

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

JOCIANE MIOR BOECK

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DA ENZIMA XILANASE EM RAÇÕES DE AVES

TOLEDO

2026

JOCIANE MIOR BOECK

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DA ENZIMA XILANASE EM RAÇÕES DE
AVES**

Evaluation of the stability of the xylanase enzyme in poultry feeds

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologias em Biociências, do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias em Biociências - PPGBIO da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Karina Graziella Fiametti Colombo, Dra.

Coorientadora: Priscila Vaz de Arruda, Dra.

TOLEDO

2026



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Toledo**



JOCIANE MIOR BOECK

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DA ENZIMA XILANASE EM RAÇÕES DE AVES

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Tecnologias Em Biociências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologias Em Biociências.

Data de aprovação: 30 de Abril de 2026

Dra. Karina Graziella Fiametti Colombo, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Gustavo Henrique Dalposso, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Salah Din Mahmud Hasan, Doutorado - Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 06/05/2026.

Dedico este trabalho à minha família e amigos, em especial ao meu esposo Deivid e minha filha Kemoli, por sempre me incentivarem e me apoiarem a ser cada vez melhor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à Deus pela minha vida e por ter sempre me guiado pelos caminhos que me trouxeram até aqui.

A minha filha Kemoli, razão da minha vida, por ser minha alegria diária e me inspirar a querer ser melhor a cada dia.

Ao meu esposo Deivid por ter me apoiado e me incentivado e por toda a parceria ao longo de todos esses anos.

À minha amiga Bruna Assis, pela generosidade e carinho ao cuidar da minha filha, permitindo que eu pudesse frequentar as aulas e avançar nesta caminhada.

A minha amiga e colega de trabalho Jéssica Zandonai por toda a ajuda na realização das análises.

A empresa Safeeds, pela oportunidade de utilização do laboratório para a condução das análises deste trabalho.

A minha orientadora, Profa. Dra. Karina Graziella Fiametti Colombo, pela dedicação, orientação e apoio ao longo de todo o desenvolvimento desta pesquisa.

A minha coorientadora Profa. Dra. Priscila Vaz de Arruda, pelo auxílio e contribuições ao longo deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

*“Se você quer ser bem-sucedido, precisa ter
dedicação total, buscar seu último limite e
dar o melhor de si.” (Ayrton Senna)*

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a estabilidade e a cinética da atividade da enzima xilanase em rações para aves nas formas farelada e peletizada, considerando os efeitos do processamento e do armazenamento sobre sua funcionalidade. Amostras de ração foram submetidas ao processo de peletização e posteriormente armazenadas por 10 dias sob condições controladas de temperatura (30–40 °C) e umidade relativa (60–70%). A atividade enzimática foi determinada pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), e os dados foram analisados por meio de regressão linear, modelo exponencial de decaimento e análise de variância bifatorial. Os resultados indicaram redução inicial da atividade enzimática após a peletização, atribuída ao estresse térmico e mecânico do processo. Durante o armazenamento, observou-se diminuição progressiva da atividade da xilanase em ambas as formas físicas, sendo mais acentuada na ração farelada, que apresentou redução de 50,8%, enquanto a ração peletizada apresentou perda de 28,9% ao final de 10 dias. A análise cinética demonstrou que a degradação da enzima segue comportamento de primeira ordem, com maior constante de decaimento na ração farelada. A análise estatística confirmou efeitos significativos do tipo de ração, do tempo de armazenamento e da interação entre esses fatores sobre a atividade enzimática. Conclui-se que, embora a peletização promova perdas iniciais, a forma peletizada proporciona maior estabilidade da xilanase durante o armazenamento. Assim, a eficácia da suplementação enzimática depende não apenas da resistência ao processamento, mas também da manutenção da atividade ao longo do tempo, destacando a importância do controle das condições de armazenamento e do uso de estratégias de proteção enzimática.

Palavras-chave: xilanase; estabilidade enzimática; peletização; rações.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the stability and kinetics of xylanase activity in poultry feed in mash and pelleted forms, considering the effects of processing and storage on enzyme functionality. Feed samples were subjected to pelleting and subsequently stored for up to 10 days under controlled conditions of temperature (30–40 °C) and relative humidity (60–70%). Enzymatic activity was determined using the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) method, and data were analyzed through linear regression, exponential decay modeling, and two-way analysis of variance. The results showed an initial reduction in enzymatic activity after pelleting, attributed to thermal and mechanical stress. During storage, a progressive decrease in xylanase activity was observed in both feed forms, with greater losses in mash feed (50.8%) compared to pelleted feed (28.9%) after 10 days. Kinetic analysis indicated that enzyme degradation followed first-order behavior, with a higher decay constant in mash feed. Statistical analysis confirmed significant effects of feed form, storage time, and their interaction on enzymatic activity. It is concluded that although pelleting causes initial activity losses, pelleted feed provides greater enzyme stability during storage. Therefore, the effectiveness of enzyme supplementation depends not only on resistance to processing but also on maintaining activity over time, highlighting the importance of storage conditions and enzyme protection strategies.

