

APLICAÇÃO E PONTOS CRÍTICOS NO USO DE ENZIMAS

EVERTON KRABBE

Embrapa Suínos e Aves – Concórdia, SC

1. Introdução

O Brasil tem importante participação mundial na produção de grãos e proteínas de origem animal. Milho e farelo de soja constituem as principais matérias primas em dietas de aves e suínos, determinando majoritariamente o custo das dietas e por consequência o custo da carcaça animal. Ao longo dos anos, muitos estudos foram conduzidos para um maior conhecimento das características nutricionais destes ingredientes. Entretanto, os fatores antinutricionais não foram estudados em profundidade, com exceção dos inibidores de tripsina em soja e derivados. Compostos como fitato, xilanos, glucanos e oligossacarídeos, embora estudados em cereais como trigo, cevada e outros predominantemente de clima frio, são pouco estudados em milho e farelo de soja e, em especial, com matérias-primas brasileiras.

É conhecido que fatores climáticos, genéticos e de cultivo são determinantes da composição dos grãos, o que pode levar a uma grande variabilidade nos resultados. Em vista da limitada estrutura laboratorial e diversidade de metodologias, poucos resultados são gerados, e quando gerados, muitas vezes não são comparáveis. Este cenário faz com que a nutrição animal, buscando a extrema precisão, fique vulnerável neste campo, o que pode estar comprometendo índices de desempenho zootécnicos, econômicos e de impacto ambiental, prejudicando a sustentabilidade da produção nacional de aves e suínos.

O uso de enzimas na nutrição animal já é uma realidade. Fitase, amilase, xilanase (pentosanase), glucanase, mananase e outras já vem sendo utilizadas em escalas variáveis, ao mesmo tempo em que seguem sendo objeto de estudo.

A curto espaço de tempo, não há perspectivas da disponibilização de novas matérias primas em grande escala, portanto, o que as indústrias precisam buscar, são meios para um melhor aproveitamento dos nutrientes nas matérias primas usuais, especialmente milho e soja.

Estudos objetivando a implementação de metodologias e sua validação para a quantificação destes fatores antinutricionais presentes em milho, farelo de soja e outras matérias primas de origem vegetal, além de buscar o desenvolvimento de equações de predição para a estimativa destes compostos a partir de parâmetros de fácil e rápida determinação pela indústria, permitirá um avanço expressivo no conhecimento das características e variações regionais destes compostos, possibilitando assim, o desenvolvimento de estratégias para um maior aproveitamento destes compostos antinutricionais ou minimizar seus efeitos negativos para a nutrição animal e uma otimização dos benefícios do uso de enzimas.

Além disso, muitas também são as dúvidas sobre a estabilidade de enzimas nos alimentos, durante e após seu processamento. Já o processo de elaboração de alimento também segue constantemente sendo aprimorado, especialmente no que diz respeito a

peletização, expansão e até extrusão. Todos esses avanços podem, em maior ou menor grau, afetar a estabilidade de enzimas, devendo este tema, também ser estudado pela pesquisa.

Apesar de todas estas questões ainda não respondidas, a adoção de enzimas na nutrição animal é inevitável, especialmente pelo seu potencial em proporcionar um menor custo de produção de dietas e conseqüentemente da carcaça, reduzirem a excreção de nutrientes através de excretas, diminuindo assim o impacto ambiental e permitir uma melhor sustentabilidade da avicultura e suinocultura.

2. Realidade Brasileira

As dietas para aves e suínos são compostos essencialmente por milho e farelo de soja. Estas duas matérias-primas representam mais de 85% do volume da maioria das dietas e aproximadamente 65% do custo das formulações (SINDIRAÇÕES, 2011).

A escassez de dados brasileiros quanto à composição de fatores antinutricionais das matérias-primas de interesse na alimentação animal, como o milho e o farelo de soja, aliados ao fato da ausência de pesquisas laboratoriais com metodologia padronizada para avaliação deste fatores, torna imprescindível o estudo dos mesmos para um melhor aproveitamento das dietas pelos animais.

O Brasil deve estar inserido nas pesquisas dos fatores antinutricionais, uma vez que é um dos maiores produtores de grãos do mundo (145 milhões de toneladas IBGE, 2009), possuindo uma extensa área agrícola, o que faz com que sejam necessários estudos das matérias-primas de diferentes regiões geográficas, em vista das suas variações climáticas.

A maioria das informações disponíveis foram geradas na Europa, nos Estados Unidos e Austrália, não retratando a realidade brasileira. No Brasil, importante pólo de produção de proteína animal, poucas pesquisas foram conduzidas com o propósito de conhecer com profundidade a real composição das matérias-primas nacionais, no que se refere a fatores antinutricionais, o que possivelmente pode estar comprometendo a digestibilidade dos alimentos.

Apesar da utilização em larga escala, o milho e o farelo de soja apresentam variações em sua composição em termos de fatores antinutricionais (Cowieson, 2005; Paula, 2007; Remus, 2008). Embora existam informações limitadas, dois fatores antinutricionais são de maior relevância no milho: fitato e xilanos (pentosanos). Além disso, há relatos na literatura indicando que o valor nutricional; resposta a processos térmicos tais como peletização, expansão e extrusão; e a melhora do valor de energia metabolizável através do uso de enzimas (especialmente amilase) são dependentes da relação amilose:amilopectina.

