

## **ATUALIDADES E TENDÊNCIAS NO USO DE ENZIMAS NA NUTRIÇÃO DE AVES**

**EVERTON LUIS KRABBE** – Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves – Concórdia/SC

**SARA LORANDI** – Mestranda da Universidade Federal de Pelotas – Pelotas/RS

### **Introdução**

É incontestável a consolidação do uso de enzimas nos sistemas de produção de aves e suínos, especialmente na área de nutrição.

Apesar dos intensos avanços ao longo dos últimos anos quanto ao desenvolvimento e funcionamento das enzimas (enzimologia), existem ainda, lacunas importantes a serem elucidadas, especialmente no que refere a composição dos alimentos, no tocante ao tipo e nível de substratos presentes (bromatologia). Pontos críticos quanto ao uso de enzimas são comuns na indústria, especialmente no que diz respeito ao conhecimento do substrato contido na matéria prima, estabilidade enzimática e métodos analíticos e experimentais.

Este artigo tem como objetivo abordar os avanços quanto ao uso de enzimas na produção animal.

### **Conceituação e suas implicações práticas**

De acordo com a publicação oficial da AAFCO (Associação Americana Oficial de Controle de Alimentos para consumo animal), a seguir são apresentados alguns conceitos, que embora pareçam teóricos, nos proporcionam importantes informações, inclusive de cunho prático.

*Uma enzima é definida como sendo uma proteína composta por aminoácidos ou seus derivados, que catalisam uma reação química específica. A necessidade de cofatores específicos são consideradas como parte integrante da enzima.* Importante observar que existem alguns aspectos relevantes, como:

1. São proteínas e portanto passíveis de degradação por fatores como temperatura e outros;
2. Realizam reações químicas específicas, portanto, apenas etapas muito particulares na transformação de um substrato são mediadas pelas enzimas;

3. Cofatores, esquecidos na maioria das discussões, são cruciais sobre atividade enzimática, aspecto ao qual muitas das inovações futuras poderão estar relacionadas.

A atividade enzimática é compreendida como *a atividade catalítica necessária para converter uma quantidade específica de substrato em uma quantidade específica de um produto, por unidade de tempo sob uma condição específica*. É neste contexto que as enzimas são avaliadas quanto a sua atividade. Mas na prática, no trato digestório dos animais, as condições de tempo de passagem e até mesmo condições físico-químicas podem sofrer alterações, em consequência ao tipo de dieta (granulometria, fibras, extrato etéreo, pH e efeito tampão do alimento, dentre outros), condições ambientais (alcalose respiratória e acidose metabólica), qualidade físico-química da água (pH, teor e tipo de minerais presentes), além de outros aspectos.

*Um produto enzimático é definido como um aditivo contendo material enzimático processado e padronizado produzido com o propósito de ser comercializado para uso em alimentos ou matérias primas para consumo animal*. Neste caso, precisamos entender que as enzimas comerciais são obtidas através da biotecnologia (fermentações), onde microrganismos são selecionados para este fim. Entretanto, é possível que exista mais de uma atividade enzimática no produto obtido na fermentação. Evidente, que com o passar dos anos, a tecnologia evoluiu e as enzimas comerciais atuais tem predominância de uma atividade específica (enzima isolada), mas em muitos ensaios de atividade enzimática são observadas atividades de enzimas secundárias, que na prática podem atuar em outros substratos presentes na dieta, gerando novos produtos, o que pode ser benéfico ou não, como é o caso quando existe a presença de atividades como lipase e lipoxigenase, que podem favorecer oxidação de lipídios.

## **Enzimas de uso frequente na nutrição animal.**

### **Fitase**

O termo fitase é utilizado genericamente para o grupo de enzimas pertencentes à família fosfomonoesterase. Estas enzimas têm por função realizar a hidrólise do fósforo fítico ou fitato em forma inorgânica de fósforo. Suas apresentações comerciais tiveram início em 1990. (SORIO et al., 2012).

Para ruminantes esta enzima é sintetizada por bactérias que estão presentes em seu sistema gastrointestinal, por outro lado, aves e suínos não possuem essa capacidade e necessitam receber a fitase adicionada na ração. Pode-se dizer que a principal função desta enzima é liberar o fósforo contido nos cereais sob a forma de ácido fítico, para ser aproveitado pelo organismo animal. Em

relação ao fósforo fítico, todos os ingredientes de origem vegetal apresentam um percentual de fósforo nesta forma e conseqüentemente não está disponível para monogástricos (Tabela 1) (SORIO et al., 2012).