Keywords: xylanase; enzyme stability; pelleting; feeds.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Representação esquemática da estrutura da xilana	23
Figura 2: Câmara de estudo de estabilidade	32
Figura 3: Atividade enzimática de ração farelada (média $\pm$ desvio Padrão)	41
Figura 4: Atividade enzimática de ração peletizada (média $\pm$ desvio Padrão)...	47
Figura A1: Histograma dos resíduos - ração farelada.....	64
Figura A2: Histograma dos resíduos - ração peletizada.....	65
Figura A3: Q-Q plot dos resíduos – ração farelada.....	65
Figura A4: Q-Q plot dos resíduos – ração peletizada.....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais aplicações das xilanases em diferentes setores	26
Tabela 2: Atividade enzimática de xilanase em rações para aves	38
Tabela 3: Variação da atividade enzimática da xilanase em ração farelada ao longo do período de armazenamento (média $\pm$ desvio padrão)	39
Tabela 4: Análise de variância (ANOVA) nas amostras de ração farelada	44
Tabela 5: Teste de Tukey nas amostras de ração farelada	45
Tabela 6: Variação da atividade enzimática da xilanase em ração peletizada ao longo do período de armazenamento (média $\pm$ desvio padrão)	46
Tabela 7: Análise de variância (ANOVA) nas amostras de ração peletizada	49
Tabela 8: Teste de Tukey nas amostras de ração peletizada	50
Tabela 9: Comparação da atividade enzimática da xilanase nas rações fareladas e peletizadas	51
Tabela 10: Análise de variância bifatorial da atividade enzimática da xilanase em função do tipo de ração e do tempo de armazenamento	54
Tabela 11: Teste de Tukey para comparação da atividade enzimática da xilanase entre ração farelada e peletizada ao longo do tempo de armazenamento	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE	Absorbância da amostra
AB	Absorbância da amostra controle (branco)
DNS	Ácido 3,5-dinitrosalicílico
U/g	Unidades de enzima por grama de substrato seco
mL	Mililitro
g	Gramma
μmol	Micromol
t	Tempo de reação (min)
K	Coeficiente angular da curva padrão
C_0	Intercepto da curva padrão
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
PPGBIO	Programa de Pós-Graduação em Tecnologias em Biociências
PEG	Polietileno Glicol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Objetivos	15
1.1.1 Objetivo Geral	15
1.1.2 Objetivos Específicos	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 Enzimas.....	17
2.2 Enzimas exógenas	18
2.3 Estrutura e função da Xilanase	20
2.4 Mecanismos de inativação térmica da xilanase	26
2.5 Estratégias industriais de proteção da xilanase	27
2.5.1 Revestimentos e encapsulamentos.....	28
2.5.2 Uso de estabilizadores	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1 Amostras e armazenamento.....	31
3.2 Preparo das soluções	32
3.3 Determinação da atividade enzimática da xilanase.....	33
3.4 Cálculo da atividade enzimática	33
3.5 Taxa de perda da atividade enzimática (%/dia).....	34
3.6 Análise da variação da atividade enzimática	34
3.7 Modelo exponencial de decaimento da atividade enzimática	35
3.8 Análise estatística	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1 Atividade enzimática da xilanase em ração para aves	37
4.2 Atividade enzimática de Xilanase em ração farelada.....	39
4.3 ANOVA nas amostras de ração farelada	43
4.4 Teste de Tukey nas amostras de ração farelada	44
4.5 Atividade enzimática de xilanase em ração peletizada.....	45
4.6 ANOVA nas amostras de ração peletizada	49
4.7 Teste de Tukey nas amostras de ração peletizada	50
4.8 Comparação da atividade enzimática da xilanase nas rações fareladas e peletizadas.....	51
4.9 ANOVA bifatorial da atividade enzimática em função do tipo de ração e do	

tempo de armazenamento	54
4.10 Teste de Tukey para comparação da atividade enzimática da xilanase entre ração farelada e peletizada ao longo do tempo de armazenamento	55
5 CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
APÊNDICE A - Avaliação da normalidade dos resíduos ANOVA (ração farelada e peletizada).....	64

1 INTRODUÇÃO

A peletização de rações, que é o processo de compactação da mistura farelada por meio da ação combinada de calor, umidade e pressão mecânica para formação de pellets, constitui uma das principais tecnologias empregadas na produção de alimentos para aves, promovendo aumento da densidade nutricional, redução de perdas por desperdício, melhoria da digestibilidade e maior eficiência no manuseio e transporte dos ingredientes. Entretanto, apesar dos benefícios produtivos, o processo de peletização submete a ração a condições severas de temperatura e pressão, que podem comprometer significativamente a estabilidade estrutural e a atividade biológica de enzimas exógenas incorporadas à dieta, como a xilanase, impactando diretamente sua eficácia nutricional.

A xilanase é uma enzima exógena que desempenha papel fundamental na degradação dos arabinoxilanos, polissacarídeos não amiláceos presentes em cereais amplamente utilizados na alimentação animal, como milho e trigo. A inclusão dessa enzima nas dietas de aves tem demonstrado potencial para aumentar a disponibilidade de nutrientes, reduzir a viscosidade intestinal e, conseqüentemente, melhorar a digestibilidade e o desempenho produtivo dos animais (Bedford e Cowieson, 2012; Ravindran, 2013).

