

USO DE ENZIMAS EXÓGENAS EN LA ALIMENTACIÓN DE LAS AVES

Hank Classen
Department of Animal and Poultry Science
University of Saskatchewan,
Saskatoon, Saskatchewan, Canada S7N 5A8

INTRODUCCIÓN

Desde hace tiempo se conoce el potencial de usar enzimas exógenas en la alimentación animal, aunque su aplicación práctica se ha realizado sólo durante los últimos 25 años, con un uso cada vez mayor. El objetivo primordial de utilizar enzimas es la hidrólisis de los componentes de alimento que afectan la utilización de los nutrimentos, aunque también se pueden usar para reducir el impacto ambiental de la producción animal, al disminuir el contenido de nutrimentos en las excretas. El éxito en la aplicación de la tecnología de las enzimas depende de la consistencia de su efecto benéfico, mismo que a su vez se logra cuando se cuenta con el conocimiento de los sustratos y sus efectos nutricionales, así como de las actividades de las enzimas apropiadas y las condiciones de reacción que dichas enzimas requieren para efectuar su actividad adecuadamente. El presente trabajo no pretende hacer una revisión de todos los aspectos relacionados con el uso de las enzimas en la alimentación animal, sino que nos enfocaremos hacia los principios de mayor interés. Si se desea contar con una descripción más detallada del uso de las enzimas en la nutrición de los animales de granja, véase Bedford y Partridge (2001)⁵, y otras revisiones.¹¹

PRINCIPIOS DEL USO DE ENZIMAS

Las enzimas son proteínas catalizadoras de reacciones químicas en los sistemas biológicos. Aun cuando participan en una amplia gama de reacciones, cada enzima específica se limita estrictamente a su capacidad catalítica, por lo que es esencial conocer tanto la reacción como el sustrato de la misma, para seleccionar la enzima con la actividad apropiada. Esto no sólo requiere la identificación y caracterización del sustrato, sino que en el caso de las enzimas usadas en los alimentos balanceados debemos conocer también su significado en la nutrición animal. También resulta de utilidad contar con información sobre la variabilidad del sustrato en los ingredientes del alimento y su interacción con otros componentes del mismo.

El papel catalítico de las enzimas depende de diversos factores, como la concentración del sustrato y de la enzima y el medio ambiente en que habrá de ocurrir la reacción. La temperatura, el pH, el contenido de humedad y la presencia de coenzimas e inhibidores son algunos de los factores más importantes a considerar.

ÁREAS DE APLICACIÓN POTENCIAL DE LAS ENZIMAS EN EL ALIMENTO

El uso de enzimas en las raciones pecuarias se puede clasificar —a grandes rasgos— en diversas categorías que no se excluyen entre sí, a saber: (1) eliminación de factores antinutricionales (*ANF*, por sus siglas en inglés); (2) aumento de la digestibilidad de los nutrimentos existentes; (3) aumento de la digestibilidad de los polisacáridos no amiláceos

(NSP, por sus siglas en inglés) y (4) suplementación de las enzimas endógenas del huésped. Más recientemente también ha habido evidencia de una categoría adicional que – aunque no es independiente de las anteriores– merece un comentario especial... me refiero a la salud animal.

Eliminación de factores antinutricionales. El Cuadro 1 presenta una lista de los ingredientes más comunes con los factores antinutricionales que frecuentemente contienen. Dicho cuadro no pretende incluir todos los factores antinutricionales que existen, sino que sólo muestra algunos de ellos. Es importante notar que no siempre los compuestos que contienen factores antinutricionales afectan adversamente la alimentación animal debido a su bajo nivel en los ingredientes. Por ejemplo, en los granos de cereales podemos aislar inhibidores de la tripsina, pero la evidencia existente hasta la fecha indica que no tienen efecto sobre el valor nutricional. De manera similar, la presencia de factores antinutricionales no indica necesariamente que sea posible utilizar enzimas suplementarias para eliminar su efecto.

Se utilizan ampliamente fuentes de enzimas para eliminar los efectos antinutricionales de los polisacáridos no amiláceos (β -glucanos y arabinoxilanos) presentes en la pared celular de los granos de cereales. Una vez solubilizados de la pared celular, estos polisacáridos no amiláceos reducen la retención de nutrientes y causan problemas de rendimiento y cama húmeda. Se agrega a la dieta la actividad de enzima seleccionada específicamente para hidrolizar al factor dañino, con el fin de mejorar el valor nutricional del grano. El uso de enzimas para este propósito está bien documentado en el caso de la cebada, la avena, el trigo, el triticale y el centeno.

El ácido fítico (y los fitatos, que son las sales de éste) se presentan ampliamente en los ingredientes de origen vegetal.⁴⁰ El fósforo que contiene la molécula de fitato tiene muy poca disponibilidad para los monogástricos, por lo que el uso de una enzima conocida como fitasa hidroliza al ácido fítico, constituyendo así un ejemplo de las enzimas que incrementan la utilización de los nutrimentos existentes (véase la siguiente sección). No obstante, los fitatos también se pueden clasificar como factores antinutricionales por su poderosa capacidad quelante y porque se ha demostrado que tienen efectos negativos sobre la retención de cationes multivalentes, como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} y Zn^{2+} . Los fitatos también pueden reducir la disponibilidad de proteína y energía e inhibir a las enzimas digestivas. La investigación reciente ha demostrado que el fitato incrementa la excreción de minerales y aminoácidos endógenos, y que la adición de fitasa a la dieta reduce este efecto.¹⁹ Esto sugiere que una parte del efecto benéfico del uso de fitasas en la dieta consiste en reducir las pérdidas endógenas de estos nutrimentos. En la actualidad ya es común la aplicación de fitasas comerciales y es probable que su importancia siga aumentando en el futuro.

