molecular da enzima chamada de sítio ativo. Este sítio ativo que contém aminoácidos cujas cadeias laterais criam uma superfície complementar ao substrato, permitindo que as enzimas atuem na ruptura de uma determinada ligação química. O sítio ativo liga-se ao substrato, formando um complexo enzima-substrato que será convertido à enzima e produto.

#### ***Temperatura***

Quando a temperatura aumenta, a velocidade da reação inicialmente aumenta em virtude da energia cinética aumentada das moléculas com o substrato. Em temperaturas ótimas, a velocidade de destruição das enzimas pelo calor é equilibrada pelo aumento na reatividade enzima-substrato e a velocidade de reação é máxima. Temperaturas excessivas têm efeitos letais nas estruturas das enzimas. A peletização das dietas com temperaturas acima de 75°C desnatura as enzimas. Neste caso, deverão ser adicionadas à dieta após o processo de peletização. As enzimas possuem uma temperatura ou uma faixa de temperatura ótima, no qual a sua atividade é máxima, sendo que em valores de temperatura maiores ou menores sua atividade diminui.

#### ***pH***

A concentração de H<sup>+</sup> afeta a velocidade das reações químicas. Extremos de pH podem levar a desnaturação das enzimas. O pH ótimo varia para diferentes enzimas. Por exemplo, a pepsina digestiva do estômago, é ativada em pH 2, enquanto que outras

enzimas, destinadas a funcionarem em pH neutro, são desnaturadas neste pH ácido, devendo ser protegidas ao passar pelo estômago. Portanto, as enzimas possuem um pH ótimo ou uma faixa de pH ideal para que possam desenvolver sua atividade catalítica, sendo que em valores de pH superior ou inferior podem suprimir ou desnaturar as enzimas.

### ***Não são consumidas nas reações que catalisam***

Qualquer que seja o mecanismo catalítico de uma reação, uma vez que as moléculas de substratos tenham reagido, a enzima separa-se dos produtos, liberando a molécula de enzima para novas reações. Portanto, as enzimas não são consumidas nas reações que catalisam.

As enzimas podem aumentar a velocidade de uma reação por diminuir a energia de ativação da mesma, sem alterar a termodinâmica da reação. A velocidade da reação reflete a energia de ativação, ou seja, uma energia de ativação alta corresponde a uma reação lenta.

Todas as enzimas empregadas na nutrição animal são hidrolases, que são usadas diretamente como aditivos alimentares, com o objetivo de suplementar a atividade digestiva endógena do animal hospedeiro, incluindo proteases e amilases.

As enzimas atuam na remoção dos fatores antinutricionais, tornando certos nutrientes disponíveis para absorção e também aumentando o valor energético de ingredientes mais baratos (Walsh et al., 1993).

### **Secreção enzimática endógena**

Os suínos apresentam deficiência de certas enzimas nas primeiras semanas de idade, pois dispõem de um único substrato que é o leite. Em aleitamento, possuem a lactase como enzima fundamental para a digestão de açúcar, pois este é o glicídio disponível no leite. Na fase pós desmama (que poderá iniciar com 16 a 17 dias ou menos no desmame precoce ou 21 dias no desmame tradicional), dependendo do tipo de alimentação sólida que o animal recebeu durante a lactação (ração), ele poderá necessitar de alguns dias para ter as enzimas amilase, maltase e sacarase disponíveis em quantidades adequadas. Estas enzimas são responsáveis pela digestão do amido, e dos dissacarídeos maltose (glicose-glicose) e sacarose (glicose-frutose). O mesmo ocorre com a secreção de lipase e de protease, que também dependem dos substratos para a sua ativação.

Na natureza, o leitão consome leite até cerca dos 60 dias de idade, quando ocorrerá o desmame natural pela falta de leite da mãe. Nas criações industriais e intensivas, com o intuito de obter alta produtividade, o desmame ocorre ainda com o leitão imaturo fisiologicamente, com produção muito pequena de enzimas, com exceção da lipase. Para contornar este problema, devem ser administradas dietas altamente digestíveis ou até pré-digeridas e/ou suplementadas com enzimas exógenas, visto que nesta fase de vida do leitão a produção de enzimas é insuficiente.

No caso das aves, este fenômeno também ocorre. Os pintos ao eclodirem não dispõem de enzimas que digerem os glicídios e os lipídios. Eles já dispõem de proteases, pois estas são ativadas por proteínas que entram no trato digestório ainda durante a fase embrionária, confirmando o conceito de estímulo de secreções pelo substrato.

Uma melhoria na eficiência alimentar das aves tem sido demonstrada com a adição de enzimas Lipase, que têm a capacidade de aumentar a digestão das gorduras em uma grande variedade de alimentos.

Pugh (1993), citado por Garcia (1998), relata que a suplementação com lipase pode ser eficiente, principalmente em dietas iniciais, pois os animais jovens possuem um

sistema enzimático imaturo e conseqüentemente possuem uma baixa eficiência em digerir gorduras.