O fosforo é essencial para aos animais e fundamental principalmente para o desenvolvimento ósseo. Ele pode ter origem vegetal, animal e mineral. Aproximadamente dois terços do fósforo presente nas plantas esta sob a forma de fósforo fítico e por muito tempo imaginou-se que este não era disponível aos animais monogástricos. De forma simplificada, para poder calcular a quantidade de fósforo disponível utiliza-se o seguinte raciocínio: fósforo disponível = fósforo total – fósforo fítico. Entretanto, o tema disponibilidade é mais complexo.

Tabela 1 – Conteúdo de fósforo em matérias primas e sua disponibilidade.

Ingrediente	% total de fósforo	% fósforo disponível
Cevada	0,42	0,13
Milho	0,25	0,03
Aveia	0,35	0,08
Sorgo	0,29	0,06
Farelo de arroz	1,70	0,42
Trigo	0,40	0,19
Farelo de trigo	1,17	0,34
Farelo de algodão	1,00	0,01
Farelo de soja	0,65	0,20

Fonte: adaptado de PUGH, 1993.

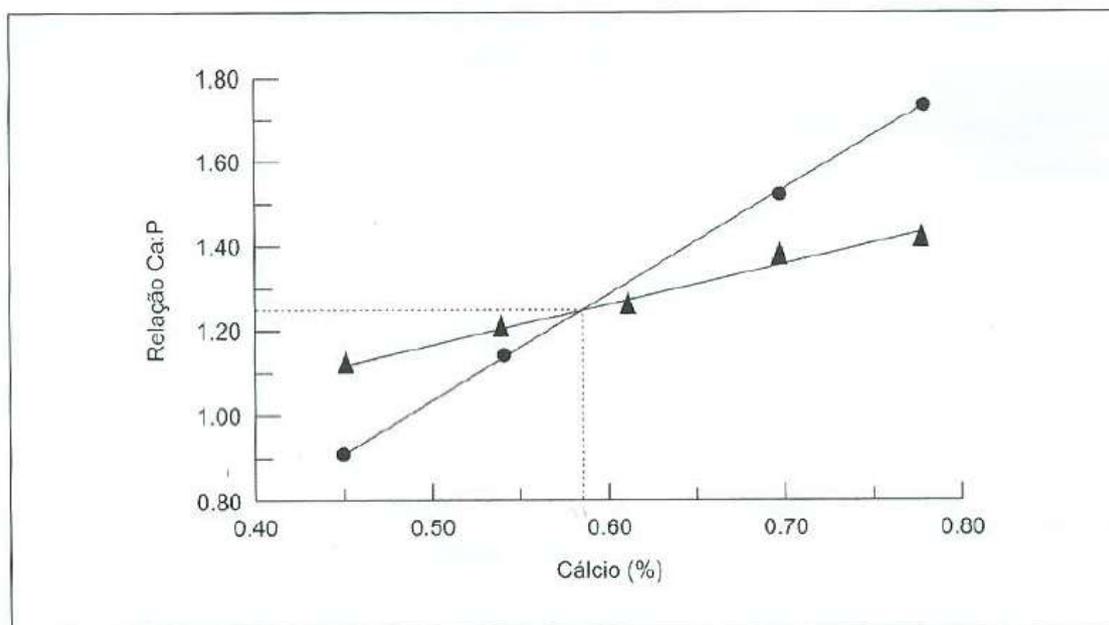
Como pode ser observado no quadro 01, do montante de fósforo presente nas matérias primas citadas, em média, apenas 23,5 % é disponível para monogástricos. Este fato merece algumas considerações. O primeiro aspecto é de que boa parte do fósforo presente na dieta acaba simplesmente poluindo o meio ambiente. Outro ponto, é que se este fósforo estivesse disponível, haveria uma economia de fontes de fósforo, tais como farinha de ossos, fosfatos de rocha e fosfatos mono e bicálcico, que representaria uma grande economia no custo das dietas. E finalmente, é importante recordar que muitos outros nutrientes, como aminoácidos e minerais estarão ligados ao fitato, logo indisponíveis aos animais, assim deixa-se de otimizar também a fração proteica e micro mineral dos ingredientes.

Com o surgimento da fitase e buscando resolver os problemas oriundos da excreção de fósforo, precisa-se definir em que nível de inclusão a enzima deve ser adicionada e ainda, qual o balanço ideal de cálcio (Ca) e fósforo (P).

A eficiência da enzima esta ligada a adequada relação dos minerais. Com níveis baixos de cálcio, o fósforo é eliminado do organismo, assim como altos teores de cálcio prejudicam a degradação intestinal do fitato e absorção de fósforo.

Buscando avaliar estas informações e determinar níveis ótimos da relação Ca e P, van der Klis e Versteegh (1999) em experimento com frangos de corte de duas a quatro semanas de idade, avaliou a relação Ca e P. Para baixos níveis de fósforo, sua absorção foi maximizada, porém devido à reduzida presença de cálcio a utilização não foi eficiente. Com a elevação dos níveis de cálcio, ocorreu uma redução da absorção de fósforo, porem com melhor retenção deste. De acordo com a figura 1, a retenção do fósforo foi máxima na relação Ca e P de 1,2:1.