No caso do farelo de soja, com exceção dos inibidores de tripsina, os demais fatores antinutricionais (oligossacarídeos e fitato) não são monitorados pelo controle de qualidade da indústria. Segundo Chen et al. (2010), os oligossacarídeos da soja compreendem um grupo de açúcares compostos essencialmente por galactose (65,3%), manose (15,6%), glicose (8,7%), frutose (7,8%), arabinose (1,9%) e xilose (0,9%). Paula (2007), estudando 34 genótipos de grãos de soja quanto à composição bioquímica e fatores antinutricionais, concluiu que há grande variabilidade entre genótipos no que se refere a rafinose, estaquiase e fitato. Além disso, houveram correlações significativas entre parâmetros bromatológicos (cinzas e sacarose) e estes fatores antinutricionais.

Todos esses fatores são influenciados pelas características genéticas dos grãos, fatores climáticos e condições de cultivo. No Brasil, em vista da sua extensão territorial e variações climáticas regionais, poucas são as informações disponíveis. Em parte, a dificuldade de análise, tem sido o limitante para a geração destes dados. A perspectiva do uso de ferramentas preditivas para fatores antinutricionais a partir de parâmetros bromatológicos, físicos ou NIR

pode ser uma forma econômica, rápida e simples da indústria de rações poder segregar melhor suas matérias-primas, otimizando processos e maximizando a eficiência econômica das dietas.

3. Substratos para ação das enzimas e sua quantificação

Os métodos para análise de compostos indigestíveis pelas aves e suínos foram desenvolvidos ao longo dos anos de forma segmentada. Entretanto, no Brasil, apenas recentemente laboratórios especializados, iniciaram trabalhos que reúnem estes métodos, para o estudo destes compostos de forma escalonada e de aplicação direta à produção de dietas para aves e suínos.

3.1. Fitato ou ácido fítico.

O ácido fítico é a forma ácida do ânion fitato. Ambas terminologias são utilizadas referenciando este composto que tem forte capacidade de ligação com minerais. Tecnicamente o fitato é descrito como mio-inositol 1,2,3, 5/4,6-hexaquis (dihidrogenio fosfato), cuja estrutura é cristalina e branca (Harland e Oberleas, 1999). O fitato tem sido objeto de estudo pela indústria de alimentação animal por estar presente em todos os vegetais e se comporta como um agente quelante. Na natureza, o fitato retém minerais que são liberados durante o processo de germinação das sementes, tais como cálcio (Ca), cobalto (Co), cobre (Cu), ferro (Fe), magnésio (Mg), manganês (Mn), níquel (Ni), selênio (Se) e zinco (Zn).

O fitato constitui a maior parte do fósforo total dos grãos de cereais, leguminosas e oleaginosas. Em geral, de 50 a 80% do fósforo total se apresenta na forma de fitato (Ravindran et al, 1995).

Esta molécula tem recebido atenção não apenas por conter naturalmente nutrientes complexados em sua estrutura, mas também por se acreditar que possa complexar nutrientes livres anteriormente introduzidos nas dietas ou oriundo de fluidos orgânicos.

A elevada concentração de fósforo (P) presente na estrutura do fitato, quando adequadamente liberado, pode servir aos animais (Ketola e Harland, 1993). Conseqüentemente, em se reduzindo a necessidade de aporte de P nas dietas animais, há uma redução na excreção do mesmo no conteúdo fecal, diminuindo assim o potencial poluidor do P quando liberado ao meio ambiente.

Na prática, o fitato existe em complexos distintos em diferentes sementes (grãos). No milho, o fitato está presente primeiramente no gérmen, na forma hidrossolúvel (Harland e Oberleas, 1999). Em leguminosas, o fitato tem sido observado associado a proteínas. O grão de soja, não apresenta um sítio específico de localização das moléculas de fitato (de Boland et al, 1975). A associação de fitatos de cereais é menos estudada e compreendida, entretanto é conhecido de que estão presentes em quantidade significativa, tanto na epiderme como no gérmen, acreditando-se estarem em um complexo Ca-Mg (Harland e Oberleas, 1999).

O ácido fítico não está uniformemente distribuído dentro dos grãos, mas sim, associado com componentes morfológicos específicos na semente. O Quadro 01 apresenta a distribuição do fitato na estrutura de diferentes grãos.

De Turk et al (1933), já estudavam a formação do fitato em milho, desde a fase de polinização até a maturação dos grãos. Os autores concluíram que não havia fitato nas folhas, caules, palha e sabugos. O nível de fitato apresentava uma elevação a partir de três semanas pós polinização, elevando-se até a maturação.

Ashton e Williams (1958) observaram que o teor de fitato diminuía gradativamente a medida em que grãos de aveia germinavam, sendo que após duas semanas de germinação, não havia mais fitato no tecido vegetal.

Em função do fato do fitato complexar diversos minerais, muitas pesquisas foram realizadas com a finalidade de inativar ou remover o fitato dos alimentos. Desta forma, foram avaliados períodos de armazenamento, aquecimentos, autoclavagem, tostagem, fermentação, maltação, germinação, irradiação, métodos químicos, e por fim o uso da enzima fitase. Existem algumas limitações para a adoção deste métodos, especialmente por ser difícil a remoção do fitato sem alterar a estrutura das proteínas, o nível nutricional, aspectos organolépticos e de solubilidade. Muitas vezes o processo de moagem por si só, ou mesmo o processo de pelotização dos alimentos pode afetar o fitato presente no alimento (Larsen, 1993). Longos períodos de armazenamento (superior a quatro anos) podem implicar na redução do teor de fitato.