Na determinação de secreção de algumas enzimas e componentes biliares no duodeno de frangos de 4 a 21 dias de idade, Noy e Sklan (1995), citados por Garcia (1998), verificaram que as secreções de lipase, tripsina e amilase aumentavam de 20 a 100 vezes neste período, entretanto, a atividade da lipase aumentava mais lentamente quando comparada com a atividade das outras enzimas, sugerindo que a atividade da lipase pancreática pode ser um fator limitante na digestão em aves jovens. Portanto, vários experimentos foram realizados e demonstraram que a adição de lipase nas dietas tem efeitos benéficos no desempenho de frangos de corte, promovendo uma redução na energia fecal e aumentando os valores de Energia Metabolizável Aparente (EMA).

Existe, porém, enzimas que não são secretadas mesmo na presença de substratos. Entre elas estão a celulase, hemicelulase, xilanases, fitases e outras. Elas não são secretadas porque o código genético dos monogástricos não dispõe da indicação para sua síntese. Segundo Baldwin (1970) citado por Penz Junior (1998), a lógica para um organismo ter em seu código genético a possibilidade da produção de determinada substância está ligada com a real necessidade de produzi-la, seja porque o meio não a proporciona ou porque o substrato não está disponível para ser utilizado. No caso, esta teoria é questionada, pois os polissacarídeos não amiláceos (PNA) e a fitina estão disponíveis em vários grãos ingeridos pelos não-ruminantes, que não produzem enzimas para digerir estes componentes vegetais.

A inclusão de enzimas digestivas exógenas nas dietas de aves reduz a síntese de enzimas endógenas. Em conseqüência, o organismo teria a disposição mais aminoácidos para a síntese protéica. Segundo Garcia, citado por Zanella et al. (1999), em situações normais, cerca de 25% das necessidades diárias de Nitrogênio podem ser destinadas para a síntese de enzimas endógenas. Os autores observaram que a tripsina, quimiotripsina, lípase e  $\alpha$ -amilase, tiveram uma redução de 40% da secreção duodenal quando as dietas foram suplementadas com enzimas exógenas.

Zanella (1999) verificou em seu trabalho que a suplementação de amilase e protease na dieta a base de milho e soja para frangos de corte, reduziu a síntese destas enzimas endógenas em 23,4 e 35,5% respectivamente.

Supõe-se que a secreção de enzimas pancreáticas seja afetada pela concentração de enzimas no intestino delgado e/ou substratos ou produtos de hidrólise.

### **Por que adicionar enzimas às dietas**

Existem inúmeras justificativas para a adição de enzimas exógenas nas dietas dos animais. Entre elas está a possibilidade de empregar ingredientes que possuem nutrientes pouco disponíveis aos animais (farelos de arroz e trigo, grãos de trigo, centeio, cevada e aveia), pelo fato dos animais não terem enzimas para a sua digestão. É o caso dos ingredientes ricos em PNA e em fósforo fítico.

Eliminar efeitos negativos de fatores antinutricionais (fatores antinutricionais são aqueles gerados nos alimentos *in natura*, pelo metabolismo normal da espécie da qual o material se origina, e, por mecanismos diferentes como decomposição ou inativação de alguns nutrientes, diminuição digestiva ou metabólica do alimento, exercendo efeito contrário à nutrição adequada). Os fatores antinutricionais não são tóxicos para os animais, mas sua presença nos alimentos causa crescimento reduzido, piora na conversão alimentar, alterações hormonais e esporádicas lesões nos órgãos.

A poluição ambiental, pela excreção fecal de nitrogênio e fósforo, pode ser maior ou menor. Depende da capacidade de utilização desses nutrientes, pelos animais, que é diminuída com a adição de enzimas exógenas.

As aves são animais onívoros e, portanto, não estão aptas a digerirem carboidratos não amídicos, como os presentes na fibra solúvel e insolúvel. Assim, muitos ingredientes vegetais usualmente utilizados nas dietas das aves apresentam valores de digestibilidade muito inferiores, quando administrados às aves em comparação com animais com superior capacidade fermentativa, caso dos suínos. A melhora da capacidade digestiva das aves, através do uso de enzimas suplementares, apresenta-se como uma alternativa séria para não só melhorar o desempenho animal, mas também como forma de reduzir a quantidade de excretas produzidas, o que reduz o potencial contaminante do ambiente de produção e, portanto, passa a ser uma alternativa a ser considerada para atenuar os efeitos da remoção dos promotores de crescimento (Vieira, 2003).

Os carboidratos presentes no farelo de soja têm baixa digestibilidade e podem ser mais ou menos complexos. A principal característica destes é a quase ausência de amido e o fato de que os demais carboidratos são de baixa digestibilidade pelas aves. Desta forma, enzimas que tenham capacidade de mobilizar, pelo menos parcialmente, estes componentes, agregarão um enorme valor ao farelo de soja (Vieira, 2003).