Es posible encontrar fitasas que hidrolizan a los inhibidores de las proteasas (Kunitz, Bowman Birk)³⁸ y a las lecitinas de la soya (Classen, dato no publicado) *in vitro*, aunque todavía falta investigar si son efectivas *in vivo* o si se pueden utilizar durante el procesamiento de las semillas de oleaginosas. Posiblemente éste sea el caso cuando la baja concentración del sustrato o la falta de especificidad degradante de la enzima puedan limitar la oportunidad de esta aplicación. También se puede haber considerado que los α -

galactósidos presentes en la pasta de soya tengan efectos antinutricionales, que se pueden reducir o eliminar usando una fuente enzimática apropiada (α -galactosidasa). Sin embargo, el impacto del uso de esta enzima todavía causa controversia.^{23, 24, 29, 33} También se han publicado revisiones de los factores antinutricionales^{30, 55} y del uso de otras enzimas para eliminarlos.^{11, 17, 28, 37}

Aumento de la digestibilidad de nutrimentos existentes. Cuando los animales no logran retener todos los nutrimentos que consumen en los ingredientes de la ración, están reflejando el nivel de su disponibilidad en el ingrediente, así como el nivel de efectividad del tracto digestivo del animal. La poca disponibilidad de los nutrientes de los ingredientes, con frecuencia es resultado de la falta de enzimas endógenas para extraerlos a partir de los complejos que existen en los ingredientes. Debido a que los monogástricos carecen del complemento enzimático para digerir muchas de las fracciones de polisacáridos no amiláceos, estos materiales pueden impedir el acceso de las enzimas endógenas a nutrimentos valiosos. La digestión de nutrimentos en los sitios más proximales del intestino delgado también es consecuencia de la hidrólisis de la fibra, con los nutrimentos resultantes más probablemente utilizados por el huésped que la digestión en sitios más distales, que muy probablemente implique a la microflora intestinal.²⁷ Otro ejemplo de enzimas que hacen más disponibles a los nutrimentos es el uso de la fitasa, que hace posible la disponibilidad del fósforo ligado al ácido fítico presente en los ingredientes.⁴⁷ Esta aplicación ha atraído mucho la atención debido a la reducción del fósforo fecal y –por lo tanto– al menor impacto de las excretas pecuarias sobre el medio ambiente. En términos generales, las enzimas utilizadas en la dieta son herramientas importantes para reducir la contaminación ambiental resultante de la producción animal, pues aumentan la eficiencia en la utilización del alimento y en otros criterios del rendimiento.

Aumento de la digestibilidad de los polisacáridos no amiláceos. Los animales monogástricos tienen diferentes capacidades de degradar a los polisacáridos no amiláceos, dependiendo de la naturaleza de la fracción y del tiempo de exposición del bolo alimenticio a las enzimas digestivas y a la microflora intestinal. En términos generales, podemos decir que estos animales no tienen capacidad endógena de hidrolizar estos materiales; sin embargo, la fermentación que ocurre en el intestino grueso puede producir la hidrólisis de polisacáridos no amiláceos, particularmente de sus componentes solubles. La importancia de esta fermentación en la parte posterior del intestino es específica de especie y en el caso de las aves es baja, pues en ellas el tiempo de retención del bolo alimenticio es breve y el área de fermentación es pequeña (ciegos e intestino grueso).

Las enzimas exógenas poseen la capacidad de hidrolizar a los polisacáridos no amiláceos, dando al animal la potencialidad de utilizarlos. La hidrólisis completa de estos polisacáridos, liberando a los monosacáridos que los constituyen, podría permitir su absorción y utilización antes de llegar al intestino grueso. No obstante, probablemente éste no sea el principal modo de acción en las aves, pues es posible que no ocurra la hidrólisis completa de los polisacáridos no amiláceos en el breve tiempo de paso del alimento por el tracto digestivo. Asimismo, el beneficio exacto de la liberación de los monosacáridos para el animal estaría determinado por la naturaleza del compuesto, toda vez que sería posible detener la glucosa, pero es más cuestionable la utilización de otros monosacáridos.^{43, 44} De hecho, los principales monosacáridos presentes en los polisacáridos no amiláceos de las

plantas, como la xilosa y la arabinosa, se utilizan con mucha deficiencia e incluso causan un efecto negativo si están presentes en grandes cantidades. Independientemente de ello, se ha documentado un aumento en la digestibilidad de los polisacáridos no amiláceos mediante el uso de enzimas degradantes de la fibra.⁴⁸