Quadro 01 – Concentração de fósforo fítico em diferentes partes morfológicas de grãos de milho, trigo e arroz

Cereal	Parte morfológica	Fósforo fítico (g/100g da porção)	Distribuição, % Fitato Total do Grão
Milho	Grão inteiro	0,25	----
	Endosperma	0,01	3,20
	Germen	1,80	88,0
	Epiderme	0,02	0,40
Trigo (mole)	Grão inteiro	0,32	---
	Endosperma	0,001	2,20
	Germen	1,10	12,90
	Aleurona	1,16	87,10
	Epiderme	0	0
Arroz (marrom)	Grão inteiro	0,25	----
	Endosperma	0,004	1,20
	Germen	0,98	7,60
	Pericarpo	0,95	80,00

Adaptado de: O'Dell et al. (1972).

No quadro 02, estão apresentados os níveis de fitato presentes em matérias-primas vegetais.

Quadro 02 – Teor de fitato nos alimentos

Alimento	% Fitato
Milho	0,76
Trigo grão	1,17-1,37
Trigo farelo	4,46-5,56
Arroz grão	0,48
Arroz farelo	0,21
Soja	1,4
Cevada	1,08-1,16
Aveia	0,80-1,02
Girassol	1,7
Centeio	1,05-1,88
Triticale	0,50-1,89

Adaptado de: Cosgrove, 1980.

Um aspecto pouco considerado em termos práticos, trata das condições de cultivo sobre o teor de fitato. Existe uma grande variabilidade e as causas são pouco conhecidas. Reddy et al (1982), relataram que a variabilidade pode ser consequência de fatores como: estágio de maturidade, grau de processamento, cultivar, fatores climáticos, disponibilidade hídrica, fatores do solo, localização geográfica e o ano específico em que estes grãos foram produzidos.

Asada et al (1969) demonstraram que o conteúdo de fitato do arroz era aumentado em função do uso de fertilizantes a base de fosfato. Bassiri e Nahapetian (1979) estudando 10 variedades de trigo ao longo de um período de dois anos encontraram uma diferença no conteúdo de fitato como consequência do sistema de cultivo, com e sem irrigação. A síntese de fitato foi maior quando cultivado sob irrigação.

Segundo Saastamoinen (1987), 67% das variabilidades no conteúdo de fitato em aveia, podem ser atribuídas à prática de fertilização, pelo aporte de nitrogênio e fósforo, durante o cultivo. Em contrapartida, em um estudo envolvendo 56 cultivares de trigo, Barrier –Guillot, et al (1996) observaram que fertilizantes a base de nitrogênio e fósforo não tiveram efeito sobre o teor de ácido fítico do trigo.

Miller et al (1980b), estudaram o efeito do teor de fósforo do solo sobre o conteúdo de fitato em sete cultivos de aveia ao longo de dois anos. Estes concluíram que quanto maior o teor de fósforo do solo, maior o teor de fitato na aveia. Estes autores salientam que a mesma resposta pode ser esperada em cultivos de trigo e cevada.

O efeito da área geográfica de cultivo, assim como o ano de cultivo, foram identificados como determinantes para o nível de fitato em trigo, centeio, triticale e aveia (Nahapetian e Bassiri, 1976; Miller et al, 1980 a, b; Singh e Reddy, 1977).

Parte da variabilidade das análises quanto a composição dos alimentos é decorrente das metodologias empregadas para quantificação de fitato (Harland e Oberleas, 1999).

3.2. Polissacarídeos Não Amídicos

Os polissacarídeos não amídicos (PNAs) presentes no alimento para consumo animal contendo cereais são celulose, beta-glucanos e pentosanos (arabinoxilanos). Beta-glucanos e pentosanos em particular são considerados fatores antinutricionais em função de sua localização na parede celular do endosperma e principalmente, em função da solubilidade de uma fração destes compostos. PNAs solubilizados são conhecidos por produzir elevada viscosidade e que resulta na diminuição da disponibilidade dos nutrientes aos animais (Simon, 2000).

Além disso, os PNAs são componentes das paredes celulares, comumente computados como fração fibrosa ou fibra bruta, presentes nas matérias-primas vegetais. A quantidade e o tipo de PNAs nos diferentes cereais varia grandemente, dependendo do tipo de cereal e o ambiente no qual este foi produzido.

Segundo Conte et al (2003), em função de sua cadeia e as ligações com as unidades de açúcares, os polissacarídeos não amiláceos são resistentes à hidrólise no trato digestório, e esta fração não digerida interfere na absorção de nutrientes no TGI, razão pela qual são considerados fatores antinutricionais.

O efeito dos PNAs na dieta depende de aspectos relativos à natureza dos mesmos (Remus, 2008). Estes fatores podem ser desde seus graus de solubilidade (Mathlouthi et al, 2002) ou insolubilidade (Jaroni et al, 1999), ou até mesmo fatores como tamanho de partícula (Mavromichalis et al, 2000; Aulrich e Flachowsky, 2001). Além disso, o processamento térmico pode afetar suas características físicas (Cowieson, et al, 2005; González-Alvarado et

al, 2008). Malkki (2001) relata que fibras com elevada viscosidade afetam o esvaziamento gástrico e diminuem o tempo de trânsito, o que em animais em crescimento pode alterar digestibilidade de nutrientes e gerar perdas de desempenho.