Dentre os cereais, aqueles que têm maiores proporções de baixa digestibilidade são os chamados cereais de inverno. Milho e sorgo, os cereais de verão mais utilizados em rações para aves, não apresentam grandes frações de baixa digestibilidade. Uma ressalva pode ser feita ao sorgo, com alto teor de tanino (>1%) o qual tem reduzido valor energético.

Os cereais de inverno com maior utilização nas dietas de aves e suínos são o trigo e a cevada. Estes grãos possuem, entretanto, limitações na digestibilidade da energia, devido à presença de beta-glucanos na cevada e de xilanas no trigo e centeio (Ward & Marquardt, 1987). Estes componentes reduzem muito a digestibilidade de vários nutrientes presentes nestes grãos, além de acentuarem a viscosidade das excretas das aves, o que eventualmente leva a problemas de alteração da flora intestinal (Choct et al., 1996). Em ambos os casos a utilização de enzimas suplementares têm demonstrado a clara possibilidade de melhoras no valor nutritivo dos cereais de inverno (Choct, 2001.). O uso de beta-glucanases em dietas com cevada e de xilanases em dietas com trigo já são práticas correntes na Europa.

### **Produção de enzimas**

A biotecnologia moderna possibilita a produção industrial de enzimas específicas para certas áreas de aplicação. Para utilização na alimentação animal, no final da década de 1980, a produção de enzimas atingiu escala comercial. Diversos tipos de fungos, bactérias e leveduras podem produzir enzimas, por meio de técnicas de recombinação de DNA e mutações.

A fitase industrial é obtida através da recombinação gênica dos fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus ficum*. O produto é um pó e apresenta-se misturado ao farelo de trigo utilizado como veículo, que lhe dá a cor marrom claro. Apresenta uma atividade de 5000 unidades de fitase ativa (UFA/g).

A celulase é obtida através da extração da fermentação de *Trichoderma viride*. Tem atividade de 250 unidades de celulase ativa (UCA/g). Este produto também é um pó e é misturado ao amido de milho com corante amarelo.

Uma UFA é definida como uma quantidade de enzima que libera 1  $\mu$ mol de ortofosfato por minuto de uma solução a 0,0051 mol/l de fitato de sódio a uma temperatura de 37°C e pH 5,5. Já a UCA é definida como a quantidade de enzima que libera 1  $\mu$ mol de glicose em uma solução com 5% (peso/volume) de celulase em uma hora a pH 5,0 e 37°C (duas horas de incubação).

Segundo Zanella (2001), existem três grupos de enzimas disponíveis no mercado:

1. Enzimas para alimentos com baixa viscosidade (milho, sorgo e soja);
2. Enzimas para alimentos de alta viscosidade (trigo, centeio, cevada, aveia, triticale e farelo de arroz);
3. Enzimas para degradar o ácido fítico dos grãos vegetais.

### Modo de ação das enzimas exógenas

De acordo com Soto-Salanova (1996), os resultados de diversas pesquisas indicam que as enzimas exógenas apresentam quatro formas principais de atuação:

1. Provocando a ruptura das paredes celulares das fibras;
2. Reduzindo a viscosidade, devido à fibra solúvel, na digesta do intestino proximal;
3. Degradando as proteínas, por exemplo, do farelo de soja, reduzindo os efeitos dos fatores antinutricionais tais como os inibidores de proteases, e tornando-os mais disponíveis ao animal;
4. Suplementando a produção de enzimas endógenas do animal, cuja ação é mais importante em animais jovens.

### Fitase.

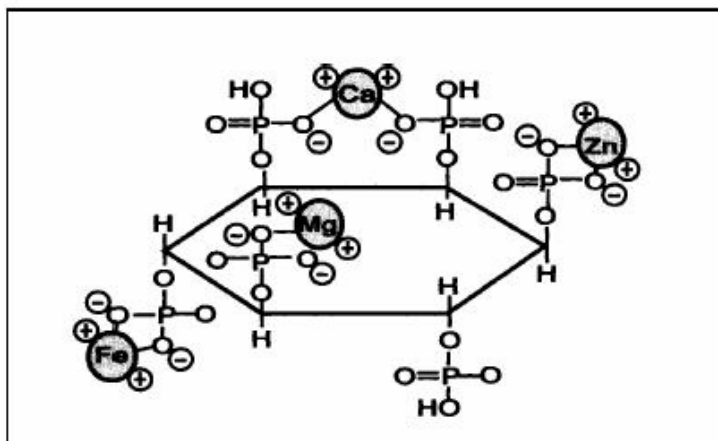
Já é bem conhecido que quantidades consideráveis de alguns nutrientes na ração não são utilizados e não são absorvidos pelas aves. Entre outros fatores, a disponibilidade de nutrientes pode ser influenciada pela formação de complexos naturais destes agentes. Este é particularmente o caso de cereais, sementes de oleaginosas e legumes que contêm fitatos. Conhecidos também como ácido fítico, ele é um complexo orgânico de armazenagem de fósforo nas plantas.