Figura 1 – Relação Ca/P sobre absorção e retenção de cálcio (Ca) em frangos de corte com quatro semanas de idade, alimentados com dietas contendo 2,5g de fósforo disponível/kg de alimento e 2,0g de fósforo fitico/kg de alimento (● absorvido, ▲ retido).

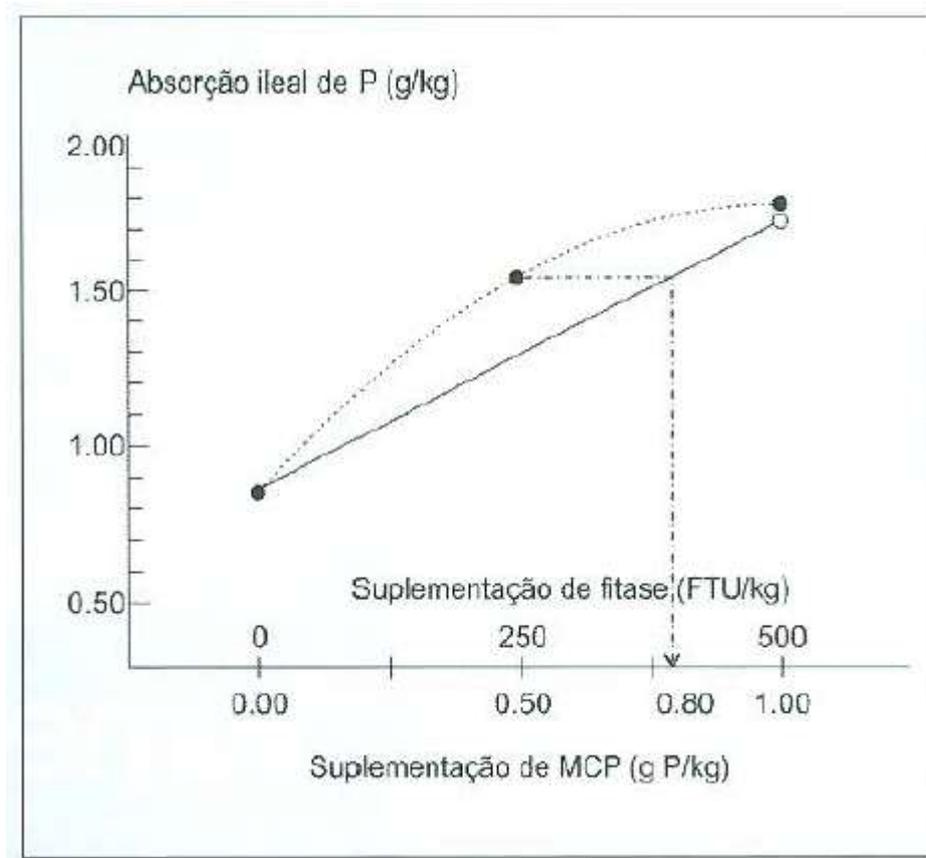


Fonte: Adaptado de van der Klis&Versteegh, 1999.

Com a utilização da fitase tem-se disponível maior teor de fósforo, podendo assim ser considerada uma fonte externa de fósforo. Em pesquisas com poedeiras, van der Klis e Versteegh (1999), avaliaram a adição de fosfato monocálcico em comparação com a fitase em dietas contendo milho e farelo de soja. Os resultados mostraram uma elevada absorção aparente de cálcio, já a absorção de fósforo foi baixa, porém ocorreu elevação, conforme ocorria aumento da suplementação de fósforo monocálcico e fitase. Calculando o FTU de fitase/kg em 250, conclui-se

que a equivalência entre as dietas ocorre com 0,8g de fosfato/kg de alimento, como pode ser observado na figura 2.

Figura 2 – Equivalência da fitase microbiana em fósforo para poedeiras com 24 semanas de idade. Suplementação dietética: ○ Fosfato monocálcico (MCP) ● Fitase.



Fonte: Adaptado de van der Klis&Versteegh, 1999.

A liberação de fitato não está diretamente relacionada com a taxa de inclusão da enzima na dieta, já que algum grau de fitato continua indisponível para aproveitamento pelo animal por estar complexado, por exemplo, com o cálcio (SLOMINSKI, 2011).

A hidrólise do fitato somente é eficiente quando ocorre em ambiente com pH propício e depende diretamente do tempo de trânsito da digesta no intestino.

Deve-se observar ainda que a eficácia das fitases será reduzida quando submetida a processos térmicos como peletização ou também quando é exposta a temperaturas de armazenamento inadequadas (SLOMINSKI, et al., 2007). Pesquisas com duas apresentações de fitase, uma granulada e outra em pó, buscando avaliar a estabilidade das enzimas, mostraram que quando submetidas ao processo de peletização, ambas enzimas apresentaram redução da eficácia.