Durante a peletização, a xilanase pode sofrer alterações estruturais decorrentes da exposição a elevadas temperaturas, pressão mecânica e umidade, condições que favorecem a desnaturação proteica e a conseqüente redução ou inativação de sua atividade catalítica. Essa perda de funcionalidade representa um entrave tecnológico relevante, pois a eficiência da enzima no trato gastrointestinal das aves está diretamente relacionada à sua estabilidade após o processamento térmico. Nesse contexto, torna-se essencial compreender os fatores que influenciam sua atividade enzimática pós-peletização, como temperatura de condicionamento, teor de umidade, tempo de retenção e características físico-químicas da matriz alimentar. O domínio desses parâmetros possibilita ajustes estratégicos no processamento e na formulação, assegurando maior estabilidade funcional da enzima e preservando os benefícios nutricionais e zootécnicos associados à suplementação enzimática.

Estudos demonstram que a suplementação com xilanase em dietas para frangos de corte promove melhorias significativas no desempenho produtivo e na utilização dos nutrientes. Observa-se aumento no ganho de peso e melhora na

conversão alimentar, com incrementos na eficiência alimentar, além de maior digestibilidade aparente da energia e dos nutrientes (Adeola e Cowieson, 2011; Bedford e Cowieson, 2012).

Adicionalmente, a inclusão da enzima resultou em aumento na produção de ácidos graxos de cadeia curta, especialmente acetato e butirato, indicando maior fermentação de carboidratos não digeridos no trato gastrointestinal. Esses efeitos foram associados à modulação positiva da microbiota intestinal, contribuindo para melhor integridade intestinal e maior aproveitamento energético da dieta, reforçando o papel da xilanase como uma estratégia eficaz na nutrição de frangos de corte. Além disso, Dillon *et al.* (2015) validaram métodos analíticos para a determinação da atividade da xilanase em aditivos para rações, enfatizando a necessidade de garantir a estabilidade da enzima durante o processamento das rações.

Na peletização de rações, a manutenção da atividade da xilanase é influenciada por um conjunto de variáveis operacionais, incluindo a temperatura de condicionamento, a umidade e a qualidade do vapor, o tempo de retenção no condicionador, bem como as forças mecânicas envolvidas na passagem pela matriz, como pressão e velocidade de compressão. Esses fatores atuam de forma integrada, podendo promover a desnaturação e consequente redução da atividade enzimática durante o processamento térmico, especialmente sob condições elevadas de temperatura e umidade (Lee *et al.*, 2024).

Esses fatores determinam o nível de estresse térmico e mecânico imposto à enzima, podendo comprometer sua conformação tridimensional e, consequentemente, sua eficiência catalítica. Embora temperaturas mais elevadas e maior tempo de exposição favoreçam a gelatinização do amido e melhorem a durabilidade e a integridade física dos pellets, tais condições intensificam o risco de inativação enzimática, uma vez que muitas enzimas, incluindo a xilanase, apresentam sensibilidade ao calor e necessitam de estabilidade térmica para resistir ao processo de peletização (Lee *et al.*, 2024).

Adicionalmente, a composição da matriz alimentar exerce papel modulador sobre a estabilidade da xilanase, uma vez que minerais, lipídios e outros componentes podem interferir em sua estrutura ou alterar o microambiente químico durante o processamento. Diante desse cenário, tornam-se essenciais estratégias tecnológicas, como a seleção de enzimas termoestáveis, o uso de revestimentos protetores e a

aplicação pós-peletização, a fim de preservar a atividade residual em escala industrial, especialmente considerando que técnicas como a encapsulação têm demonstrado eficácia na proteção enzimática e na melhoria de sua estabilidade sob condições adversas de processamento (Pope e Fahrenholz, 2020; Ahmed *et al.*, 2024).

A manutenção da atividade funcional da xilanase após o processamento térmico é essencial para que a suplementação enzimática expresse plenamente seus efeitos nutricionais em dietas de aves. Ao hidrolisar arabinoxilanos presentes na parede celular dos cereais, a xilanase reduz a viscosidade do conteúdo intestinal, melhora a interação entre enzimas endógenas e substratos e aumenta a digestibilidade de nutrientes, especialmente energia e aminoácidos, refletindo-se em melhor conversão alimentar, desempenho produtivo e saúde intestinal. Nesse contexto, a adoção de estratégias que garantam a estabilidade e a atividade enzimática torna-se fundamental para assegurar a eficiência das enzimas exógenas em sistemas de produção avícola (Vargas *et al.*, 2024).

Além das condições impostas durante a peletização, o período de armazenamento da ração também exerce influência direta sobre a estabilidade da xilanase e a manutenção de sua atividade catalítica. Fatores como temperatura ambiente, umidade relativa do ar, tempo de estocagem e interação com os componentes da matriz alimentar podem favorecer processos de degradação proteica e perda gradual da atividade enzimática ao longo do tempo. Em condições inadequadas de armazenamento, a exposição à umidade e ao calor pode intensificar reações de desnaturação e oxidação, comprometendo a eficiência da enzima no momento do consumo pelos animais.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a estabilidade e a cinética de degradação da enzima xilanase em rações de aves nas formas farelada e peletizada, durante o armazenamento, considerando os efeitos do processamento e do tempo sobre a atividade enzimática.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Determinar a atividade enzimática da xilanase em rações fareladas e peletizadas imediatamente após o processamento e durante 10 dias de

armazenamento;

