

ENZIMAS EXÓGENAS EM RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

Larissa Lopes da Silva¹
Brenda de Oliveira Horvath¹
Gabriela Macêdo Costa¹
Ricardo Costa de Oliveira¹
Cristine dos Santos Settimi Cysneiros¹
Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA¹

RESUMO

O custo com alimentação representa o principal impacto econômico na produção de frangos de corte. Nesse contexto, o uso de enzimas exógenas tem se destacado por melhorar a digestibilidade dos nutrientes, especialmente em dietas à base de milho e farelo de soja. Este trabalho teve como objetivo produzir e caracterizar um complexo enzimático (CE) a partir do fungo termofílico *Humicola grisea* var. *thermoidea*, avaliando seu potencial de aplicação na alimentação de frangos de corte. O CE foi obtido em meio de cultivo contendo grão de milho moído como fonte de carbono, a 42 °C por 72 horas. As enzimas CMCase e xilanase foram avaliadas quanto à atividade em diferentes faixas de pH (4,0 a 7,0) e temperaturas (30 °C e 50 °C), simulando as condições do trato gastrointestinal das aves. Os resultados demonstraram boa estabilidade enzimática nas condições testadas. A CMCase apresentou atividade máxima de 54,72 U/mL em pH 5,0 a 50 °C, enquanto a xilanase atingiu 124,6 U/mL em pH 4,0 e 50 °C. Esses dados indicam que o complexo enzimático produzido possui características compatíveis com o ambiente digestório das aves, sugerindo seu potencial uso como aditivo em rações para melhorar o aproveitamento dos nutrientes.

Palavras-chave: aditivo enzimático; fungo termofílico; nutrição de aves

INTRODUÇÃO

A alimentação é o fator de maior impacto econômico na produção animal. Nesse sentido, com a finalidade de melhorar o aproveitamento dos nutrientes em dietas à base de milho e farelo de soja para frangos de corte, o uso de biotecnologias, como a suplementação de enzimas exógenas, tem sido intensificado.

As enzimas exógenas aumentam a digestibilidade dos nutrientes, melhorando o desempenho dos animais, além de reduzir a excreção de minerais, principalmente o fósforo (FISCHER et al., 2002). Além disso, as enzimas podem reduzir a utilização de antibióticos na alimentação animal, atendendo à preocupação da população mundial quanto ao uso de produtos químicos na alimentação animal (TEIXEIRA, 2007).

Os microrganismos são excelentes produtores enzimáticos, e as enzimas comerciais são produzidas principalmente por bactérias e fungos. As carboidrases,

empregadas na hidrólise dos polissacarídeos, e a enzima fitase são as mais usadas em rações de aves e suínos (FIREMAN & FIREMAN, 1998).

Vários são os estudos relacionados à aplicação de enzimas em dietas de aves. No entanto, fatores como caracterização bioquímica das enzimas, estado fisiológico dos animais e a composição química do alimento podem contribuir para a variabilidade das respostas observadas com a adição de enzimas exógenas (CYSNEIROS et al., 2013).

Objetiva-se com este trabalho produzir e caracterizar um complexo enzimático produzido pelo fungo *Humicola grisea* em dieta à base de grão de milho e farelo de soja para frangos de corte.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a produção do complexo enzimático (CE), foi utilizado o fungo termofílico *Humicola grisea var. thermoidea*, conhecido por sua capacidade de produzir enzimas com estabilidade em condições de temperatura elevadas. A preparação do inóculo consistiu na utilização de cinco discos de cultura, com 5 mm de diâmetro cada, contendo esporos viáveis do microrganismo. Esses discos foram cuidadosamente transferidos para frascos tipo Erlenmeyers com volume total de 1,0 L, contendo 250 mL de meio de indução previamente preparado.

O meio de indução foi formulado com os seguintes componentes: 5 g/L de fonte de carbono, 3 g/L de extrato de levedura, 1,4 g/L de sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄), 0,3 g/L de cloreto de cálcio hexahidratado (CaCl₂·6H₂O), 0,3 g/L de sulfato de magnésio (MgSO₄) e traços de sulfato de cobre (CuSO₄) e sulfato de ferro (FeSO₄). Como fonte de carbono, foi utilizado o grão de milho, previamente moído em moinho tipo Willey, equipado com peneira com malha de 1 mm de diâmetro, a fim de padronizar o tamanho das partículas e garantir uma melhor indução enzimática.

Os frascos com o meio e os discos de cultura foram incubados sob agitação constante em um agitador rotatório (Controlled Environment Incubator Shaker, Brunswick Scientific Co. Inc., U.S.A), operando a uma temperatura de 42 °C e velocidade de 120 rpm. O tempo total de incubação foi de 72 horas, período após o qual o conteúdo foi submetido à filtração para remoção do material sólido. Em seguida,

o filtrado foi esterilizado, e alíquotas foram coletadas e centrifugadas a 4000 rpm, durante 10 minutos, com o objetivo de separar o sobrenadante enzimático para posterior análise.