## **Xilanase**

Esta enzima pertence a uma classe denominada carboidrases. Elas são responsáveis por degradar um polissacarídeo denominado hemicelulose (ou também xilanos). Tem capacidade de atuação muito flexível, podendo ser aplicada em inúmeros processos. Pode ser encontrada na indústria alimentícia, bem como na têxtil e ainda na indústria do papel (SORIO et al., 2012).

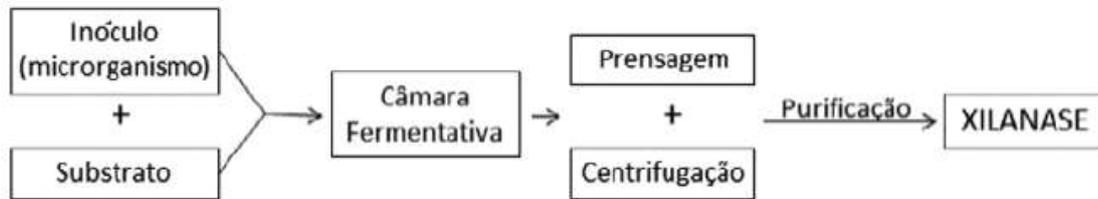
A hemicelulose é encontrada por toda a parte, em madeiras, plantas, ervas, cereais, entre outros e é denominada de acordo com a principal unidade de monômero de açúcar em sua estrutura. É encontrada em contato direto com a celulose e a lignina, formando os polissacarídeos estruturais das plantas.

Alguns alimentos possuem teores consideráveis de fibras e conseqüentemente polissacarídeos não amiláceos (PNA's). Os PNA's presentes nas plantas não podem ser digeridos por monogástricos devido as suas ligações químicas. Qualquer elemento que tenha digestão dificultada, atrapalha reflexamente a absorção de outros nutrientes. As fibras, mais precisamente, tem grande capacidade de reter água e formar uma substância gelatinosa (viscosa). Na maioria dos casos a fibra é constituída de hemicelulose, ou mais exatamente beta-glucanos e arabinoxilanos.

A maior parte da hemicelulose é constituída de “xilanas” e fica atrás somente da celulose quando se refere aos polissacarídeos de maior presença na natureza. Forma 30-35% do material da parede celular de gramíneas e cereais, 15-30% de madeiras e 7-10% de plantas resinosas (PALOHEIMO et al., 2001).

A produção de xilanase em escala industrial é oriunda da fermentação realizada por fungos, dentre eles principalmente *Aspergillus e Trichoderma*. Esta fermentação ocorre com o fornecimento de substratos necessários (minerais e carbono), bem como com fornecimentos de fatores ambientais propícios (pH e temperatura) aos microrganismos a partir de resíduos agrícolas. A enzima produzida é purificada, gerando assim o produto que será comercializado (SORIO et al., 2012). Na figura 3 pode-se observar as etapas do processo de produção da xilanase.

Figura 3: Processo de produção da xilanase.



Fonte: adaptado de Sorio et al., (2012).

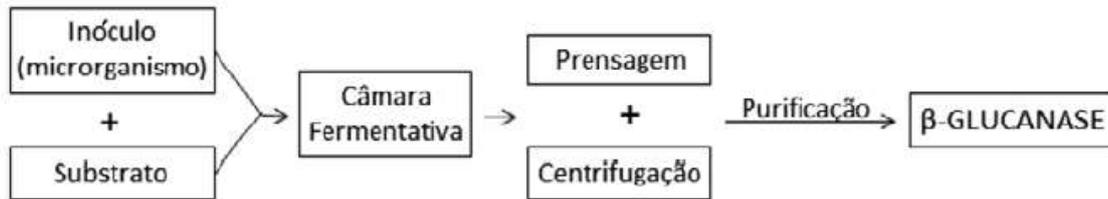
Quando a enzima hidrolisa PNA's, eleva em consequência a digestibilidade de alimentos ricos destes compostos como cevada, trigo, centeio e aveia. Estes alimentos têm em sua constituição compostos que levam ao aumento da viscosidade intestinal prejudicando a ação enzimática e a distribuição dos nutrientes no intestino, diminuindo a absorção e reduzindo a eficiência alimentar. Este fato é especialmente grave em aves jovens, pois o tempo de passagem dos alimentos pelo TGI é de apenas 4 horas. Quanto maior o percentual de PNA solúveis nas matérias primas, maiores são os benefícios com o uso de enzimas.