- Comparar a estabilidade da xilanase entre as formas físicas de ração (farelada e peletizada), avaliando as diferenças na taxa de degradação da enzima;
- Calcular a taxa de perda diária (%) da atividade da xilanase durante o período de armazenamento para cada forma física;
- Estabelecer a relação entre o tempo de armazenamento e a atividade enzimática por meio de ajuste de modelo matemático, visando estimar a constante de decaimento da enzima.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Enzimas

As enzimas são catalisadores biológicos, majoritariamente de natureza proteica, responsáveis por acelerar reações químicas por meio da redução da energia de ativação, sem sofrer alteração permanente ao final do processo. Sua elevada especificidade por substratos e condições ótimas de pH e temperatura confere precisão ao metabolismo celular, desempenhando papel central nos processos bioquímicos dos organismos vivos (Nelson e Cox, 2021). A atividade enzimática depende diretamente de sua conformação estrutural, a qual pode ser alterada por fatores físicos e químicos, como temperatura, pH e presença de agentes desnaturantes, comprometendo sua eficiência catalítica (Kaur *et al.*, 2023).

As enzimas podem ser classificadas, segundo a *International Union of Biochemistry and Molecular Biology* (IUBMB), em seis classes principais, de acordo com o tipo de reação catalisada: oxidoredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases. No contexto da nutrição animal, destacam-se principalmente as hidrolases, grupo ao qual pertencem enzimas como proteases, amilases, fitases e xilanases, amplamente empregadas para otimizar a digestibilidade de nutrientes e melhorar o aproveitamento das dietas (Adeola e Cowieson, 2011; Sureshkumar *et al.*, 2023).

Outro aspecto relevante refere-se à presença de cofatores, que podem ser íons metálicos (como Mg^{2+} , Zn^{2+} ou Ca^{2+}) ou moléculas orgânicas denominadas coenzimas. Muitas enzimas dependem desses componentes para alcançar sua conformação ativa (holoenzima), enquanto a porção proteica isolada (apoenzima) pode apresentar atividade reduzida ou inexistente. Além disso, mecanismos de regulação, como inibição competitiva, não competitiva e alostérica, permitem o controle fino das vias metabólicas, assegurando o equilíbrio fisiológico dos organismos (Nelson e Cox, 2021).

No âmbito biotecnológico, as enzimas têm sido amplamente exploradas devido à sua elevada especificidade, eficiência catalítica e menor impacto ambiental quando comparadas a catalisadores químicos tradicionais. Na indústria de alimentos, por exemplo, enzimas como amilases e proteases são utilizadas para melhorar a textura, o sabor e a digestibilidade dos produtos, além de otimizar processos industriais, como panificação e produção de bebidas. Na indústria de papel e celulose,

xilanases são empregadas no pré-branqueamento da polpa, reduzindo a necessidade de compostos químicos agressivos e, conseqüentemente, o impacto ambiental do processo (Kaur *et al.*, 2023).

Na nutrição animal, a aplicação de enzimas exógenas tem papel estratégico na melhoria da eficiência alimentar, especialmente em monogástricos. Enzimas como xilanase, fitase e protease atuam na degradação de polissacarídeos não amiláceos e fitatos, aumentando a digestibilidade de nutrientes e a disponibilidade de energia e minerais. Estudos demonstram que a suplementação enzimática pode resultar em melhorias significativas no desempenho produtivo, como aumento do ganho de peso e melhor conversão alimentar, além de reduzir a excreção de nutrientes no ambiente, contribuindo para a sustentabilidade da produção animal (Adeola e Cowieson, 2011; Sureshkumar *et al.*, 2023).

Dessa forma, as enzimas representam ferramentas biotecnológicas essenciais em diferentes setores industriais, com destaque para sua aplicação na nutrição animal, especialmente no uso de enzimas como a xilanase, cuja estabilidade frente ao processamento térmico representa um desafio tecnológico relevante.

2.2 Enzimas exógenas

As enzimas exógenas são aquelas produzidas industrialmente, geralmente por fermentação microbiana, e adicionadas intencionalmente a diferentes sistemas produtivos com o objetivo de potencializar reações específicas. Na nutrição animal, essas enzimas são utilizadas para complementar a ação das enzimas endógenas dos animais, promovendo maior degradação de componentes dietéticos que não são completamente aproveitados pelo trato gastrointestinal. Entre as principais aplicações destacam-se a hidrólise de polissacarídeos não amiláceos, fitatos e proteínas complexas, contribuindo para melhor digestibilidade, maior disponibilidade de nutrientes e redução da excreção de compostos potencialmente poluentes (Adeola e Cowieson, 2011; Bedford e Cowieson, 2012).

Na nutrição animal, a aplicação de enzimas exógenas tem como objetivo complementar a ação das enzimas endógenas, ampliando a capacidade digestiva dos animais e promovendo maior aproveitamento dos nutrientes da dieta. Esse efeito é especialmente relevante em monogástricos, como aves e suínos, que apresentam limitada capacidade de degradação de polissacarídeos não amiláceos presentes em ingredientes vegetais, como arabinoxilanos e β -glucanos. Nesses casos, enzimas

como xilanases e β -glucanases atuam rompendo a estrutura da parede celular vegetal, reduzindo a viscosidade do conteúdo intestinal e facilitando o acesso das enzimas digestivas aos nutrientes, o que resulta em maior digestibilidade e absorção (Adeola e Cowieson, 2011; Sureshkumar *et al.*, 2023).