Os PNAs solúveis podem afetar o tempo de trânsito intestinal, motilidade intestinal e ainda prejudicar a ação das enzimas endógenas para alcançarem os substratos (Choct, 2001). Os PNAs insolúveis não causam elevação da viscosidade, mas podem encapsular nutrientes internamente a sua parede celular. Consequentemente, o grau de moagem e tamanho de partícula, podem afetar o nível de disponibilização destes nutrientes. Além disso, é prática usual na indústria de alimento animal a utilização de enzimas que possam hidrolisar estes compostos, disponibilizando estes nutrientes para uma posterior digestão mediante ação das enzimas endógenas.

As propriedades dos fatores antinutricionais dependem do antinutriente em questão e sua concentração na composição final da ração. Fatores antinutricionais não são tóxicos para os animais, mas sua presença no alimento pode resultar em crescimento reduzido e conversão alimentar ruim. Para a maioria dos fatores antinutricionais conhecidos, as propriedades físico-químicas e o modo de ação também são conhecidos. Baseado neste conhecimento, é claro que qualquer atividade para reduzir a quantidade de fatores antinutricionais terá efeitos sobre o desempenho do animal (Vasconcellos, 2011). Desta forma, conhecer em profundidade a composição das matérias-primas para posteriormente poder se lançar mão a tecnologias de processamento e ou aditivos, é de extrema importância.

No quadro 03 estão apresentados dados de composição de matérias-primas em termos de PNAs.

Quadro 03 – Conteúdo de pentosanos e beta-glucanos em diferentes cereais.

Cereal	Pentosanos		Beta-glucanos	
	Total (g/kg)	Solúvel em água (g/kg)	Total (g/kg)	Solúvel em água (g/kg)
Centeio	58-122	19-27	13-47	---
Triticale	46-86	6-11	7-36	---
Trigo	54-83	8-14	4,5-8,5	---
Aveia	37-80	8	23-51	16
Cevada	31-77	5-10	26-66	24-50
Milho	43-68	4-6	0,8-1,7	---

Adaptado de Jeroch, 1994.

Como pode ser observado, cada matéria-prima conforme sua composição pode contribuir com um teor distinto de PNAs em uma formulação de ração.

No quadro 04, estão apresentados dados de digestibilidade de alguns PNAs para aves e suínos.

Quadro 04 – Índice de digestibilidade (%) de PNAs para suínos e aves.

Carboidrato	Aves	Suínos
PNA Total	12	84
Arabinose	13	104
Xilose	14	103
Manose	0	72

Adaptado de Choct, 2001.

Como citando anteriormente, os PNAs são divididos em dois grupos: Solúveis em água e insolúveis, e é esta particularidade que confere as diferentes características a cada um destes grupos. Os PNAs insolúveis em água normalmente sequestram nutrientes, tornando os indisponíveis para a ação das enzimas endógenas. Além disso, os PNAs insolúveis tem a capacidade de reter grande quantidade de água, podendo chegar a várias vezes o seu peso molecular. Os PNAs solúveis em água elevam a viscosidade do conteúdo no trato gastrointestinal (TGI). Digestas com alta viscosidade reduzem a oportunidade dos nutrientes entrarem em contato com as enzimas endógenas e por consequência a taxa de passagem é diminuída, afetando os processos digestivos, favorecendo o desenvolvimento de microrganismos com efeito negativo sobre a saúde das aves. Desta forma, a presença de elevada quantidade de PNAs em dietas de aves gera um maior consumo de água e a excreção de fezes úmidas e pastosas.

No Quadro 05, pode ser observado a variabilidade e diversidade de informações, o que torna extremamente difícil a sua adoção na tomada de decisões no dia a dia da indústria. A realização de novas análises, todas executadas a partir de uma metodologia padronizada é de extrema importância, permitindo assim, uma melhor exploração deste conhecimento na prática.

Quadro 05 – Composição de PNAs em cereais e derivados (% na MS).

Ingrediente	S Ax	I Ax	T Ax	S β -Gl	T β -Gl	I PC	T PNAs
Trigo	-	-	4,46				8,8
Trigo							10,0
Triticale	0,48			0,18		10,4	
Centeio	1,44			0,75		14,6	
Centeio	2,3-2,9	5,3-6,9	7,6-9,8		2,3		13
Aveia	0,13			4,35		31,1	
Cevada	0,48-0,56	2,52-3,44	3-4	4-5	4-5		13
Milho	0,03			0,05		9,6	
Milho			5,35				9,3
Sorgo	0,28	2,52	2,8		0,3		5
Farelo de Trigo	3	27	30				45
Farelo de Arroz	0,06			0,08		19,4	
Farelo de Arroz Deseng			10,65				59,97
Farelo de Soja	0,11		3,22-4,21	0,06		21,1	12,6-29,02
Farelo de Girassol	0,13		11,01	0,18		52	41,34

S Ax – Arabinoxilanos solúveis, I Ax – Arabinoxilanos insolúveis, T Ax – Arabinoxilanos totais, S β -Gl – Beta glucanos solúveis, T β -Gl – Beta glucanos totais, I PC – Parede celular insolúvel, T PNAs – Polissacarídios não amídicos totais.

Adaptado de Remus, 2008.

3.3. Fatores antinutricionais em milho e farelo de soja

O grão de milho é composto essencialmente por carboidratos, representando aproximadamente 74% da matéria seca total do grão. Entre os carboidratos, o amido, que é predominante, celulose, hemicelulose, pentosanas, dextrinas e açúcares (Carvalho e Nakagawa, 1979). Para o caso da soja, Yazdi-Samadi et al (1977) verificaram que o teor de amido sofre um certo aumento durante o desenvolvimento da semente, para depois decrescer por ocasião da maturidade, fato também observado por outros pesquisadores.