La hidrólisis parcial de los polisacáridos no amiláceos antes de que lleguen al intestino grueso como resultado del uso de enzimas exógenas también puede facilitar y acelerar la degradación microbiana en esta parte del intestino. La investigación realizada en Australia ha demostrado que la adición de polisacáridos no amiláceos solubles del trigo a una dieta elaborada a base de sorgo incrementa la producción microbiana de ácidos grasos volátiles en el íleon de los pollos, con poco o ningún efecto en los ciegos. Este tratamiento se asoció con problemas del rendimiento, sugiriendo que es indeseable el aumento de la participación microbiana en el intestino delgado. El uso de enzimas en la dieta para hidrolizar esta fracción disminuyó dramáticamente la producción de ácidos grasos volátiles en el intestino delgado e incrementó su producción en los ciegos.¹⁶ Como ya indicamos, el significado práctico de los ácidos grasos volátiles en el ciego de las aves todavía no está claro. Un efecto positivo de los ácidos grasos volátiles en el balance de la energía podría estar relacionado con la cantidad de polisacáridos no amiláceos disponibles para degradación, con la capacidad fermentativa del intestino grueso y con la capacidad del animal de utilizar los ácidos grasos volátiles.

Cómo suplementar la producción de enzimas endógenas del huésped.

Normalmente se considera que la producción de enzimas endógenas del animal huésped es de adecuada a excesiva; sin embargo, en ocasiones éste puede no ser el caso. La capacidad digestiva de los monogástricos va cambiando con la edad y, en las aves jóvenes, puede ser inadecuada.³⁴ Los constituyentes de la dieta también pueden afectar la cantidad producida de enzimas endógenas efectivas y esto también hace necesaria la suplementación con fuentes exógenas.^{1, 26}

La salud de los animales.

El uso de antibióticos promotores del crecimiento en la producción animal está sufriendo considerable escrutinio, al grado que en algunas partes del mundo ya se ha eliminado completamente su utilización. Como consecuencia, cada vez hay más interés en establecer técnicas nutricionales y de manejo capaces de promover una microflora intestinal estable y de mejorar la salud de las aves en ausencia de dichos promotores del crecimiento. Se considera que las enzimas para la ración son productos naturales que tienen efectos benéficos sobre la salud del intestino y de todo el animal. Es bien sabido que el uso en la ración de cereales que contienen polisacáridos viscosos no amiláceos da como resultado un incremento en la población microbiana del intestino delgado del pollo.⁵³ El descubrimiento de que los efectos nocivos de estos carbohidratos viscosos se reduce de manera importante o incluso se elimina en las aves libres de gérmenes, demuestra los efectos adversos del cambio en el estado que guardan los microbios.⁴⁵ En contraste, el uso apropiado de enzimas en la dieta reduce el número de gérmenes en el intestino delgado concomitantemente con un aumento en la fermentación cecal y un mejoramiento en el desempeño de las aves. Bedford y Apajalahti (2001)³ publicaron la hipótesis de que esta respuesta se debe a la eliminación del sustrato en el intestino delgado y a un incremento en el “sustrato benéfico” en la forma de oligómeros de menor peso molecular

en los ciegos. También se ha demostrado que el uso en la dieta de granos que contienen carbohidratos viscosos incrementa la incidencia de enteritis necrótica en el pollo de engorda.^{7, 20, 41, 50} Se ha sugerido que el uso de enzimas reduce la incidencia de esta enfermedad²¹, aunque en otra investigación se presentó evidencia contradictoria.⁴¹ También se ha demostrado que otros tipos de enzimas tienen efectos benéficos sobre la salud de las aves.³¹ Independientemente del mecanismo, parece seguro el decir que algunas enzimas en la dieta pueden estabilizar la ecología microbiana en el intestino, y la mayoría de la evidencia sugiere que esto tiene efectos benéficos para la salud de las aves.

LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS SUSTRATOS Y EL USO DE ENZIMAS

En muchas ocasiones se ha publicado que existen respuestas benéficas a la adición de enzimas en la dieta de los animales, aunque cuando menos algunos de estos experimentos han dependido más de la buena suerte que de un conocimiento profundo del sustrato que se desea hidrolizar. Aun cuando este tipo de investigación tipo "caja negra" en ocasiones puede abrir líneas interesantes de investigación, el éxito a largo plazo del uso de enzimas se debe basar en la correcta identificación de los sustratos que se van a hidrolizar.

Como ya indicamos, la identificación y caracterización del sustrato son factores relativamente bien establecidos en los granos de cereales. Los efectos antinutricionales de la cebada, particularmente en las aves, se asocian con componentes presentes en la pared celular de este grano. Dicha pared celular es compleja y está compuesta principalmente por carbohidratos y, en menor medida, proteína y ácidos fenólicos. La fracción de carbohidratos consiste en microfibrillas de celulosa que son insolubles y se consideran nutricionalmente inertes, mientras que la mayor parte de dicha fracción consiste principalmente en β -glucano y arabinoxilano. Dado que las especies avícolas no son capaces de hidrolizar estos carbohidratos, su presencia puede impedir el acceso de las enzimas endógenas a los nutrientes que se encuentran en el interior de las células del grano. Además, algunas fracciones del β -glucano y del arabinoxilano se hacen solubles después de la ingestión, causando con ello un incremento en la viscosidad del bolo alimenticio y esto causa una serie de efectos negativos como la mala absorción de los nutrimentos, el crecimiento de microbios en el intestino delgado y deficiencias en la productividad del animal. El uso de enzimas en el alimento capaces de hidrolizar los constituyentes de la pared celular puede eliminar efectivamente estos efectos antinutricionales, haciendo de la cebada un grano alternativo aceptable para la alimentación incluso de aves jóvenes. El conocimiento de los efectos de sustratos específicos en la nutrición animal y su sitio de acción en el tracto digestivo, son necesarios para asegurar que se están utilizando las enzimas con las características apropiadas. El uso de centeno produce efectos similares, pero mayores a los que indicamos con la cebada. En el centeno, los efectos negativos se atribuyen a los arabinoxilanos localizados en las fracciones de gran peso molecular de la pared celular del grano, que se liberan al ir pasando por el tracto digestivo.⁴ La liberación de esta fracción continúa ocurriendo hasta la porción distal del intestino delgado, por lo que es necesario mantener la actividad endolítica en este sitio. En contraste, la hidrólisis enzimática puede ocurrir en una porción más anterior del tracto digestivo como el buche, el proventrículo o la molleja de los pollos, en el caso de sustratos fácilmente disponibles. Durante mucho tiempo se ha considerado al trigo como un grano forrajero de alta calidad para las aves, aunque la evidencia demuestra que las fracciones de la pared celular de este grano también pueden causar efectos