Uma solução para os efeitos negativos do fitato vem da natureza. A enzima fitase é produzida por muitas espécies de bactéria, fungos e leveduras e é capaz de eliminar as propriedades antinutricionais do fitato. Esta enzima em escala comercial é produzida por um número limitado de organismos, e o *Aspergillus* é um dos mais importantes. A fitase está sendo usada por vários anos para melhorar o aproveitamento do fósforo.

A fitase é uma fosfatase que hidrolisa um ou mais grupos fosfato do fitato. Sabe-se que a maior parte do fósforo (P) contido nos ingredientes de origem vegetal, que são os principais componentes das dietas de suínos e aves, está na forma de fitato. Por isso, considera-se que apenas 30% do P dos vegetais seja disponível para não-ruminantes. A indisponibilidade deve-se a quantidade de fósforo que está ligada à molécula de ácido fítico (Figura 6), ou ácido mio-inositol hexafosfórico, ou simplesmente fitato. O fitato, além de não disponibilizar o P, quelata cátions bivalentes como o Ca, Fe, Mg, Na, Cu, etc., conforme pode ser verificado na figura 7, e interfere na absorção de aminoácido e pode também inibir a atividade da tripsina e da pepsina. De acordo com COUSINS (1999), a interação entre fitatos e proteínas, aparentemente, se dá por uma ligação iônica que depende de condições de pH. Com pH baixo, o fitato forma ligações eletrostáticas com resíduos básicos, como a arginina, lisina e histidina resultando num complexo insolúvel. Quando o pH se aproxima do ponto isoelétrico, a carga da proteína é neutra e ela não irá se ligar ao fitato. Sob condições de pH básicas o fitato forma complexos com as proteínas na presença de cátions divalentes.

A presença de complexos fitato-proteína pode ter uma influência negativa na digestibilidade e absorção de proteínas e aminoácidos. Os fitatos também são conhecidos por inibir várias enzimas digestivas endógenas como pepsina, amilase ou tripsina. Estes efeitos são devidos, provavelmente, a natureza inespecífica dos complexos fitato-proteína ou a uma inibição devido ao efeito quelante dos íons de Ca, necessários para a atividade

destas enzimas endógenas. Resultados recentes demonstraram a formação de complexos fitato-proteína no intestino e uma interação entre aminoácidos livres e fitatos.



**Figura 1.** Esquema do ácido fítico quelatado com vários minerais bivalentes. Fonte: Cousins, 1999.

O conteúdo de fitato fosfórico em matéria-prima usada frequentemente em nutrição de aves é muito variável. A Tabela 1 apresenta o conteúdo de fitato fosfórico em vários ingredientes.

**Tabela 1.** Conteúdo de fitato P em diferentes ingredientes da ração.

Ingredientes	Fósforo Fítico (g/100g de MS)	Fósforo Fítico (% de Fósforo total)
Milho	0,24	72
Cevada	0,27	64
Trigo	0,27	69
Aveia	0,29	67
Sorgo	0,24	66
Milheto	0,19	70
Arroz	0,27	77
Arroz polido	0,09	51
Farinha de arroz	10,31	80
Farinha de trigo	0,92	71
Polimentos de arroz	20,42	89
Farelo de raiz de mandioca	0,04	28
Farelo de batata doce	0,05	24
Farelo de milho taro	0,09	24

Ravindran Brydenand Kornegay, 1995 (modificado).

O efeito de fitase microbiana em proteína/aminoácido pode ser considerado de interesse prático e atualmente necessita ser quantificado para capacitar sua inclusão em formulação de rações. Estudos têm demonstrado que, com a adição de fitase nas rações, ocorre uma melhora na utilização de aminoácidos e proteínas pelos animais.

Na literatura, é bastante comentado os efeitos negativos do fitato em fósforo, minerais, proteínas e aminoácidos em animais monogástricos e da capacidade da fitase

em liberar estes nutrientes ligados a fitatos. É de grande interesse no mundo científico como também em nível prático para formulação de rações (COUSINS, 1999).

A fitase é uma ferramenta para redução da suplementação de rações com fósforo inorgânico, proteína e energia.

O modo de ação da enzima fitase consiste no mecanismo de transferência do grupo fosfato do substrato para a enzima e da enzima para a água. O fitato a ser hidrolisado produz 5 classes de produtos intermediários (mio-inositol penta, tetra, tri, bi e monofosfato) e libera o fosfato inorgânico juntamente com o nutriente preso a sua estrutura para possível absorção.

A ação da fitase começa com a hidrólise do fosfato na posição 3, seguida de hidrólise nas posições 4, 5, 6 e depois na posição 1, enquanto o sexto grupo fosfato (na posição 2) não é hidrolisado pela fitase (Kies, 1996).

A absorção de fósforo é mais pronunciada no duodeno, por difusão ativa e passiva, na forma de fosfato inorgânico ou ortofosfato ( $PO_4^{-3}$ ), embora alguns fosfolipídios também possam ser hidrolisados.

As enzimas adicionadas nos alimentos secos são ativadas no trato digestivo quando são misturadas aos fluídos digestivos e sob temperatura do organismo. Sua ação máxima ocorre no estômago e porção inicial do intestino delgado isto é, no duodeno.