No quadro 06, estão apresentados dados de composição química de grãos de milho e soja. Estes dados mostram que há uma significativa variação em termos de presença de carboidratos na fração fibrosa destes grãos, e que no caso da soja, quando submetida a extração do óleo, acaba por concentrar ainda mais este parâmetro.

Quadro 06 – Composição química de grãos (%).

Grão	Água	Proteína	Lípidios	Carboidrato		Cinzas
				Total	Fibra	
Milho	13,8	8,9	3,9	72,2	2,0	1,2
Soja	10	34,1	17,7	33,5	4,9	4,7

Adaptado de Watt e Merrill, 1963, citado por Carvalho e Nakagawa, 1979.

O amido é considerado um carboidrato de mais fácil digestão, porém, mesmo assim seu aproveitamento não é pleno em aves e suínos, quando avaliado ao nível terminal do íleo. Noy e Sklan (1994) estimaram que de 11 a 18% do amido pode permanecer indigerido na porção terminal do íleo, em aves com idade entre 4 a 21 dias de idade. Estas diferenças podem ocorrer em função do tipo de estrutura cristalina, relação amilose:amilopectina, proteínas quelantes, encapsulamento da parede celular e até mesma a gelatinização durante processo térmico.

Cowieson (2005) revisou estes fatores em milho. O autor menciona que o milho tem sido adotado pela indústria de rações por ser considerado um produto com elevado valor nutricional, além de uma teórica consistência em sua composição. Entretanto, o autor salienta de que este pode ser o real contexto, em função de pesquisas que tem mostrado uma significativa variabilidade na sua composição, especialmente em termos de amido, proteína, fibra, extrato etéreo e aminoácidos (Quadro 07).

Além destes parâmetros, Cowieson, 2005, citando outras fontes, menciona grande variabilidade no valor de energia metabolizável aparente, podendo chegar a 500 Kcal/kg, entre lotes de grãos, o que torna o uso de tabelas de composição de alimentos muito impreciso. O autor relata que o uso de enzimas exógenas pode diminuir essa variabilidade, entretanto, apesar de existirem diversas pesquisas mostrando resultados positivos, existem respostas inconsistentes. Com a finalidade de melhorar a consistência e a magnitude das respostas decorrentes do uso de enzima para aumentar a digestibilidade de milho, é vital compreender os fatores interferentes e inerentes ao valor nutricional do milho para aves e suínos.

Quadro 07 – Variação na composição química de 59 amostras de milho (Danisco Animal Nutrition).

Base Matéria Seca	Amido (g/kg)	Proteína Bruta (g/kg)	Óleo (g/kg)	Relação Amilose:amilopectina
Média	674	80,3	44,0	0,31
Desvio Padrão	23	5,9	4,5	0,05
Mínimo	628	71,0	34,7	0,21
Máximo	720	94,5	52,4	0,44

Adaptado de Cowieson, 2005.

Weurding et al, (2001 a, 2001 b), observaram clara diferença na taxa de digestibilidade do amido para diversas matérias-primas estudadas. Esta constatação, justifica a necessidade

de um maior domínio da composição das matérias-primas empregadas no Brasil, onde muito pouco se conhece a respeito, embora, o milho seja massivamente empregado na elaboração de dietas, sem haver a devida atenção a este aspecto, que por sua vez pode estar implicando em significativa perda econômica.

A composição química e por consequência o valor nutricional do milho é variável e dependente da variedade ou cultivar, condições de desenvolvimento durante o cultivo, temperaturas de secagem, estrutura química do amido, matriz lipídio/proteína/amido, e a presença de fatores antinutricionais (Leeson et al, 1993; Leigh, 1994; Brown, 1996; Collins et al, 1998; Collins e Moran, 2001).

Weurding et al, (2001 a, b) relatam que a principal razão para essa diferença no valor de energia deve-se a elevada concentração de amido, assim como a baixa concentração de PNA solúveis (sendo o de maior importância as arabinosilanas), em comparação com cereais como trigo, aveia e centeio. O milho também apresenta baixa concentração de outros fatores antinutricionais tais como fitina, inibidores de tripsina e lectinas. Entretanto, apesar do milho ser considerado como alimento de alta digestibilidade em aves, existem algumas evidências que sugerem que a presença de amido resistente limita os valores de energia metabolizável (Brown, 1996; Weurding et al. 2001 a, b).

Cowienson, (2005) relata ainda que é fundamental que sejam desenvolvidos mecanismos de análise de alimentos para a predição do valor nutricional e também o potencial decorrente do uso de enzimas. Estas ferramentas devem ser baseadas em parâmetros conhecidos e disponíveis rotineiramente na indústria.

O farelo de soja é outra matéria-prima de grande preferência na elaboração de dietas. Segundo Cromwell, 1999, mais de 60% de todas as fontes proteicas usadas no mundo na elaboração de dietas são constituídas de farelo de soja. Seu uso tem sido tão popular em função de sua alta concentração proteica (44 a 48%) e seu excelente perfil de aminoácidos. Entretanto, o farelo de soja contém uma gama significativa de fatores antinutricionais, sendo alguns bem conhecidos como já anteriormente apresentado, o fitato. Entretanto, as variedades de soja apresentam diferenças quanto à concentração deste composto, sendo ainda influenciado pela condições de cultivo.