antinutricionales.^{4, 8, 15, 54} Se ha demostrado que las enzimas microbianas son efectivas para mejorar el valor nutricional del trigo, por lo que ahora se les utiliza rutinariamente en áreas del mundo donde este grano es un ingrediente forrajero de uso común.

Como ocurre con la mayoría de las características, es posible que haya variaciones tanto en la cantidad como en los atributos de los sustratos de interés, incluso dentro de ingredientes específicos. En el caso de los granos de cereales, el peso molecular, la solubilidad y la estructura química de los constituyentes de la pared celular, pueden tener efectos importantes sobre el grado de la actividad antinutricional. En el caso de la cebada, están bien establecidos los efectos de la genética y del medio ambiente sobre el valor nutricional –y más específicamente sobre la naturaleza de los componentes de la pared celular– y nos ayudan a calcular la variabilidad del grado de respuesta ante el uso de enzimas en la ración.¹² Además de los efectos obvios sobre la calidad nutricional, las enzimas en el alimento reducen la variabilidad de los ingredientes, permitiendo así realizar una formulación más precisa y –presumiblemente– nos dan la oportunidad de incluir menores márgenes de seguridad.¹⁸ En el caso de los granos de cereales, el tratamiento con calor puede producir una mayor respuesta al uso de las enzimas en la dieta, supuestamente al hacer que el sustrato quede más disponible para la degradación.⁴⁸

INTERFASE ANIMAL - ENZIMA EN LA RACIÓN

Es vital comprender los fundamentos de la fisiología digestiva del animal para aplicar correctamente las enzimas en el alimento. Ya indicamos que la utilidad de estas enzimas depende de que existan las condiciones apropiadas durante la reacción. Por lo tanto, la naturaleza del ambiente digestivo del huésped es importante para usar enzimas en la ración. El conocimiento del sitio de acción de la enzima es esencial para seleccionarla correctamente (pH óptimo). De la misma manera, el tiempo real de paso del alimento por el aparato digestivo ejerce influencia sobre la naturaleza de la hidrólisis posible. Por ejemplo, la digestión gástrica ocurre en el pollo durante 20 a 40 minutos. Como ya indicamos, la edad del animal también puede influir en el ambiente del tracto digestivo. El uso de cebada o granos con efectos similares tiene un efecto de gran importancia en las aves jóvenes.⁴² No se han identificado los aspectos del ambiente digestivo que cambian con la edad, pero pueden incluir la capacidad de movilizar un bolo alimenticio viscoso, la menor actividad de enzimas endógenas o las modificaciones en la microflora intestinal.

FUENTES DE ENZIMAS Y SUS CARACTERÍSTICAS

Las enzimas presentes en los alimentos pecuarios pueden derivar de fuentes de origen microbiano, vegetal o animal, aunque la mayoría procede de la fermentación bacteriana y micótica, siendo estas últimas las que se utilizan principalmente en los suplementos comerciales.¹⁴ Las enzimas microbianas desempeñan un papel de gran importancia en el ciclo de la materia orgánica en la naturaleza. Por lo tanto, no debe sorprendernos que los microorganismos produzcan actividades enzimáticas capaces de hidrolizar una amplia gama de compuestos, incluyendo a los que pueden ser de importancia en la nutrición animal. La diversidad de sustratos y de condiciones ambientales ha promovido la evolución de microbios que producen un gran número de actividades enzimáticas con una amplia gama de niveles óptimos de temperatura y pH. Se sabe que los cultivos de fermentación individuales producen una mezcla compleja de actividades enzimáticas, caracterizada por multiplicidad de formas de enzimas y especificidades de sustrato. Las técnicas modernas

de biología molecular han complicado todavía más la situación, pues han aumentado la producción de actividades enzimáticas específicas a través de la ingeniería genética. En el futuro será posible que las plantas produzcan enzimas micóticas o bacterianas. La ingeniería genética ha producido plantas de tabaco y nabo que expresan en sus semillas la fitasa de *Aspergillus niger*.^{6, 39} Parece que esta fitasa ubicada en la semilla funciona tan eficientemente como la derivada directamente de la fermentación del citado hongo. En conclusión, son muchos los organismos capaces de producir enzimas que se pueden utilizar con éxito en la industria de la alimentación animal y por ello, la selección de las enzimas de un organismo específico tal vez no sea crucial para el éxito en su utilización. Con base en la legislación que en materia de alimentación animal existe en varios países, algunos microorganismos ya se consideran seguros como ingredientes alimenticios y, por lo tanto, son los que se pueden utilizar con más facilidad como fuentes de enzimas; no obstante, tal vez en el futuro veamos una gama mucho más amplia de organismos utilizados rutinariamente para la producción de enzimas.