### **Beta-glucanase**

Esta classe de enzimas é também denominada carboidrase. Tem por finalidade hidrolisar polissacarídeos estruturais, como por exemplo, a celulose. Beta-glucanos são polímeros de glicose com ligações beta-1,4 e beta-1,3. Sua estrutura, bem como suas propriedades foram primeiramente estudadas em amostras de cevada para depois serem estudados em outros cereais (HENRY, 1988).

A beta-glucanase pode ser sintetizada por leveduras, fungos ou bactérias. Porém esta síntese não gera uma beta-glucanase especificamente e sim um conjunto de enzimas com mesma especificidade, mas com propriedades químicas diferentes. Em biorreatores são adicionados substrato (fonte de carbono) e inóculo (cepas de fungos/bactérias), para posterior purificação e determinação da atividade enzimática (SORIO et al., 2012). Na figura 4 tem-se as etapas do processo de produção da beta-glucanase.

Figura 4: Processo de produção da beta-glucanase



Fonte: adaptado de Sorio, et al., (2012).

Em experimento com poedeiras, Silva et al., (2012) avaliou a inclusão de carboidrases, como a beta-glucanase.. Os resultados demonstram diferença significativa para conversão alimentar, quando os animais receberam as enzimas. Esses resultados provavelmente são devido a melhoria no aproveitamento dos nutrientes do alimento.

Na Embrapa foi conduzido um ensaio avaliando o ganho sobre a energia metabolizável (EM) em função do uso de enzimas comerciais (NSP). Inicialmente foi conduzido um estudo com base nos resultados de metabolismo obtido ao longo dos últimos anos, para uma adequada configuração estatística do experimento. Nesta etapa, o que se observou é que para gerar um resultado consistente (estatisticamente significativo) é necessário que o ensaio tenha um número de repetições extremamente grande, como apresentado na Figura 05. Este gráfico demonstra que para que seja encontrada de forma consistente (aproximadamente 90% de probabilidade), um ganho na EM de 30 kcal/kg (aproximadamente 1% de ganho da EM de dietas de frangos de corte), são necessárias pelo menos 30 repetições por tratamento, prática esta, normalmente não adotada na formatação dos protocolos experimentais. Como consequência, a maioria dos ensaios não demonstram de forma consistente os ganhos energéticos decorrentes do uso de enzimas.

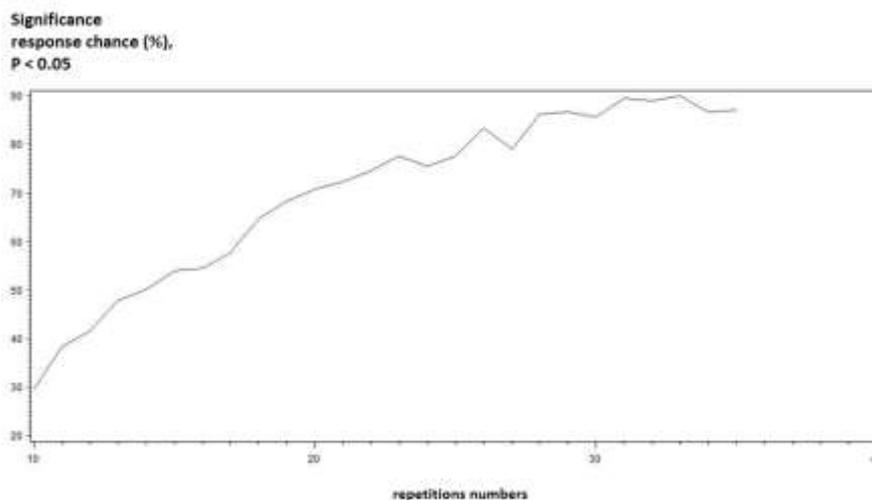


Figura 05. Número de repetições necessárias para que um ganho de 30 Kcal/kg de dieta de frangos de corte seja estatisticamente significativo ( $P < 0,05$ ).

A seguir (Figura 06), estão apresentados os resultados de EM das dietas contendo diferentes enzimas PNAs. Este experimento foi repetido no tempo, sendo conduzidos dois ensaios com 19 repetições/tempo. Analisando o primeiro ensaio, não foi obtida diferença significativa, embora os valores numéricos tenham ficado muito próximos entre os dois ensaios. Apenas após o segundo ensaio, totalizando 38 repetições, foi possível gerar dados consistentes (estatisticamente significativo).