Em um estudo com 34 genótipos de soja, Paula, 2007 encontrou uma grande variação em termos de concentração de fatores antinutricionais como rafinose, estaquiose e fitato. Além disso, este autor declara que existe correlação entre parâmetros como teor de cinzas e fitato; cinzas e estaquiose; cinzas e rafinose; cinzas e açúcares solúveis; além de uma relação direta entre açúcares totais e estaquiose e rafinose.

Genótipos de soja geneticamente modificados já estão sendo avaliados, especialmente para obter grãos de soja com teor mais baixo de fitato, sendo que os trabalhos já concluídos mostram que o fósforo tem sido mais biodisponível em suínos (Cromwell, 1999).

Oligossacarídeos, tais como rafinose e estaquiose que representam entre 5 e 7% do grão de soja, não são digeridos e causam distúrbios digestivos indesejados, especialmente em animais mais jovens. A exemplo do fitato, pesquisas buscando identificar os genes responsáveis pela síntese destes compostos nos grãos de soja têm sido realizadas e grãos têm sido manipulados geneticamente (Cromwell, 1999).

A soja pode conter também proteínas com ação antigênica, causando resposta inflamatória no intestino quando presente em níveis elevados. Este efeito alergênico aparenta ser mais pronunciado em animais jovens recebendo dietas com níveis elevados de farelo de soja. Além disso, soja contém compostos denominados de lectinas que se ligam a parede intestinal e interferem negativamente a absorção de nutrientes. Felizmente, as lectinas são destruídas quando a soja é submetida a um adequado aquecimento. Adicionalmente, outros

compostos podem ser encontrados na soja, tais como, saponinas, lipoxidases, fitoestrógenos e goioestrógenos, embora não se conheça muito a respeito do efeito antinutricional destes últimos (Cromwell, 1999).

4. Pontos críticos no uso de enzimas

Basicamente para que o uso de enzimas seja bem sucedido é preciso que as seguintes condições sejam atendidas:

- a) Presença de substrato na matéria prima;
- b) Presença da enzima específica para o substrato presente;
- c) Um adequada relação entre atividade enzimática e quantidade de substrato;
- d) Um meio (ambiente) adequado para a atividade enzimática (temperatura, pH e tempo);

Parece simples e na teoria não aparenta ser difícil de reunir essas condições, mas quando tratamos do uso de enzimas fora do laboratório, dentro das fábricas de rações, nos deparamos com uma gama enorme de dúvidas, o que é natural, em vista da dinâmica e a escala de uma fábrica de rações, o que muitas vezes gera um certo grau de insegurança por parte dos nutricionistas.

Em função do exposto anteriormente, um dos principais pontos críticos para um máximo aproveitamento de enzimas é a falta de conhecimento da real concentração de substratos, assim como a variação ao longo do ano e entre lotes de matérias primas.

Outra questão é a garantia da presença de atividade enzimática no alimento. O fato de suplementar enzimas a uma dieta, não significa que a atividade enzimática será mantida em sua totalidade, especialmente em função das enzimas serem proteínas de alta sensibilidade a questões como temperatura, pH e substância inibidoras. A análise da atividade enzimática diretamente no alimento é um processo complexo, pouco disponível e oneroso, desta forma não realizada de forma rotineira pelo controle de qualidade das indústrias.

Como alternativa a esta questão vem sendo desenvolvidas enzimas mais resistentes a altas temperaturas. Isso se dá pelo processo de produção das enzimas (se produzidas a partir de bactérias ou fungos), assim como a adoção de técnicas de recobrimento. Tecnicamente, isso é possível, mas também pode ser que ocorram conseqüências indesejadas, como por exemplo uma dificuldade da liberação desta enzima ao meio, de forma a retardar a hidrólise do substrato.

A possibilidade do uso de enzimas líquidas, aplicadas em recobrimento após a produção da dieta peletizada também é uma realidade. Neste caso, um fator fundamental é que a dosificação seja uniforme no alimento. Os fluxos de alimento nas linhas das fábricas de rações normalmente não são constantes e homogêneos, o que implica no fato da necessidade de investimentos expressivos para a uniformização do fluxo. Na atualidade muitas indústrias já realizaram investimentos neste sentido, e a aplicação de aditivos e nutrientes na forma líquida pós peletização já é uma realidade.

Outro ponto crítico é a questão dos benefícios nutricionais decorrentes do uso de enzimas. Muitas empresas que disponibilizam enzimas ao mercado tem desenvolvido matrizes nutricionais para as suas enzimas. A proposta é sem dúvida necessária, de forma que o nutricionista possa estudar a sua viabilidade.. Além disso, conceitualmente é correto aceitar que as enzimas tenham concreta possibilidade de disponibilizar nutrientes aos animais, portanto as enzimas são indiscutivelmente benéficas para a nutrição. Adicionalmente, é preciso observar que os benefícios das enzimas são muito expressivos do ponto de vista econômico, mas muito difíceis de serem comprovados experimentalmente. Infelizmente, a

precisão na condução de ensaios metabólicos é na maioria dos casos insuficiente para que os benefícios decorrentes do uso de enzimas seja estatisticamente comprovado. Isso se deve ao uso de métodos de ensaios metabólicos antigos e que não evoluíram ao longo dos anos de forma que os benefícios das enzimas sejam claramente percebidos. Já a nível de indústria, que aloja milhões de aves, estes pequenos benefícios são perceptíveis e economicamente significativos.