La naturaleza de las enzimas para la ración puede variar desde productos crudos de la fermentación microbiana con muy poca separación de las actividades enzimáticas (o sin ella), hasta mezclas de tipos específicos de enzimas procedentes de diversas especies. Las fuentes de las enzimas se deben seleccionar con base en sus actividades, diseñadas a la medida del sustrato de interés y para las condiciones correspondientes de la reacción. Dado que muchos sustratos son complejos, por lo general se utilizan mezclas (cócteles) de enzimas en el alimento que contienen actividades de importancia primaria, además de otras de índole secundaria, que tal vez no se hayan caracterizado aún de manera definitiva. Es frecuente que las mezclas de enzimas produzcan efectos más deseables que las fuentes purificadas de una actividad enzimática específica.^{25, 57}

Análisis de las enzimas.

La evaluación de las fuentes de enzimas para actividades específicas continúa representando un problema para la industria, pues la metodología de los análisis no es uniforme, e incluso cuando se utiliza una misma técnica, se presentan grandes variaciones entre los laboratorios.² Al igual que con el uso de las enzimas para las raciones pecuarias, la naturaleza del sustrato (no siempre representativo del que se encuentra en el ingrediente alimenticio) así como la temperatura y el pH del procedimiento de análisis, pueden tener un impacto de gran importancia en la calificación de las fuentes de enzimas. Se están haciendo intentos de estandarizar los procedimientos analíticos, como primer paso importante, aun cuando la variabilidad sigue siendo alta. Debido a la pequeña cantidad de enzima que se utiliza en las raciones, al potencial de unión entre la enzima y el sustrato, y a la posibilidad de que existan inhibidores solubles en el alimento, los procedimientos de análisis para dietas terminadas son todavía menos exactos; no obstante, se están obteniendo progresos, al punto de que ahora contamos con análisis más sensibles para supervisar con más precisión las actividades enzimáticas clave en los alimentos.^{36, 52} Incluso con el desarrollo y la estandarización de las técnicas, no debemos olvidar que el método principal para determinar la calidad de un producto enzimático es la realización de pruebas biológicas bajo condiciones comerciales de fabricación del alimento y de producción animal. El objetivo de usar enzimas en la ración es obtener respuestas significativas bajo dichas condiciones.

Estabilidad de las enzimas.

Para tener éxito en la aplicación de enzimas en el alimento es necesario que las actividades de interés sobrevivan a los rigores de la fabricación del alimento así como al pH bajo y a las enzimas proteolíticas presentes en el tracto digestivo. La naturaleza química de las enzimas las hace potencialmente susceptibles a estos factores, por lo que es necesario tomar precauciones para aplicar con éxito la tecnología de las enzimas para la ración. Entre otros factores, el almacenamiento de estas enzimas depende de las condiciones del mismo y de la naturaleza de la fuente de la enzima (líquida vs. seca). Sin embargo, por lo general no se presentan problemas de almacenamiento si se evitan extremos de temperatura y si se toman en cuenta las consideraciones de almacenamiento recomendadas por el fabricante. Se ha tenido éxito a corto plazo con su inclusión en las premezclas de vitaminas y minerales, pero la posible interacción de las enzimas con los componentes minerales sugiere que esta mezcla es menos deseable que el almacenamiento separado. Otros componentes de la dieta también pueden afectar la actividad de las enzimas agregadas a la ración, aunque la investigación realizada sobre este particular no ha sido muy extensa. Se ha demostrado que existen interacciones entre el calcio de la dieta y la fitasa y la α -galactosidasa, indicando que es necesario tomar en cuenta el nivel de calcio de la ración al establecer los niveles de suplementación con estas enzimas.^{47, 48} Los ingredientes que contienen niveles elevados de inhibidores de enzimas pueden representar un problema, aunque esto ejercería influencia sobre la actividad enzimática tanto endógena como exógena. Parece que los antibióticos no ejercen un efecto nocivo sobre la actividad de las enzimas.

La exposición a la humedad y a temperaturas elevadas durante la peletización tiene el potencial de dañar a las enzimas usadas en la ración, por lo que se han diseñado técnicas como la absorción en vehículos especializados y el encapsulamiento, para estabilizar a las enzimas incrementando así su capacidad de aceptar las temperaturas de la peletización. Independientemente, la presencia de enzimas en la ración durante el peleteado requiere supervisar y registrar ("*monitorear*") con todo cuidado la temperatura, a fin de utilizar condiciones dentro de los límites establecidos por el proveedor de la enzima. También se debe tener en cuenta el mantenimiento de la actividad enzimática de la dieta en el tracto digestivo, y ésta es específica para cada enzima individual. Por lo tanto, es imposible hacer generalizaciones válidas para todas las enzimas. El hecho de que los animales respondan a las enzimas de diferentes tipos en la ración sugiere que si se seleccionan con base en técnicas apropiadas de análisis general, el tracto gastrointestinal no representa un problema insuperable.