Para a caracterização das enzimas presentes no complexo enzimático, foram realizados ensaios de determinação do pH ótimo de atividade. As enzimas analisadas foram a CMCCase (carboximetilcelulase) e a xilanase, e os testes foram conduzidos em tampão citrato-fosfato 50 mmol·L⁻¹, nas faixas de pH 3,0, 5,0, 6,0 e 7,0. Essa variação teve como finalidade verificar se as enzimas mantinham atividade em uma faixa compatível com o pH do trato gastrointestinal das aves, que varia entre 4,0 e 8,0.

Além dos ensaios de pH, também foram realizados testes para determinação da temperatura ótima de atividade enzimática. Esses testes visaram avaliar se as enzimas produzidas permaneciam ativas nas temperaturas características do trato digestório das aves, geralmente entre 40 °C e 42 °C. Para isso, as atividades de CMCCase e xilanase foram mensuradas nas temperaturas de 40 °C e 50 °C, também utilizando o tampão citrato-fosfato 50 mmol·L⁻¹ como meio reacional.

RESULTADOS

Na Tabela 1, são apresentados os resultados obtidos quanto à influência do pH e da temperatura sobre a atividade das enzimas CMCCase e xilanase produzidas pelo fungo *Humicola grisea var. thermoidea*. De acordo com os dados observados, verificou-se que ambas as enzimas apresentaram boa atividade em uma ampla faixa de pH, variando de 3,0 a 7,0, e também se mantiveram ativas em temperaturas de 40 °C e 50 °C, quando cultivadas em meio contendo grão de milho como fonte de carbono.

Tabela 1. Atividade das enzimas CMCCase e xilanase em diferentes temperaturas e pH's

| pH | Temperatura (°C) | CMCase U/ml | Xilanase U/ml |
|----|------------------|-------------|---------------|
| 3 | 40°C | 1,59 | 17,5 |
| 4 | 40°C | 0,10 | 23,4 |
| 5 | 40°C | 26,28 | 22,4 |
| 6 | 40°C | 27,13 | 24,6 |
| 7 | 40°C | 24,20 | 21,5 |
| 3 | 50°C | 33,02 | 117,7 |
| 4 | 50°C | 38,66 | 124,6 |
| 5 | 60°C | 54,72 | 22,2 |
| 6 | 50°C | 37,74 | 22,2 |

| | | | |
|---|------|-------|-------|
| 7 | 50°C | 52,40 | 17,59 |
|---|------|-------|-------|

Fonte: Autoral

Em relação à enzima CMCase, a maior atividade específica foi registrada sob as condições de pH 5,0 e temperatura de 50 °C, atingindo um valor de 54,72 U/mL. Já para a enzima xilanase, o ponto ótimo de atividade foi verificado na mesma temperatura (50 °C), porém em pH 4,0, com um valor máximo de 124,6 U/mL.

Considerando o uso dessas enzimas como aditivos em rações destinadas à alimentação de frangos de corte, é fundamental que apresentem estabilidade em condições fisiológicas típicas do trato gastrointestinal das aves, o qual apresenta temperatura média entre 40 °C e 42 °C e pH variando de 4,0 a 8,0. Com base nesses parâmetros, os resultados obtidos neste estudo indicam que tanto a CMCase quanto a xilanase mantêm atividade nas condições simuladas, o que sugere seu potencial de aplicação como coadjuvantes digestivos em dietas avícolas.

CONCLUSÃO

O fungo *Humicola grisea* var. *thermoidea* demonstrou ser um microrganismo promissor na produção de enzimas com potencial aplicação na alimentação de frangos de corte. As produzidas apresentaram atividade em faixas de temperatura e pH compatíveis com as condições fisiológicas do trato gastrointestinal das aves. Os resultados indicam que o complexo enzimático obtido possui características desejáveis para uso como aditivo em dietas avícolas, o que poderá contribuir para melhorar a digestibilidade dos nutrientes e, conseqüentemente, no desempenho produtivo das aves.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA, pelo apoio institucional e pela concessão da bolsa de pesquisa, essencial para o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço também à professora Cristine dos Santos Settimi Cysneiros, orientadora desse projeto, aos colegas Brenda de Oliveira Horvath, Gabriela Macêdo Costa, Ricardo Costa de Oliveira, bem como à equipe técnica envolvida na execução das atividades experimentais, pelo suporte oferecido ao longo do projeto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CYSNEIROS, C. S. S.; NASSAR, R. F.; OLIVEIRA, M. A.; FAVORETTO, A. O.; ARNHOLD, E.; ULHOA, C. J. Produção, caracterização e avaliação de enzimas fibrolíticas na digestibilidade de forragem de milho. *Ciência Animal Brasileira*, v. 14, n. 4, p. 426-435, 2013.

FIREMAN, F. A. T.; FIREMAN, A. K. B. A. T. Enzimas na alimentação de suínos. *Ciência Rural*, v.28, n.1, p.173-178, 1998.

FISCHER, G. et al. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas a base de milho e farelo de soja, com ou sem adição de enzimas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.1, p.402- 410, 2002.

TEIXEIRA, M. Anátomo-clínica e biologia em frangos de corte experimentalmente infectados com *Eimeria acervulina* e suplementados com betaína. 2007. 60f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.