A pesquisa sem dúvida precisa buscar maneiras mais eficientes de avaliar os efeitos de enzimas na nutrição animal, para que a cadeia de produção animal tenha subsídios de qualidade na tomada de decisão.

5. Considerações Finais

Pontos críticos no uso de enzimas são comuns na indústria, especialmente no que diz respeito ao conhecimento do substrato na matéria prima, estabilidade enzimática e métodos analíticos e experimentais.

Por outro lado o uso de enzimas na nutrição animal é um fato. Pesquisas são necessárias para um melhor domínio do perfil de substratos presentes nas matérias primas, associado ao desenvolvimento de recursos analíticos práticos e viáveis de serem implantados pelo controle de qualidade das fábricas de rações. O processo de produção de rações é dinâmico e vem sendo aprimorado ao longo do tempo, é importante que se conheça esta interrelação processo fabril de rações e atividade enzimática, compreendendo a sinergia e a antagonia. Métodos experimentais para o conhecimento dos benefícios nutricionais decorrentes do uso de enzimas precisam ser revistos, buscando uma maior precisão para um melhor conhecimento da ação de cada enzima.

6. Referências bibliográficas

- Ashton, W.M.; Williams, P.C. 1958. The phosphorus compounds of oats. 1. The content of phytate phosphorus. *J. Sci. Food Agric.* 9:505.
- Assada, K.; Tanaka, K.; Kasai, Z. 1969. Formation of phytic acid in cereal grains. *Ann. N. Y. Academic Science.* 165:801.
- Aulrich, K.; Flachowsky, G. 2001. Studies on the mode of actions of non-starch polysaccharides (NSP)-degrading enzymes in vitro 2. Communication: Effects on nutrient release and hydration properties. *Archives of Animal Nutrition* 54: 19-32.
- Barrier-Guillot, B.; Maupetit, P.; Jondreville, C.; Gatel, F.; Larbier, M.. 1996. Wheat phosphorus availability: 1. In vitro study; factors affecting endogenous phytasic activity and phytic phosphorus content. *J. Sci. Food Agric.* 70:62-68.
- Bassiri, A.; Nahapetian, A.. 1979. Influence of irrigation regimes on phytate and mineral contents of wheat grain and estimates of genetic parameters. *J. Agric. Food Chem.* 27:964.
- Brown, I. 1996. Complex carbohydrates and resistant starch. *Nutr. Ver.* 54: 115-119.
- Carvalho, N.M. de; Nakagawa, J. 1979. Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção, 3^a Ed, Fundação Cargil, Campinas, SP, 424 p.
- Choct, M. 2001. Enzyme supplementation of poultry diets based on viscous cereals. In: *Enzyme in Farm Animal Nutrition* (Eds: M.R. Bedford e G.G. Partridge), ps. 145-160. CAB International.

- Chen, H.; Li-Jun, L.; Jian-jun, Z.; Bo, X.; Rui, L. Chemical composition analysis of soybean oligosaccharides and its effects on ATPase activities in hyperlipidemic rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.46, p.229-231, 2010.
- Collins, N.E.; Moran, J.R. 2001. Influence of yellow dent maize hybrids having different kernel characteristics yet similar nutrient composition on broiler production. *J. Appl. Anim. Res.* 10:228-235.
- Collins, N.E.; Moran, E.T.; Stilborn, H.L.. 1998. Maize hybrid and bird maturity affect apparent metabolizable energy values. *Poultry Science*. 11: 42.
- Conte, A. J.; Teixeira, A.S.; Fialho, E.T.; Schoulten, N. A.; Bertechini, A.G.. 2003. Efeito da fitase e xilanase sobre o desempenho e as características ósseas de frangos de corte alimentados com dietas contendo farelo de arroz. *R. Bras. Zootecnia*, v. 32, n. 5, p. 1147-1156.
- Cosgrove, D.J. 1980. *Inositol Phosphates*. P. 166. Elsevier/North Holland, Inc. New York.
- Cowieson, A.J. 2005. Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 119: 293-305.
- Cowieson, A.J. Hruby, M.; Faurschou Isaksen, M. 2005. The effect of conditioning temperature and exogenous xylanase addition on the viscosity of wheat-based diets and the performance of broiler chickens. *British Poultry Science* 46: 717-724.
- de Boland, A.R.; Garner, G.B.; O'Dell, B.L. 1975. Identification and properties of phytate in cereal grains and oilseed products. *J. Agric. Food Chem.* 23:1186.
- Cromwell, G.L. 1999. Soybean Meal – The Gold Standard. *The Farmer's Pride*, KPPA News, v.11,n.20, 10-11-1999.
- de Turk, E.E.; Holbert, J.R.; Hawk, B.W.. 1933. Chemical transformation of phosphorus in the growing corn plant with results on two first generation crosses. *J. Agric. Res.* 46:121.
- González-Alvarado, J.M.; Jiménez-Moreno, E.; Valencia, D.G.; Lázaro, R.; Mateos, G.G. 2008. Effects of fiber source and heat processing of the cereal on development and pH of the gastrointestinal tract of broilers fed diets based on corn or rice. *Poultry Science* 87: 1779-1795.
- Harland, B.F.; Oberleas, D..1999. Phytic acid complex in feed ingredients. In: *Phytase in Animal Nutrition and Management*, 2nd Revised Edition, BASF, Germany, 800p.
- Jaroni, D.; Scheideler, S.E.; Beck, M.; Wyatt, C. 1999. The effect of dietary wheat middlings and enzyme supplementation. II. Apparent nutrient digestibility, digestive tract size, gut viscosity and gut morphology in two strains of Leghorn layer. *Poultry Science* 78: 1664-1674.
- Jeroch, H. 1994. Perspektiven des Enzymeinsatzes in der Geflügelernährung. Pg. 130-138 in: *Proc. 3rd Tagung Schweine und Geflügelernährung*, Halle/Saale, Germany.
- Ketola, H.G.; Harland, B.F.. 1993. Influence of phosphorus in rainbow trout diets on phosphorus discharges in effluent water. *Trans. Am. Fish. Soc.* 122:1120.
- Larsen, T. 1993. Dephytization of a rat diet. Consequences for mineral and trace elements absorption. *Biol. Trace Elem. Res.* 39:55.
- Leeson, S.; Yersin, A.; Volker, L. 1993. Nutritive value of the 1992 maize crop. *J. Appl. Poultry Res.* 2:208-213.
- Leigh, K. 1994. The unpredictable nature of maize. *Pigs*. 37-39.