Aplicación de las enzimas.

El método de aplicación de las enzimas al alimento puede tener un impacto importante sobre la eficacia de la respuesta. Actualmente estas enzimas se comercializan en forma de líquidos o polvos y se aplican durante el mezclado o después del procedimiento de peletización. La decisión final sobre la forma y el momento de la aplicación debe tomar en cuenta factores tales como la exposición a temperaturas elevadas y otras condiciones capaces de desnaturalizar a las enzimas, las tasas precisas de aplicación e incluso de distribución en el alimento. Antes de adoptar un sistema específico es necesario contar con evidencias de que la enzima sobrevive al procesamiento y de que brinda respuestas biológicas uniformes después de su administración en la dieta.

APLICACIÓN DE LAS ENZIMAS DURANTE EL PROCESAMIENTO DE LOS INGREDIENTES

En la mayor parte de esta publicación hemos descrito la adición de enzimas al alimento durante el proceso de fabricación del mismo, pero una alternativa que no se ha utilizado ampliamente hasta la fecha es la aplicación de las enzimas a los ingredientes antes de que lleguen a la planta de alimentos. Este enfoque es particularmente apropiado para materiales que se procesan desde antes de mezclarlos en la ración, lo cual incluye a la mayoría de los ingredientes ricos en proteína, como la pasta de soya, la pasta de canola y la harina de pluma. También se debe demostrar el éxito del pretratamiento con enzimas en la hidrólisis de sustratos complejos que requieren una interacción más amplia entre éstos y la enzima, de lo que se puede lograr en el tracto digestivo.

INGREDIENTES ALIMENTICIOS ADECUADOS PARA EL TRATAMIENTO CON ENZIMAS

Ya existe una serie de aplicaciones exitosas de las enzimas para una amplia gama de ingredientes alimenticios. Los cereales como la cebada, la avena, el centeno, el trigo y el triticale contienen fracciones viscosas de fibra soluble que se pueden mejorar significativamente si se utilizan las fuentes adecuadas de enzimas. La fuente de actividad enzimática principal que se requiere para el mejoramiento de la cebada y la avena es la endo- β -glucanasa, mientras que la actividad de endoxilanas predominan entre las fuentes de enzimas destinadas al centeno, el trigo y el triticale. También se ha demostrado que la aplicación de fitasa es aceptable comercialmente y viable desde el punto de vista económico. Considerando el mayor énfasis que ahora se da a los problemas de contaminación ambiental en todo el mundo, es probable que en futuro aumenten las aplicaciones de la fitasa.

Las empresas dedicadas a la fabricación de enzimas recientemente desarrollaron fuentes de ellas para mejorar el valor nutricional de las dietas avícolas elaboradas a base de maíz y pasta de soya. Aun cuando todavía es poca la información publicada sobre la eficacia de estos productos^{10, 22, 23}, la evidencia a nivel de la industria indica mejoramientos económicos en la conversión alimenticia, como beneficio principal. Aunque todavía no se identifica al sustrato o sustratos exactos presentes en las dietas preparadas con maíz y/o pasta de soya, se ha especulado que el mecanismo de acción de estos productos enzimáticos incluye una mejor utilización de los nutrientes (energía) y una reducción en los factores antinutricionales presentes en la pasta de soya. El mejoramiento que las enzimas ejercen sobre la digestión del almidón en el íleon es un mecanismo potencial que puede involucrar a las enzimas encargadas de la degradación de la fibra, además de amilasa y proteasa. La alfa-galactosidasa es una actividad que se encuentra en algunos productos enzimáticos diseñados para la pasta de soya (véanse los comentarios anteriores). Debido a la baja actividad de fitasa endógena en el maíz, la fitasa microbiana resulta relativamente efectiva en las dietas elaboradas a base de maíz y pasta de soya.

Entre otros ingredientes en los que se ha demostrado mejoramiento con las enzimas podemos citar a la pasta de canola⁴⁶, al salvado de arroz⁵⁶, al chícharo³² y al lupino^{9, 35, 49}, además de otras leguminosas. Cuando se evalúan otros ingredientes con respecto a su potencial de mejoramiento con enzimas, los principales candidatos son los que tienen baja

disponibilidad de nutrimentos, o factores antinutricionales específicos.

CONCLUSIONES

El uso de enzimas en la ración se ha incrementado rápidamente en años recientes y se le tiene más confianza en las áreas donde se utiliza trigo, cebada, avena, centeno y triticale para la nutrición animal. El uso de la fitasa también se ha extendido mucho, al grado que muy probablemente en el futuro su adición en las dietas avícolas se convertirá en rutina, particularmente en las regiones donde existe más nivel de conciencia con respecto a la contaminación ambiental. Las enzimas suplementarias ofrecen mejoramientos con ventajas económicas en la eficiencia de producción, incrementan el número y la uniformidad de los ingredientes disponibles para la alimentación pecuaria, además de efectos benéficos en materia de salud animal y del medio ambiente.