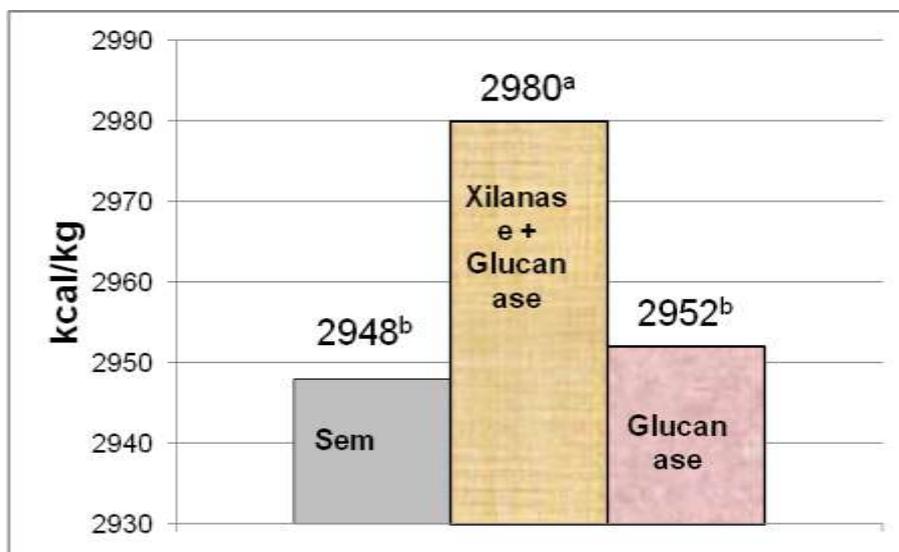


Figura 06. Resposta de energia metabolizável de dietas de frangos de corte a base de milho e farelo de soja, suplementadas com enzimas PNAs ( $P < 0,05$ ).

### **Mananase**

Compostos chamados de mananas podem ocorrer na forma de glucomanana, galactomanana, glucogalactomanana em polissacarídeos não amiláceos (PNA's) presentes nas plantas. São também componentes formadores da parede celular das plantas, como polissacarídeo de reserva e estão presentes em inúmeros ingredientes utilizados na alimentação animal, como por exemplo, no farelo de soja. Em consequência desta constante presença, estudos são conduzidos para desvendar o impacto que estes compostos oferecem ao desempenho dos animais. A beta-galactomanana por exemplo, é um polissacarídeo viscoso que pode levar a um aumento dos órgãos digestivos, aumentando a taxa de secreção pancreática (JACKSON, 2001).

Beta-mananos estão intimamente ligados com as porções fibrosas dos alimentos, causando aumento da viscosidade gastrointestinal, retardo do esvaziamento gástrico e ainda má utilização de nutrientes.

A beta-mananase tem o objetivo de auxiliar na eliminação das beta-mananas do organismo animal. Em suínos pesquisas demonstram que as beta-mananas tem participação na inibição da secreção de insulina (LEEDS, et al., 1980). O uso de mananase na prática é pouco expressivo. Aparentemente o mecanismo de ação desta enzima e os produtos oriundos de sua ação precisam ser melhor compreendidos.

### **Amilase**

As amilases realizam a hidrólise do amido e podem ser classificadas em alfa-amilases (endoamilases), beta-amilases (exoamilases) e glucoamilases (amiloglucosidases). A alfa-amilase é a mais utilizada para alimentação animal, sendo muito eficiente, em pouco tempo fragmenta polímeros de amido em estruturas menores. Outra característica fundamental desta enzima é a termoestabilidade, sobrevivendo a processos térmicos, como os de peletização.

A alfa-amilase é responsável por hidrolisar a cadeia linear da amilose, rompendo as ligações glicosídicas alfa-1,4, tendo como resultado as moléculas de glicose e maltose (HARGER et al., 1982).

Na prática, o uso de amilose tem sido ainda tímido. Na maioria dos casos, esta enzima compõe um blend enzimático.

### **Protease**

As proteases vem sendo avaliadas ao longos dos últimos anos de forma mais intensa. Assume-se que as proteases podem hidrolisar frações proteicas na presença de fatores antinutricionais, como as lectinas e inibidores de tripsina, elevando a digestibilidade de aminoácidos e a metabolização da energia da dieta. Com base nos resultados de pesquisas recentes é possível que haja um uso mais intensivo em dietas a base de milho e farelo de soja.

### **Literatura científica**

Levantamentos de literatura podem apresentar dados divergentes quando se trata de estatísticas de publicações. Realizando um levantamento na literatura científica editada na língua

inglesa, utilizando palavras chave e segregando as informações por período, é possível observar que existe tendência de um maior foco para enzimas específicas ao longo do tempo (Tabela 2).

É possível observar que a primeira publicação com enzima em alimento animal ocorreu em 1964. Entretanto, até a década de 80, foram poucos os trabalhos publicados, totalizando 6. Entre 1981 e 1990, foram encontradas 25 referências, já um pouco mais focadas em tipo de enzima (fitase e glucanase). Já no período de 1991 a 2000, se concentra o período de despertar para enzimas na nutrição alimentar, somando mais de 2000 artigos, e é possível observar também um crescimento no número de enzimas estudadas, especialmente lípases e proteases. A enzima mananase passou a ser estudada em período mais recente, observando-se a primeira publicação em 2003, totalizando 7 artigos no período de 2001 a 2010. Foi neste período também em que os estudos com fitases se intensificaram, e estas enzimas na atualidade (5 anos após o período em questão) são utilizadas de forma massiva na nutrição animal.