Nos últimos anos, os nutricionistas têm trabalhado para estabelecer as exigências dos suínos, em fósforo, com base ao fósforo disponível. Entretanto, vários são os fatores que influenciam os dados encontrados, como o estágio de maturação dos grãos, idade e estado fisiológico dos animais. Existem dados na literatura de valores estimados de disponibilidade biológica de fósforo em diferentes ingredientes (Tabela 2).

**Tabela 2.** Valores estimados de disponibilidade do fósforo de alguns ingredientes para suínos.

<b>Ingredientes</b>	<b>Média (%)</b>	<b>Amplitude (%)</b>
Fosfato bicálcico	100	-
Fosfato de rocha defluorinado	87	83 - 90
Trigo (grão)	50	40 - 56
Aveia	30	23 - 36
Sorgo (grão)	22	-
Farelo de soja	38	36 - 39
Farelo de trigo	35	-
Farelo de algodão	21	0 - 42
Milho (grão)	15	9 - 29

Trabalhando com suínos, Cromwell et al. (1996) citado por Penz Júnior et al. (1999), avaliaram a eficiência da adição de fitase (1250 UFA/kg) em dois experimentos de digestibilidade, com dois níveis de fósforo total das dietas subestimadas. Conforme dados apresentados na Tabela 3, a redução do fósforo total com a inclusão de fitase reduziu a excreção fecal, urinária e total de fósforo, sem interferência na retenção do mineral. Os autores observaram significativa redução total de fósforo excretado nas duas fases estudadas e um aumento da eficiência de retenção de fósforo. Na fase de crescimento a enzima promoveu um aumento na eficiência de retenção de 50% e na fase de terminação de 72%.



**Tabela 3.** Efeito da fitase no aproveitamento do fósforo da dieta de suínos.

Parâmetros		Experimento 1		Experimento 2	
		34 kg peso corporal		115 kg peso corporal	
		0,6% P	0,4% P + fitase	0,5% P	0,3% P + fitase
Consumo de P	g/d	9,5	6,7	15,3	9,1
P nas fezes	g/d	4,5	2,7	8,3	4,2
P na urina	g/d	1,6	0,4	2,7	0,5
P excretado	g/d	6,1	3,1	11,0	4,7
Retenção de P	g/d	3,4	3,6	4,3	4,4
Retenção de P	%	35,8	53,7	28,1	48,4

Adaptado de Cromwell et al. (1996).

### Complexos multienzimáticos

Os suínos secretam enzimas capazes de degradar as ligações  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6 ambas da glicose do amido, como também as ligações  $\alpha$ -1,2, entre frutose e glicose da sacarose, ligações  $\beta$ -1,4 entre glicose e galactose na lactose e as ligações  $\alpha$ -1,1 de glicose na treose.

Entretanto, os suínos e as aves não degradam os polissacarídeos não amiláceos (PNA) com a mesma facilidade que o amido. PNA são polímeros de açúcares simples, devido à natureza das cadeias de ligações das unidades de açúcares que são resistentes a hidrólise no trato gastrintestinal dos animais não-ruminantes. Os PNA fazem parte da parede celular e consistem principalmente de pentoses, rafinose, estaquiase e sacarose, encontradas nas sementes de oleaginosas,  $\beta$ -glucanos que se encontram em altas concentrações na cevada e aveia e pentosanas como as arabinoxilanas, que são encontradas no trigo, triticale e centeio. As sementes de oleaginosas, como a soja e a canola, os grãos de cereais com os seus respectivos subprodutos, tais como o trigo, cevada, aveia, centeio, triticale, farelos de arroz e de trigo, apresentam em sua composição bromatológica, constituintes que os animais não-ruminantes não digerem ou sua digestão é incompleta, como os PNA.

As principais enzimas para a degradação dos PNA são as xilanases, celulasas e as glucanases, que não são sintetizadas pelos não-ruminantes. As aves são capazes de produzir certas enzimas digestivas, como a amilase para digerir o amido e as proteases para digerir as proteínas, porém, elas não produzem as enzimas necessárias para a degradação da fibra, presente na maioria dos alimentos. A fibra dificulta a digestão, impedindo que as enzimas digestivas endógenas atinjam o substrato alvo dos alimentos.

Os  $\beta$ -glucanos e as pentosanas presentes nos grãos não são digeridas pelas aves, porém, se tornam solúveis durante o processo de digestão, produzindo aumento da viscosidade intestinal do quimo intestinal.

Polissacarídeos não-amiláceos (PNA's) existem em várias formas na natureza e são componentes da parede celular. Os motivos para as propriedades antinutricionais de PNA's são sua elevada capacidade de ligarem-se a grandes quantidades de água, resultando num aumento da viscosidade do conteúdo intestinal quando o alimento contendo PNA's for consumido.

Além da baixa digestibilidade, uma alta inclusão desses carboidratos pode causar um aumento da viscosidade intestinal e conseqüentemente reduzir a digestibilidade de outros componentes da dieta, comprometendo o desempenho dos animais (CONTE et al., 2003).