REFERENCIAS

- Almirall, M., Francesh, M., Perez-Vendrell, A.M., Brufau, J. and Esteve-Garcia, E. (1995). *Journal of Nutrition*, 125, 947-955.
- Bailey, M.J. and Poutanen. K. (1992). In *Progress in Biotechnology 7*, Xylans and Xylanases, pp. 155-160. Edited by J. Visser, G. Beldman, M.A. Kusters-van Someren and A.G.J. Voragen. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science Publishers B.V.
- Bedford, M.R. and Apajalahti, J. (2001). In *Enzymes in Farm Animal Nutrition*, pp. 299-314. Edited by M.R. Bedford and G.G. Partridge. Wallingford, Oxon, UK, CABI Publishing.
- Bedford, M.R. and Classen, H.L. (1992). *Journal of Nutrition*, 122, 560-569.
- Bedford, M.R. and Partridge, G.G. (2001). *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. Wallingford, Oxon, UK, CABI Publishing.
- Beudeker, R.F. and Pen, J. (1995). *Proceedings of the 2nd European Symposium on Feed Enzymes*, pp. 225-228. Edited by W. van Hartingsveldt, M. Hessing, J.P. van der Lugt and W.A.C Somers. Zeist, The Netherlands, TNO Nutrition and Food Research Institute.
- Branton, S.L., Lott, B.D., Deaton, J.W., Malsin, W.R., Austin, F.W., Pote, L.M., Keirs, R.W., Latour, M.A. and Day, E.J. (1997). *Poultry Science*, 76, 24-28.
- Brenes, A., Smith, M., Guenter, W. and Marquardt, R.R. (1993). *Poultry Science*, 72, 1731-1739.
- Brenes, A., Marquardt, R. R., Guenter, W., and Viveros, A. (2002). *Poultry Science*, 81, 670-678.
- Café, M., Borges, C.A., Fritts, C.A. and Waldroup, P.W. (2002). *Journal of Applied Poultry Research*, 11, 29-33.
- Campbell, G.L. and Bedford, M.R. (1992). *Canadian Journal of Animal Science*, 72, 449-466.

Campbell, G.L., Rossnagel, B.G., Classen, H.L. and Thacker, P.A. (1989). *Animal Feed Science Technology*, 26, 221-230.

Campbell, G.L. and van der Poel, A.F.B. (1998) In *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds and Rapeseed*, pp. 377-386. Edited by A.J.M. Jansman, G.D. Hill, J. Huisman and A.F.B. van der Poel. Wageningen, The Netherlands, Wageningen Pers.

Chesson, A. (1987). In *Recent Advances in Animal Nutrition - 1987*, pp. 71-89. Edited by W. Haresign and D.J.A. Cole. London, UK, Butterworths.

Choct, M. and Annison, G. (1992). *British Poultry Science* 33, 821-834.

Choct, M., Hughes, R.J., Wang, J., Bedford, M.R., Morgan, A.J. and Annison, G. (1996). *British Poultry Science*, 37, 609-621.

Classen, H.L., Balnave, D. and Bedford, M.R. (1993). In *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds*, pp. 501-516. Edited by A.F.B. van der Poel, J. Huisman and H.S. Saini. Wageningen, The Netherlands, Wageningen Pers.

Classen, H.L., Campbell, G.L. and GrootWassink, J.W.D. (1988). *Canadian Journal of Animal Science*, 68, 1253-1259.

Cowieson, A.J., Acamovic T. and Bedford, M.R. (2004). *British Poultry Science* 45, 101-108.

Craven, S.E. (2000). *Poultry Science*, 79, 843-849.

Elwinger, K. and Teglof, B. (1991). *Archiv fur Geflugelkunde*, 55, 69-73.

Ghazi, S., Rooke, J.A., Galbraith, H. and Bedford, M.R. (2002). *British Poultry Science*, 43, 70-77.

Ghazi, S., Rooke, J.A. and Galbraith, H. (2003). *British Poultry Science*, 44, 410-418.

Graham, K.K., Kerley, M.S., Firman, J.D. and Allee, G.L. (2002). *Poultry Science*, 81, 1014-1019.

GrootWassink, J.W.D., Campbell, G.L. and Classen, H.L. (1989). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 46, 289-300.

Hartini, S. (1993). *Effect of Soluble Dietary Fibre on Performance and Digestive Function of Broiler Chickens*. M.Sc. thesis. University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada.

Hesselman, K. and Aman P. (1986). *Animal Feed Science Technology*, 15, 83-93.

Huo, G.C., Fowler, V.R., Inbarr, J. and Bedford, M.R. (1993). In *Recent Advances of*

Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds, pp. 517-521. Edited by A.F.B. van der Poel, J. Huisman and H.S. Saini. Wageningen, The Netherlands, Wageningen Pers.

Irish, G.G., Barbour, G.W., Classen, H.L., Tyler, R.T. and Bedford, M.R. (1995). Poultry Science, 74, 1484-1494.

Jansman, A.J.M., Hill, G.D., Huisman, J., and van der Poel, A.F.B. (1998). Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds and Rapeseed. Wageningen, The Netherlands, Wageningen Pers.

Jackson, M.E., Anderson, D.M., Hsiao, H.Y., Mathis G.F. and Fodge, D.W. (2003). Avian Diseases, 47, 759-763.

Jeroch, H., Hauschild, A. and Muller, A. (1995). Bodenkultur, 46, 263-268.