O uso de enzimas exógenas em rações animais tem se consolidado como uma estratégia nutricional eficaz tanto para monogástricos quanto para ruminantes, ainda que com diferentes mecanismos de ação. Em monogástricos, os benefícios estão diretamente relacionados à degradação de frações indigestíveis da dieta, promovendo aumento da digestibilidade e melhor aproveitamento dos nutrientes. Em ruminantes, por sua vez, essas enzimas podem atuar de forma complementar à microbiota ruminal, potencializando a fermentação dos alimentos. De modo geral, a suplementação enzimática contribui para a melhoria do desempenho zootécnico, maior eficiência alimentar e maior flexibilidade na formulação de dietas. (Adeola e Cowieson, 2011; Beauchemin *et al.*, 2003; Sureshkumar *et al.*, 2023).

Essas enzimas, geralmente produzidas por microrganismos e adicionadas às dietas, atuam complementando ou ampliando a capacidade digestiva dos animais, facilitando a degradação de componentes normalmente pouco aproveitados. Como consequência, observa-se não apenas melhora no desempenho produtivo, mas também redução da excreção de nutrientes no ambiente, especialmente nitrogênio e fósforo, contribuindo para sistemas de produção mais sustentáveis (Sureshkumar *et al.*, 2023).

Entre os principais grupos de enzimas utilizadas destacam-se as carboidrases (como xilanase, β -glucanase e celulase), fitase, protease e amilase, que atuam na degradação de polissacarídeos não amiláceos, fitatos e outras frações complexas de ingredientes de origem vegetal. Essa ação enzimática promove a ruptura da parede celular vegetal e a liberação de nutrientes previamente inacessíveis, aumentando a disponibilidade de carboidratos, proteínas, fósforo e minerais (Adeola e Cowieson, 2011; Sureshkumar *et al.*, 2023).

Estudos recentes demonstram que a suplementação enzimática pode melhorar não apenas a eficiência de utilização dos nutrientes e o desempenho produtivo de aves e suínos, mas também promover efeitos positivos sobre a saúde intestinal. Esses efeitos estão associados à redução da viscosidade da digesta, à maior degradação de substratos fermentáveis e à consequente modulação da

microbiota intestinal, com aumento da produção de ácidos graxos de cadeia curta, como acetato, propionato e butirato. Esses metabólitos exercem papel importante na integridade da mucosa intestinal, fornecendo energia para os enterócitos e contribuindo para a manutenção da barreira intestinal, o que resulta em melhor absorção de nutrientes e menor incidência de distúrbios entéricos (Sureshkumar *et al.*, 2023).

Além disso, a maior eficiência digestiva proporcionada pelas enzimas reduz a quantidade de nutrientes não digeridos que alcançam o intestino posterior e são excretados, diminuindo a perda de nitrogênio e fósforo no ambiente. Esse efeito contribui diretamente para a sustentabilidade dos sistemas de produção animal, ao reduzir o potencial poluente dos dejetos e melhorar o aproveitamento dos ingredientes da dieta (Sureshkumar *et al.*, 2023).

Dentre as enzimas utilizadas na nutrição de monogástricos, destacam-se as carboidrases, especialmente as xilanases, devido ao seu papel na degradação de arabinoxilanos presentes em dietas à base de milho e trigo. Esses compostos aumentam a viscosidade da digesta, prejudicando a ação enzimática e a absorção de nutrientes. A suplementação com xilanase reduz essa viscosidade, melhora o aproveitamento energético e favorece o desempenho zootécnico (Adeola e Cowieson, 2011; Bedford e Cowieson, 2012).

Diante da importância dessa enzima para a eficiência nutricional e produtiva, torna-se fundamental compreender sua estrutura e mecanismo de ação, uma vez que suas características bioquímicas estão diretamente relacionadas à sua estabilidade e funcionalidade em condições industriais, como o processamento térmico das rações.

2.3 Estrutura e função da Xilanase

A xilanase é uma enzima hidrolítica pertencente ao grupo das hemicelulases, responsável por catalisar a clivagem das ligações β -1,4-glicosídicas do xilano, principal polissacarídeo não amiláceo (PNA) da fração hemicelulósica da parede celular vegetal. A degradação do xilano resulta na formação de xilooligossacarídeos e xilose, promovendo a redução da viscosidade da digesta, o que favorece a ação das enzimas endógenas, melhora a digestibilidade dos nutrientes e aumenta a disponibilidade energética das dietas, especialmente em frangos de corte (Adeola e Cowieson, 2011; Bedford e Cowieson, 2012).

Do ponto de vista da classificação enzimática, a xilanase é designada pela *International Union of Biochemistry and Molecular Biology* (IUBMB) sob o código EC 3.2.1.8, sendo denominada endo-1,4- β -xilanase e pertencente à classe das hidrolases que atuam sobre ligações glicosídicas. Essa classificação reflete sua função específica na hidrólise da cadeia principal do xilano, caracterizando-a como uma enzima chave na degradação da hemicelulose vegetal (IUBMB, 2024).

As xilanases são produzidas principalmente por microrganismos, como fungos e bactérias, sendo obtidas industrialmente por processos fermentativos, tanto em sistemas submersos quanto em estado sólido. Esses microrganismos atuam como verdadeiras “biofábricas” enzimáticas, permitindo a produção em larga escala com características adaptadas às diferentes aplicações industriais (Kaur *et al.*, 2023).