Em um ambiente viscoso, os nutrientes como as gorduras, amido e proteínas, se tornam menos acessíveis e disponíveis as enzimas endógenas. O resultado disto é uma

menor digestibilidade destes nutrientes. Além disso, viscosidade elevada deste bolo alimentar aumenta a quantidade de fezes úmidas.

Nestas dietas de alta viscosidade, as enzimas adicionadas atuam reduzindo a viscosidade da digesta, degradando os complexos e fibras solúveis responsáveis em causar a viscosidade. Ocorrerá otimização da digestão dos nutrientes, diminuição no consumo de água, e no índice de umidade da cama. Também, mediante a decomposição da fibra presente nas paredes celulares pela adição de enzimas, há uma facilitação ao acesso das enzimas endógenas aos nutrientes encapsulados dentro destas paredes ricas em fibra. A diminuição da viscosidade ocorre devido à degradação das arabinosilanas solúveis das paredes celulares dos grãos, otimizando assim a digestibilidade de todos os nutrientes. Para dietas a base de cereais de alta viscosidade como a cevada, centeio, trigo e triticale, geralmente os complexos enzimáticos são compostos por carboidrases (glucanases, amilases, silanases, arabinoxilanases, celulasas e hemicelulasas).

Para dietas de baixa viscosidade (milho, sorgo e soja) estão sendo pesquisadas enzimas para sua adição (amilase, protease, lipase e xilanases), visto que são os ingredientes mais utilizados nas condições brasileiras de produção animal e podem ter a digestibilidade melhorada. Soto-Salanova (1996) cita que estas enzimas já estão no mercado com resultados iniciais promissores, sendo que a adição destas enzimas poderá se tornar uma prática rotineira e com boa relação benefício/custo, como é o caso com dietas baseadas em trigo e cevada.

A baixa capacidade das aves em digerir os PNA's indica uma necessidade efetiva de enzimas suplementares adequadas, similares àquelas produzidas pela microflora, com o objetivo de maximizar o potencial dos PNA's, como fonte de energia e ao mesmo tempo minimizar as propriedades antinutricionais.

Enzimas de PNA's microbiano são usadas com sucesso há vários anos na indústria alimentar para redução de propriedades antinutricionais em dietas baseadas em cereais. O efeito positivo destas enzimas pode ser medido em termos de melhoria dos parâmetros de performance como ganho de peso ou taxa de conversão alimentar.

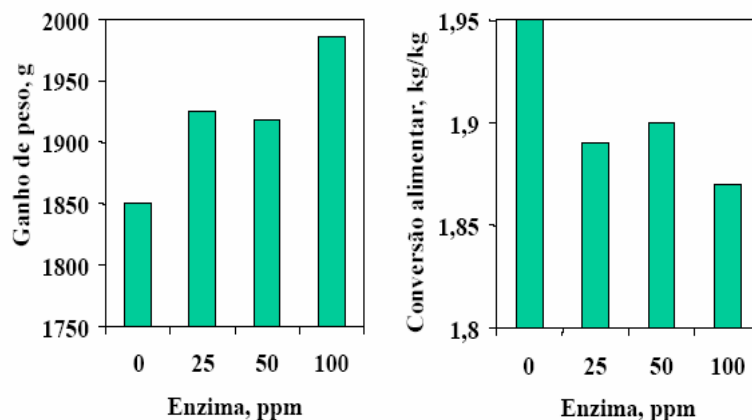
As enzimas carboidrases, entre elas a xilanase e a glucanase, também produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, têm sido usadas para hidrolisar os polissacarídeos não amiláceos, aumentando a digestibilidade de alimentos como a cevada, o trigo, o centeio, a aveia e o triticale (Conte et al., 2003).

A Figura 3 descreve o efeito de níveis graduais de preparados de xilanase e /ou glucanase em ganho de peso de taxa e conversão alimentar numa dieta de frangos contendo 45% de trigo (Heindl and Steinfeldt, 1999). A adição de 100 ppm do preparado enzimático melhorou o ganho de peso em 7.3% e taxa de conversão alimentar em 4.1% durante o período do dia 0 ao dia 42.

Normalmente, as enzimas comerciais usadas como aditivos não contém uma única enzima, mas ao contrário, são preparados enzimáticos contendo uma variedade de enzimas, o que é desejável, uma vez que as rações são compostas por vários ingredientes.

É importante ressaltar que nem sempre a suplementação de enzimas digestivas proporciona respostas positivas. Para uma enzima atuar, se faz necessário ter o substrato específico na dieta, dosagem correta de enzimas, capacidade das enzimas em ultrapassar barreiras encontradas no estômago, como o pH baixo e a ação das enzimas proteolíticas como a pepsina, a temperatura à qual a ração é submetida durante o processo de peletização.