Duas outras interessantes considerações merecem atenção em relação a este levantamento (Tabela 2). A primeira, observar o que as pesquisas nos últimos 3 anos sinalizam (?). Existe uma tendência de redução no número de publicações relativas a enzimas e um predomínio nas pesquisas em protease, que por dedução, deverá ou poderá, ser a próxima enzima a ser utilizada de forma intensiva. A segunda observação sobre a qual vale refletir, é a interpretação dos números acumulados desde 1945 até 30 de junho de 2014. As enzimas foram muito estudadas, mais de 5000 artigos. Dentre as enzimas, a mais estudada foi a lipase, que não tem se mostrado consistente em termos de resposta na nutrição animal e conseqüentemente, não é adotada na prática, apesar de todo o esforço em estudá-la.

Por outro lado, a fitase por exemplo, que é intensamente empregada, não foi a enzima mais estudada, somando 385 artigos nestes quase 70 anos de levantamento. O que dizer das demais enzimas, como as PNAases? Pode-se observar de que foram razoavelmente exploradas cientificamente falando, e seu uso na prática esta mais condicionado a questões geográficas, que refletem por assim dizer, a plataforma de matérias primas para produção de rações, a exemplo de países que empregam cereais de inverno na composição das dietas.

Tabela 2 – Levantamento de publicações científicas ao longo de períodos temporais através da ferramenta *web of science*, utilizando palavras chave específicas.

Palavras chave	1945-1980	1981-1990	1991-2000	2001-2010	2011 – 30/junho 2014	Total
Enzyme+animal+feed	5 (1964)	20	1772	2407	1097	5301
Phytase+animal+feed	-	2 (1990)	70	225	88	385
Xylanase+animal+feed	-	-	35(1991)	112	55	202
Glucanase+animal+feed	-	3 (1990)	37	41	26	107
Protease+animal+feed	-	-	145(1991)	176	109	403
Mannase+animal+feed	-	-	-	7 (2003)	16	23
Lipase+animal+feed	1 (1979)	-	207	272	116	596

A seguir (Tabelas 3, 4 e 5) estão apresentadas mais informações sobre levantamento bibliográfico, neste caso, empregando palavras chave mais específicas para o tipo de animal em questão: broiler (frango), suíno (swine) e ave (poultry) .

Em se tratando de frangos, o primeiro trabalho publicado data de 1960. Ao longo dos 70 anos levantados, foram contabilizados mais de 2500 artigos, sendo a enzima mais estudada a fitase (38% das publicações) seguida da xilanase (16% ), glucanase (13,5%) e a protease (9%).

No que refere a suínos, foram identificados 2110 artigos, com maior ênfase para protease, seguida de fitase. Aparentemente, os artigos publicados com suínos não foram indexados de forma muito específica, quando considerado o tipo de enzima. As pesquisas contudo demonstram terem sido iniciadas mais cedo, em 1949.

Quando a busca foi realizada utilizando o termo ave (poultry), as resposta apresentaram um perfil diferenciado, com um total de publicações menor do que quando pesquisado com o termo frango (1800 publicações). O primeiro trabalho publicado foi em 1946, com predomínio das enzimas fitase e protease.

Tabela 3 – Levantamento de publicações científicas ao longo de períodos temporais através da ferramenta *web of science*, utilizando palavras chave específicas.

Palavras chave	1945-1980	1981-1990	1991-2000	2001-2010	2011 – 30/junho 2014	Total
Enzyme+broiler	7 (1960)	40	542	1334	639	2562
Phytase+broiler	-	2 (1990)	131	614	223	970
Xylanase+broiler	-	-	70(1992)	235	103	408
Glucanase+broiler	-	19(1981)	115	164	49	347
Protease+broiler	-	-	41(1991)	124	60	225
Mannase+broiler	-	-	-	2 (2002)	1	3
Lipase+broiler	-	7 (1982)	35	85	48	175

Tabela 4 – Levantamento de publicações científicas ao longo de períodos temporais através da ferramenta *web of science*, utilizando palavras chave específicas.

Palavras chave	1945-1980	1981-1990	1991-2000	2001-2010	2011 – 30/junho 2014	Total
Enzyme+swine	70(1949)	73	659	903	405	2110
Phytase+swine	-	-	26(1992)	134	37	197
Xylanase+swine	-	-	3 (1992)	19	3	25
Glucanase+swine	-	-	14(1991)	16	3	33
Protease+swine	5 (1971)	2	84	152	106	349
Mannase+swine	-	-	-	-	-	-
Lipase+swine	4 (1975)	5	25	30	21	85

Tabela 5 – Levantamento de publicações científicas ao longo de períodos temporais através da ferramenta *web of science*, utilizando palavras chave específicas.