Estruturalmente, essas enzimas pertencem majoritariamente às famílias de glicosil-hidrolases GH10 e GH11, que apresentam diferenças quanto à especificidade ao substrato, estrutura molecular e estabilidade, influenciando diretamente sua eficiência catalítica e aplicabilidade biotecnológica (Kaur *et al.*, 2023).

A ação da xilanase pode ser potencializada pela atuação sinérgica com outras hemicelulases, como β -xilosidases e arabinofuranosidases, promovendo uma degradação mais eficiente da hemicelulose presente na parede celular vegetal (Abena e Simachew, 2024). Além disso, propriedades como termoestabilidade, tolerância a variações de pH e resistência a compostos inibitórios são determinantes para sua utilização em processos industriais, especialmente na produção de rações, onde a enzima é exposta a condições severas de temperatura, umidade e pressão (Kaur *et al.*, 2023).

Do ponto de vista regulatório, enzimas como a xilanase são consideradas seguras e eficazes para uso na alimentação animal, desde que suas características e níveis de atividade estejam adequadamente estabelecidos (EFSA, 2018). No entanto, sua eficiência pode ser comprometida por fatores como temperatura, pH, tempo de armazenamento e condições de processamento, os quais podem induzir alterações estruturais e redução da atividade catalítica. Nesse contexto, a correta avaliação da atividade enzimática e a compreensão das condições que afetam sua estabilidade tornam-se essenciais para garantir sua eficácia em aplicações industriais (Dillon *et al.*, 2015).

A aplicação da xilanase na nutrição animal tem se mostrado uma estratégia relevante, especialmente em dietas para aves e suínos, uma vez que esses animais monogástricos possuem capacidade limitada de degradar polissacarídeos não amiláceos (PNAs), como os arabinoxilanos presentes em ingredientes vegetais, incluindo milho e trigo. Esses compostos aumentam a viscosidade da digesta, dificultam a difusão de enzimas digestivas e reduzem a eficiência de absorção de nutrientes (Adeola e Cowieson, 2011; Bedford e Cowieson, 2012).

Nesse contexto, a suplementação com xilanase exógena promove a hidrólise desses polissacarídeos, reduzindo a viscosidade intestinal e liberando nutrientes previamente aprisionados na matriz da parede celular vegetal. Como consequência, observa-se aumento da digestibilidade da energia e dos nutrientes, especialmente proteínas e carboidratos, além de melhor aproveitamento da dieta (Adeola e Cowieson, 2011; Sureshkumar *et al.*, 2023).

Além dos efeitos diretos na digestão, a ação da xilanase também influencia o ambiente intestinal, favorecendo a produção de oligossacarídeos fermentáveis que podem modular positivamente a microbiota intestinal. Essa modulação está associada ao aumento da produção de ácidos graxos de cadeia curta, que contribuem para a integridade da mucosa intestinal e para a melhoria do desempenho zootécnico dos animais (Sureshkumar *et al.*, 2023).

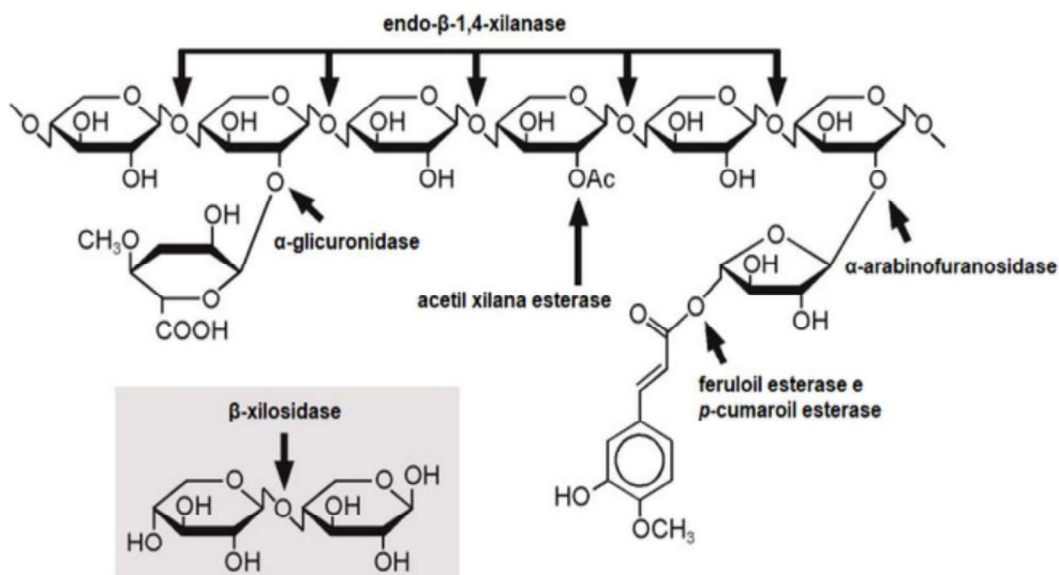
A figura 1 apresenta a estrutura da cadeia de xilana, principal polissacarídeo da hemicelulose, evidenciando seu esqueleto linear formado por unidades de β -D-xilopiranosas unidas por ligações β -1,4. Além da cadeia principal, a xilana apresenta diferentes grupos substituintes, como resíduos de arabinose, ácido glucurônico e grupos acetil, que contribuem para sua complexidade estrutural e variabilidade entre diferentes fontes vegetais.