As enzimas digestivas exógenas atuam da mesma forma que as endógenas, apresentando sítio ativo com a capacidade de atuar sobre um substrato específico, hidrolisando-o. Esta ação catalítica é específica e é determinada pelas estruturas primárias, secundárias, terciárias e quaternárias das enzimas, sendo que qualquer alteração na estabilidade das enzimas provoca uma alteração na sua estrutura e isto poderá provocar a perda de sua capacidade catalítica.



Heindl and Steinfeldt, 1999

**Figura 3.** Performance de frangos de corte alimentados de 0 a 42 dias de idade com uma dieta baseada em trigo com níveis graduais de suplementação de xilanases e glucanases.

### Poluição ambiental

Suínos e aves excretam mais da metade do fósforo e do nitrogênio que consomem. O uso de enzimas na ração das aves e suínos e outros animais domésticos, melhora a digestibilidade e disponibilidade de certos nutrientes para os animais, principalmente o fósforo, nitrogênio, cálcio, cobre e zinco, diminuindo a sua presença nas fezes e urina, e conseqüentemente, a sua deposição no meio ambiente.

A maior preocupação ocorre com o fósforo dos alimentos vegetais, que por estar ligado ao ácido fítico na forma de fitato, é pouco disponível aos animais monogástricos, pois estes não dispõem da enzima fitase para aproveitá-lo. Somente cerca de um terço do fósforo total destes alimentos é disponível para aves e suínos. A lixiviação do fósforo a partir de excretas de aves e outros animais domésticos para a água de superfície e lençóis é um grave problema de poluição ambiental, que pode ser minimizado com o uso de enzimas fitase exógena.

O fósforo e o nitrogênio são dois nutrientes limitantes para o crescimento das algas e, quando estes nutrientes alcançam os mananciais hídricos, provocam o aceleração da eutrofização e com isso, a poluição da água. Este fato é especialmente importante para regiões com grandes concentrações de criatórios de suínos e aves.

A morte e a deterioração destas algas diminui a quantidade de oxigênio na água, dificultando ou impedindo a vida neste ambiente. O nitrogênio pode transformar-se em nitrato, nitrito e amônia, que representam as principais substâncias poluentes do ar e das águas. Para amenizar este problema, estratégias nutricionais como formular dietas com base em nutrientes digestíveis (proteína ideal), alimentos processados, diminuir margens de segurança e utilizar enzimas exógenas são pertinentes.

### Enzimas para ruminantes

Cereais e forrageiras são degradados por uma mistura de microorganismos no rúmen, que incluem bactérias, fungos e protozoários. Espécies nessas populações possuem enzimas que degradam a parede celular das plantas: enzimas como as celulases, xilanases, e uma quantidade de enzimas que degradam as ramificações de

xilanas. As bactérias envolvidas na degradação das porções facilmente digestíveis da fibra são *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* e *R. flavefaciens*. O *F. succinogenes* e fungos degradam as porções menos digestíveis (EMBRAPA).

A manipulação de enzimas que digerem fibras poderia aumentar a taxa e extensão da digestão de forragem para ruminantes. Os métodos propostos incluem a suplementação direta de enzimas (celulases etc.) produzidas por fermentação em larga escala de *Aspergillus sp.* e *Trichoderma sp.* e a produção de fungos/bactérias ruminais contendo enzimas como xilanase e amilases.

Os trabalhos encontram-se ainda na fase inicial: Lewis, et al (1996) observaram aumento no desaparecimento da matéria seca e fibra detergente neutra, assim como aumento na digestibilidade total da matéria seca e fibra detergente neutra e ácida, em bovinos, recebendo dieta baseada em volumosos tratada com enzimas fibrolíticas. Alguns autores consideram que ruminantes adultos, provavelmente, não teriam melhor desempenho com o tratamento de grãos com enzimas, embora bezerros jovens pudessem ser beneficiados.

### Funções

- A) Melhorar e aumentar a conversão e eficiência alimentar para ruminantes, aumentando os índices de ganho de peso, crescimento, fertilidade e produção leiteira.
- B) Acelerar o desenvolvimento do rumem, antecipando o desmame.
- C) Obter uma maior eficiência alimentar com maior ganho de peso diário, melhorando a eficiência digestiva.
- D) Promover a adaptação rápida dos animais, quando há mudança alimentar por desmame, pastagens secas, brotações, entrada de animais no confinamento, semiconfinamento e mineral protéico.
- E) Prevenir a ocorrência de distúrbios gastrintestinais (diarréias).
- F) Aumentar a resistência do organismo naturalmente contra todos os tipos de infecções devido ao aumento da flora bacteriana normal com o uso de enzimas.
- G) Diminuir o consumo diário de matéria seca com melhor aproveitamento do alimento.

### Conclusão

O interesse no uso de enzimas, em rações para aves, tem aumentado devido ao custo cada vez maior das matérias-primas tradicionais e a busca por outros ingredientes alternativos como a cevada, aveia, arroz e trigo, entre outros.

A enzima também é considerada como uma forma de reduzir a contaminação ambiental com nutrientes nas excretas, tais como o fósforo, nitrogênio, cobre, zinco, etc. Além de aumentar a digestibilidade dos alimentos e o desempenho dos animais.