Knap, I.H., Ohmann, A. and Dale, N. (1995). Proceedings of the 2nd European Symposium on Feed Enzymes, p. 282. Edited by W. van Hartingsveldt, M. Hessing, J.P. van der Lugt and W.A.C Somers. Zeist, The Netherlands, TNO Nutrition and Food Research Institute.

Krogdahl, A. and Sell, J.L. (1989). Poultry Science, 68, 1561-1568.

Marquardt, R.R., Brenes, A., Zhang, Z. and Boros, D. (1996). Animal Feed Science Technology, 60, 321-330.

McCleary, B.V. (1995). Proceedings of the 2nd European Symposium on Feed Enzymes, pp. 135-141. Edited by W. van Hartingsveldt, M. Hessing, J.P. van der Lugt and W.A.C Somers. Zeist, The Netherlands, TNO Nutrition and Food Research Institute.

Meijer, M.M.T. and Spekking, W.T.J. (1993). In Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds, pp. 529-533. Edited by A.F.B. van der Poel, J. Huisman and H.S. Saini. Wageningen, The Netherlands, Wageningen Pers.

Meijer, M.M.T., Spekking, W.T.J., Sijtsma, L. and de Bont, J.A.M. (1995). Industrial Crops and Products, 4, 147-154.

Pen, J., Verwoerd, T.C., van Paridon, P.A., Beudeker, R.F., van den Elzen, P.J.M., Geerse, K., van der Klis, J.D., Versteegh, H.A.J., van Ooyen, A.J.J. and Hoekema, A. (1993). Bio/Technology, 11, 811-814.

Ravindran, V., Bryden, W.L. and Kornegay, E.T. (1995). Poultry and Avian Biology Reviews, 6, 125-143.

Riddell C. and Kong, -X.M. (1992). Avian Diseases, 36, 499-503.

Salih, M.E., Classen, H.L. and Campbell, G.L. (1991). Animal Feed Science Technology, 33, 139-149.

Schutte, J.B. (1990). Poultry Science, 69, 1724-1730.

Schutte, J.B., Dejong, J., Vanweerden, E.J. and Tamminga, S. (1992). *British Journal of Nutrition*, 68, 195-207.

Schutte, J.B. and Langhout, D.J. (1999). pp. 57-58. *Proceedings of the WPSA Spring Meeting, Scarborough, March 22-24.*

Simbaya, J., Slominski, B.A., Guenter, W., Morgan, A. and Campbell, L.D. (1996). *Animal Feed Science Technology*, 61, 219-234.

Simons, P.C.M., Versteegh, H.A.J., Jongbloed, A.W., Kemme, P.A., Slump, P., Bos, K.D., Wolters, M.G.E., Beudeker, R.F. and Verschoor, G.J. (1990). *British Journal of Nutrition*, 64, 525-540.

Slominski, B.A., Campbell, L.D. and Guenter, W. (1992). *Proceedings of the World's Poultry Congress, Amsterdam, Volume 2:241-245.*

Steenfeldt, S., González, E. and Bach Knudsen, K.E. (2003). *Animal Feed Science and Technology*, 110, 185-200.

Takeda, T., Fukuta, T., Miyamoto, T., Sasai, K., Baba, E. and Arakawa, A. (1995). *Avian Diseases*, 39, 375-381.

Teitge, D.A., Campbell, G.L., Classen, H.L. and Thacker, P.A. (1991). *Canadian Journal of Animal Science*, 71, 507-513.

Vahjen, W., Gläser, K., Froeck, M. and Simon, O. (1997). *Archives of Animal Nutrition*, 50, 331-345.

Vahjen, W., Gläser, K., Schäfer, K. and Simon, O. (1998). *Journal of Agricultural Sciences*, 130, 489-500.

Van der Klis, J.D., Scheele, C.W. and Kwakernaak, C. (1995). *Proceedings of the 10th European Symposium on Poultry Nutrition*, pp. 160-168. Antalya, Turkey, World's Poultry Science Association.

Van der Poel, A.F.B., Huisman, J. and Saini, H.S. (1993). *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds*. Wageningen, The Netherlands, Wageningen Pers.

Wang G.J., Marquardt, R.R., Guenter, W., Zhang, Z. and Han, Z. (1997). *Animal Feed Science Technology*, 66, 47-61.

Zyla, K. and Koreleski, J. (1993). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61, 1-6.

**Cuadro 1. Factores antinutricionales presentes
en los ingredientes de origen vegetal**

Ingrediente	Factor antinutricional
<i>Granos de cereales</i>	
Cebada, avena	Polisacáridos no amiláceos (β -glucano, arabinoxilanos)
Centeno, triticale, trigo	Polisacáridos no amiláceos (arabinoxilanos, β -glucano)
Sorgo	Taninos
<i>Pastas proteínicas</i>	
Pasta de canola	Glucosinolatos, sinapino, taninos, fitato
Pasta de soya	Inhibidores de las proteasas, lectinas, fitato, lipoxidasa, α -galactósidos, alergen
Harinolina	Gosipol, fitato, alergen
Pasta de linaza	Linatina, linamarina, fitato
Pasta de girasol	Ácido clorogénico, fitato
<i>Otros</i>	
Haba	Inhibidores de las proteasas, lectinas, taninos, vicina/convicina
Lenteja	Inhibidores de las proteasas, taninos, lectinas
Chícharo	Inhibidores de las proteasas, lectinas, fitato, taninos, α -galactósidos