Adicionalmente, podem ocorrer ligações com compostos fenólicos, como ácido ferúlico e p-cumárico, que promovem interações com outros componentes da parede celular, como lignina, aumentando a recalcitrância da biomassa (Kaur *et al.*, 2023; Abena e Simachew, 2024).

A figura também evidencia a atuação de um sistema enzimático complexo na degradação da xilana, envolvendo enzimas como endo- β -1,4-xilanase, β -xilosidase, α -arabinofuranosidase, α -glucuronidase e esterases associadas, que atuam de forma sinérgica na quebra das diferentes ligações presentes na hemicelulose. Essa ação

coordenada é essencial para a completa hidrólise da xilana e para a liberação de açúcares fermentáveis, refletindo a complexidade estrutural desse polissacarídeo e a necessidade de múltiplas enzimas para sua degradação eficiente (Abena e Simachew, 2024; Kaur *et al.*, 2023).

Figura 1: Representação esquemática da estrutura da xilana



Fonte: Bioquímica Brasil (2018)

As xilanases podem ser produzidas por diversos microrganismos, como fungos e bactérias, incluindo *Aspergillus niger*, *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis*. A produção ocorre principalmente por fermentação em estado sólido ou submersa, utilizando resíduos agroindustriais como substratos, o que reduz o custo e promove sustentabilidade (Costa, 2017; Monclaro, 2014).

A produção de enzimas como a xilanase é altamente dependente das condições de cultivo, incluindo pH inicial, temperatura e duração da fermentação, sendo que a otimização desses parâmetros por delineamentos experimentais estatísticos pode aumentar substancialmente os rendimentos enzimáticos e a adaptabilidade da xilanase a aplicações industriais específicas (Dhaver *et al.*, 2022).

Costa (2017) avaliou a produção e caracterização de xilanases obtidas por fermentação em estado sólido, com ênfase nas condições de cultivo, como pH e temperatura, e sua influência sobre a atividade enzimática. Esses estudos são importantes para compreender as propriedades bioquímicas da enzima e seu potencial de aplicação industrial.

Por outro lado, Durán (2021) investigou fatores associados à resposta da xilanase em dietas à base de milho para aves, destacando a influência da composição da dieta e das condições de uso sobre a eficácia da enzima. Segundo o autor, a resposta à suplementação com xilanase pode variar em função da disponibilidade de substrato, das características da matriz alimentar e das interações com outros componentes da dieta, evidenciando a necessidade de considerar esses fatores na formulação de rações.

Dessa forma, enquanto estudos de produção e caracterização enzimática contribuem para o entendimento das propriedades da xilanase, pesquisas aplicadas em nutrição animal são essenciais para avaliar sua eficiência em condições reais de uso, especialmente em rações peletizadas.

A utilização da xilanase na nutrição animal visa principalmente melhorar o aproveitamento de dietas ricas em polissacarídeos não amiláceos. Estudos demonstram que a suplementação com essa enzima em dietas para frangos de corte promove melhorias significativas em parâmetros zootécnicos e digestivos. Hussain *et al.* (2019), ao avaliarem o desempenho de frangos alimentados com dietas à base de trigo suplementadas com xilanase, observaram aumento no ganho de peso, melhora na conversão alimentar e maior digestibilidade aparente de nutrientes, indicando maior eficiência de utilização da dieta. Esses efeitos foram atribuídos à redução da viscosidade intestinal e à maior disponibilidade de nutrientes decorrente da degradação dos arabinoxilanos.

De forma complementar, McCafferty *et al.* (2019) avaliaram a concentração de ácidos graxos de cadeia curta no ceco de frangos suplementados com xilanase e verificaram aumento significativo na produção desses metabólitos, especialmente acetato e butirato, evidenciando maior fermentação de carboidratos no trato gastrointestinal.

Esse resultado indica modulação positiva da microbiota intestinal, uma vez que os ácidos graxos de cadeia curta estão diretamente relacionados à saúde intestinal e ao fornecimento de energia para os enterócitos. Dessa forma, a ação da xilanase não se limita à melhoria da digestibilidade dos nutrientes, mas também contribui para alterações fisiológicas no ambiente intestinal, refletindo-se em melhor desempenho produtivo e eficiência alimentar em aves.

A utilização de enzimas como xilanases, fitases e proteases tem se

consolidado como uma estratégia nutricional eficiente para otimizar o aproveitamento de ingredientes vegetais em dietas de monogástricos. No caso das fitases, por exemplo, a hidrólise do fitato aumenta a disponibilidade de fósforo, reduzindo a necessidade de suplementação mineral e diminuindo sua excreção nas fezes. De forma semelhante, a ação de carboidrases como a xilanase promove maior degradação de polissacarídeos não amiláceos, reduzindo a fração de matéria orgânica não digerida que alcança o intestino posterior e é eliminada no ambiente. Como consequência, há menor carga de nutrientes potencialmente poluentes nos dejetos, contribuindo para a redução da contaminação do solo e da água (Ravindran, 2013; Bedford e Cowieson, 2012).