Embora nem sempre se observem benefícios no uso de enzimas, a maioria das pesquisas de alimentação de poedeiras, frangos de corte e suínos, indicam uma melhora na digestibilidade dos alimentos e no desempenho das aves e uma redução na quantidade de resíduos nas excretas.

Uma melhora significativa na digestibilidade dos alimentos obtida com o uso de enzimas nas dietas permite alterações nas formulações das rações de forma a minimizar o custo, maximizando o uso dos ingredientes energéticos e protéicos das rações, possibilitando o uso de ingredientes alternativos regionais de menor custo, em substituição ao milho e ao farelo de soja.

### Referências Bibliográficas

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. Enzimas. In: Bioquímica Ilustrada, 2 ed. São Paulo: Artes médicas, 1989. 446p. p53-66.

CHARLTON, P. Expanding enzyme application: higher amino acid and energy values for vegetable proteins. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 12, 1996, Nottingham. *Proceedings...* Nottingham: Nottingham University Press, 1996. p.317-326.

CHOCT, M., et al. Increased small intestinal fermentation is partially responsible for the anti-nutritive activity of non-starch polysaccharides in chickens. *British Poultry Science*, 37:609-621. 1996.

CHOCT., M. 2001. Enzyme supplementation of poultry diets based on viscous cereals. In: *Enzymes in farm animal nutrition*. M. R. Bedford and G. G. Partridge eds. CABI Publishing, New York, NY

CONTE, A.J., et al. Efeito da Fitase e Xilanase sobre o Desempenho e as características Ósseas de Frangos de Corte Alimentados com Dietas Contendo Farelo de Arroz. In: *R. Bras. Zootec.*, v.32, n.5, p.1147-1156, 2003.

COUSINS, Bart. Enzimas na nutrição de aves. In: *I Simpósio Internacional ACAV-Embrapa sobre Nutrição de Aves, 1999, Concórdia - SC. Anais...* Concórdia: 1999. 15p.

EMBRAPA. Uso de Aditivos na Dieta de Bovinos de Corte. In: <http://www.cnpqg.embrapa.br>: acessado em 9/09/2004.

GARCIA, E.R.M. Utilização de enzimas em rações com farelo de soja e soja integral extrusada para frangos de corte. Maringá, UEM, 1998, 59p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, UEM, 1998.

GUENTER, W. Practical experience with the use of enzymes. Capturado em 02 de setembro de 2004. Online. Disponível na Internet <http://www.idrc.ca/books/focus/821/chp6.html>.

HEINDL U; STEENFELDT S. Proc. Austalian Poultry Sci. Symposium, in press. 1999.

KEIS, A.K. Phytase: modo of action. In: Coelho, M.C.; Kornegay, E.T. Phytase in Animal Nutrition and Waste Management: BASF Reference Manual, 1996. New Jersey: BASF, 1996. p.205-212.

LEWIS, G. E.; HUNT, C. W.; SANCHEZ, W. K.; TREACHER, R.; PRITCHARD, G. T.; FENG, P. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 74, n. 12, p. 3020-3028, 1996.

PENZ JÚNIOR, A.M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 35, 1998, Botucatu-SP. p.165-178.

PENZ JÚNIOR, A.M.; MEINERZ, C.E.T.; MAGRO, N. Efeito da nutrição na quantidade e na qualidade dos dejetos de suínos. *Anais... Simpósio e Workshops. XXXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Porto Alegre/RS*, 343p. p.281-294, 1999.

SOTO-SALANOVA, M.F., et al. Uso de enzimas em dietas de milho e soja para frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Curitiba. *Anais... Curitiba: FACTA*, 1996, p71-76.

VIEIRA, Sergio L. Oportunidade para o uso de enzimas em dietas vegetarianas. IV SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 2003, Chapecó - SC. *Anais...Chapecó: 2003*. p91 - 95.

WALSH, G.A., et al. Enzymes in the animal feed industry. *Trends in Biotech.*, v.11, n.10, p946-957, 1993.

WARD, A. T. & MARQUARDT, R. R. 1987. Antinutritional activity of a water-soluble pentosanrich fraction from rye grain. *Poultry Science*, 66:1665-1674.

WARD, N.E., FODGE, D. 1996. Ingredients to counter antinutritional factors: soybean - based feeds need enzymes too. *Feed Management*, 47(10):13-18.

ZANELLA, I. Suplementação enzimática em dietas avícolas. *Anais... Pré-simpósio de Nutrição Animal, Santa Maria/RS*, 69p. p.37-49, 2001.

ZANELLA, I.; SOKOMURA. J.A.; PIZAURO. K.Z. et al. Efeito da adição de enzimas exógenas na dieta sobre a atividade enzimática da amilase e tripsina pancreática em frangos de corte. *Anais... Conferencia APINCO 99 de Ciência e Tecnologia Avícolas*, 92 p.45, São Paulo/SP, 1999.