- Malkki, A. 2001. Physical properties of dietary fiber as keys to physiological functions. *Cereal Foods World*, 46:196-199.
- Mathlouthi, N.; Saulnier, L.; Quemener, B.; Larbier, M. 2002. Xylanase, β -glucanase and other side enzymatic activities have greater effects on viscosity of several feedstuffs than xylanase or β -glucanase used alone or in combination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5121-5127.
- Mavromichalis, I.; Hancock, J.D.; Senne, B.W.; Gugle, T.L.; Kennedy, G. A.; Hines, R.H.; Wyatt, C.L. 2000. Enzyme supplementation and particle size of wheat in diets for nursery and finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 78: 3086-3095.
- Miller, G.A.; Youngs, V.L.; Oplinger, E.S.. 1980 a. Environmental and cultivar effects on oat phytic acid concentration. *Cereal Chem.* 57:189-192.
- Miller, G.A.; Youngs, V.L.; Oplinger, E.S.. 1980 b. Effect of available soil phosphorus and environment on the phytic acid concentration in oats. *Cereal Chem.* 57:192-194.
- Nahapetian, A.; Bassiri, A..1976. Variations in concentrations and interrelationships of phytate, phosphorus, magnesium, calcium, zinc and iron in wheat varieties during two years. *J. Agric. Food Chem.* 24: 947-950.
- Noy, Y.; Sklan, D. 1994. Digestion and absorption in the young chick. *Poultry Science*, 73: 366-373.
- O'Dell, B.L.; Boland, A.R.; Koirtiyohann, S.R.. 1972. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. *J. Agric. Food Chem.* 20:718-721.
- Paula, S. A. de. 2007. Composição bioquímica e fatores antinutricionais de genótipos de soja, Dissertação Mestrado, UFV, 74 p.
- Ravindran, V.; Bryden, W.L.; Kornegay, E.T..1995. Phytates: Occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. *Poult. Avian Biol. Ver.* 6:125-143.
- Reddy, N.R.; Balakrishnan, C.V.; Salunkhe, D.K..1982. Phytates in legumes. *Adv. Food Research.* 28:1-92.
- Remus, J.C.. 2008. Enzyme Combinations to Optimize Byproducts Use in Corn-Based Poultry Feed. 35th Poultry Nutrition Conference, Carolina Feed Industry Association. North Carolina, EUA, p. 23-41.
- Saastamoinen, M. 1987. Effect of nitrogen and phosphorus fertilization on the phytic acid content of oats. *Cereal Res. Commun.* 1:57-63.
- Simon, O. 2000. Non starch polysaccharide (NSP) hydrolysing enzymes as feed additives: mode of action in the gastrointestinal tract. *Lohmann Information*, n. 23, pg.7
- Sindirações, 2011. Boletim informativo do setor, março 2011. <http://www.sindiracoes.org.br/images/stories/noticias/boletim%20mar%20E7o%20%202011%20final.pdf>, acessado em 20.07.2011.
- Singh, B.; Reddy, N. R.. 1977. Phytic acid and mineral composition of triticales. *J. Food Sci.* 42:1077-1083.
- Vasconcelos, C.H. de F.; Fontes, D. de O.; Baião, N.C.; Vidal, T.Z.B.; Corrêa, G.da S. S.; Silva, M. de A.. 2011. Enzimas exógenas para frango de corte. <http://pt.engormix.com/MA-avicultura/nutricao/artigos/enzimas-t428/141-p0.htm> Publicado em 27/04/2011.

I Congresso sobre Aditivos na Alimentação Animal - ENZIMAS
CBNA – 30 de novembro e 01 de dezembro de 2011 – IAC – Campinas, SP

- Weurding, R.E.; Veldman, A.; Veen, W.A.G.; van der Aar, P.J.; Verstegen, M.W.A. 2001 a.
Journal of Nutrition, 131: 2329-2335.
- Weurding, R.E.; Veldman, A.; Veen, W.A.G.; van der Aar, P.J.; Verstegen, M.W.A. 2001 b.
Journal of Nutrition, 131: 2336-2342.
- Yazdi-Samadi, B.; Rinne, R.W.; Seif, R.D. 1977. Components of developing soybean seeds
oil, protein, sugars, starch, organic acids and aminoacids. Agron. J., 69(3):481-486.