Palavras chave	1945-1980	1981-1990	1991-2000	2001-2010	2011 – 30/junho 2014	Total
Enzyme+poultry	6 (1946)	25	387	950	432	1800
Phytase+poultry	-	-	45(1993)	223	108	376

Xylanase+poultry	-	-	34(1992)	90	38	162
Glucanase+poultry	1 (1978)	2	44	60	19	126
Protease+poultry	1 (1978)	2	39	124	78	244
Mannase+poultry	-	-	-	1 (2010)	-	1
Lipase+poultry	-	-	12(1991)	29	24	65

Fonte: web of science

### **Considerações Finais**

As tendências estarão não apenas condicionadas ao desenvolvimento de novas enzimas, mas também, como resposta a ajustes na metodologia de uso das atuais enzimas, passando a ser obtidas a partir de outros microrganismos ou novos processos de cultivo dos mesmos.

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.

Aspectos como formulação de dietas com o propósito de magnificar a eficiência de enzimas em dietas pode ser uma boa estratégia, desde que seja uma medida factível dentro da indústria de alimentação animal.

Critérios como granulometria de fontes de cálcio também apontam como uma das ações relevantes a serem implementadas na produção de rações. Entretanto, aspectos operacionais, como processo de peletização, homogeneidade de mistura, segregação no transporte, precisam ser considerados.

### **Referencias bibliográficas**

AAFCO, 2006. Official Publication AFFCO, ISBN 1-878341-18-9, 457 p.

AMFAP. Association of Manufacturers and Formulators of Enzyme Products. Disponível em: <http://www.amfep.org/content/list-enzymes>. 30/06/2014.

Henry, R. J. 1988. *Journal of the institute of Brewing*, 94, 71-78.

HARGER, C.; SPRADA, D.; HIRATSUKA, E. Amilase Fúngica. In: *Bioquímica das Fermentações*, 1982. 56 p.

Jackson, M. E. Mannanase, alpha-galactosidase, and pectinase. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. (Ed.). *Enzymes in farm animal nutrition*. Wallingford: CABI Publishing, 2001. p.54-84.

Liu, D., Guo, Y., Wang, Z., Yuan, J. 2010. Exogenous lysozyme influences *Clostridium perfringens* colonization and intestinal barrier function in broiler chickens. *Avian Pathology*, v. 39, n. 1, p. 17-24.

May, K.D., Wells, J.E., Maxwell, C.V., Oliver, W.T. 2011. Granulated lysozyme as an alternative to antibiotics improves growth performance and small intestine morphology of 10-day-old pigs. *Anim. Sci. Meeting*, 83.

Paloheimo M.; Piironen, J.; J, Vehmaampera. Xylanases and celulasas as feed additives. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. (Ed.). *Enzymes in farm animal nutrition*. Wallingford: CABI Publishing, 2001. p.12-53.

Pugh, R. 1993. The scope for enzymes in commercial feed formulations. *Proceedings of the 9<sup>th</sup> Annual Symposium on Biotechnology in the Feed Industry*, p. 369-372.

Riffel, A., Brandelli, A., 2006. Keratinolytic bacteria isolated from feather waste. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 37, p. 395-399.

Sainz, M. B. "Commercial cellulosic ethanol: The role of plant-expressed enzymes," *In Vitro Cellular and Developmental Biology: Plant*, vol. 45, no. 3, pp. 314–329, 2009.

Sanchez O. J.; Cardona C. A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresour. Technol.* 99: 5270–5295; 2008.

SILVA, L.M., GERALDO, A., VIEIRA FILHO, J.A., et al. Associação de carboidrase e fitase em dietas valorizadas para poedeiras semipesadas. *Acta Scientiarum*, v.34, n.3, p.253-258, 2012.

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

Slominski, B. A., T. Davie, M. C. Nyachoti, and O. Jones. 2007. Heat stability of endogenous and microbial phytase during feed pelleting. *Livest. Sci.* 109:244–246.

Sorio, A.; Braga, F.; Lima, F.; Maia, G.; Rasi, L.; DallOnder, L. O. Estudo de viabilidade técnica e econômica destinado a implantação do parque produtivo nacional de aditivos da indústria de alimentação de animais de produção. Méritos Editora. 2012.

Tiquia, S.M. 2002. Evolution of extracellular enzyme activities during manure composting. *J.Appl.Microbiol.*, v. 92, n. 4, p. 764-775.

VAN DER KLIS, J.D., VERSTEEGH, H.A.J. Phosphorus nutrition of poultry. In: *Recent Developments in Poultry Nutrition 2*. Nottingham University Press, p. 309- 320, 1999.