Além disso, a maior eficiência de utilização dos nutrientes permite maior flexibilidade na formulação das dietas, possibilitando a inclusão de ingredientes alternativos e reduzindo custos de produção, sem comprometer o desempenho zootécnico dos animais, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Principais aplicações das xilanases em diferentes setores

Setor	Aplicação	Efeito principal	Referência
Nutrição animal	Inclusão em rações para aves e suínos	Redução da viscosidade intestinal;	Adeola e Cowieson (2011)
		melhoria da digestibilidade e desempenho zootécnico	
Nutrição animal	Degradação de PNAs	Maior aproveitamento energético; redução de excreção de nutrientes	Sureshkumar <i>et al.</i> (2023)
Indústria de papel e celulose	Pré-branqueamento da polpa	Redução do uso de produtos químicos; menor impacto ambiental	Kaur <i>et al.</i> (2023)
Biocombustíveis	Hidrólise de biomassa lignocelulósica	Liberação de açúcares fermentáveis	Abena e Simachew (2024)
Indústria alimentícia	Panificação e processamento de alimentos	Melhora da textura e qualidade do produto final	Kaur <i>et al.</i> (2023)

Fonte: Autora (2026)

Portanto, a xilanase é uma enzima biotecnológica de grande importância para a indústria de alimentação animal, promovendo maior eficiência nutricional e sustentabilidade da produção. Além disso, avanços nas técnicas de produção e formulação, como encapsulamento e uso de cepas geneticamente modificadas, têm ampliado sua aplicabilidade em diferentes contextos (Guido, 2016; Dillon *et al.*, 2015).

2.4 Mecanismos de inativação térmica da xilanase

A estabilidade térmica da xilanase constitui um dos principais desafios tecnológicos na formulação de rações peletizadas para aves, visto que o processo de peletização envolve a exposição da mistura a temperaturas geralmente entre 70 °C e

90 °C, podendo atingir valores próximos a 95 °C durante o condicionamento, além da aplicação de pressão mecânica na matriz da peletizadora. Embora tais condições sejam fundamentais para promover a gelatinização do amido, melhorar a durabilidade dos pellets e garantir a qualidade sanitária do produto final, elas impõem intenso estresse térmico às enzimas adicionadas, favorecendo alterações conformacionais e desnaturação proteica, com consequente redução da atividade catalítica residual após o processamento. Estudos demonstram que xilanases com baixa resistência térmica apresentam perdas significativas de atividade quando submetidas a temperaturas superiores a 80 °C, o que pode comprometer sua eficácia no trato gastrointestinal e reduzir os benefícios esperados sobre a digestibilidade dos nutrientes e o desempenho zootécnico das aves (Bedford e Cowieson, 2012; Pope e Fahrenholz, 2020).

Em contrapartida, xilanases com estabilidade térmica aprimorada, obtidas por meio de engenharia proteica ou seleção de cepas mais resistentes, apresentam maior capacidade de manter sua estrutura conformacional e atividade catalítica após o processamento térmico. Lee *et al.* (2024), ao avaliarem uma xilanase com estabilidade térmica melhorada em dietas para frangos de corte, observaram maior atividade enzimática residual após a peletização, associada a melhorias na digestibilidade dos nutrientes e no desempenho produtivo dos animais. Dessa forma, a seleção adequada da enzima, aliada ao controle dos parâmetros de peletização, como temperatura e tempo de exposição, é essencial para maximizar a eficácia da suplementação com xilanase em sistemas de produção avícola.

Esse processo de inativação térmica geralmente segue modelos cinéticos de primeira ordem, nos quais a taxa de perda de atividade enzimática é proporcional à atividade residual, permitindo a estimativa de parâmetros como a constante de decaimento e o tempo de meia-vida da enzima.

2.5 Estratégias industriais de proteção da xilanase

A proteção da xilanase durante o processo de peletização é crucial para assegurar que a enzima mantenha sua atividade funcional após ser submetida às condições extremas de temperatura e pressão. Diversas estratégias têm sido desenvolvidas e testadas para minimizar a desnaturação da xilanase durante o processamento, garantindo assim a eficácia da suplementação enzimática nas rações

de aves. Essas estratégias incluem o desenvolvimento de enzimas com maior estabilidade térmica, o uso de revestimentos protetores e o controle dos parâmetros de processamento, como temperatura e umidade, os quais influenciam diretamente a atividade enzimática residual (Bedford e Cowieson, 2012; Pope e Fahrenholz, 2020).

2.5.1 Revestimentos e encapsulamentos

A proteção da xilanase durante o processo de peletização é essencial para preservar sua integridade estrutural e garantir sua eficácia na digestão de arabinoxilanos presentes nas dietas de aves. Entre as estratégias mais promissoras, destacam-se o uso de sistemas de encapsulamento e revestimentos poliméricos, que atuam como barreiras físicas contra os efeitos adversos de temperatura, pressão e umidade típicos do processamento (Pope e Fahrenholz, 2020; Lee *et al.*, 2024).

O encapsulamento consiste na incorporação da enzima em matrizes poliméricas protetoras, formando microcápsulas que reduzem sua exposição direta a fatores desnaturantes, como calor, variações de pH e umidade. Materiais como alginato, celulose, quitosana e polietilenoglicol (PEG) são amplamente utilizados devido à sua capacidade de formar estruturas estáveis e biocompatíveis. Esses sistemas preservam a conformação tridimensional da enzima e contribuem para a manutenção de sua atividade catalítica durante o processamento térmico.

Estudos recentes demonstram que o encapsulamento pode aumentar significativamente a estabilidade térmica da xilanase e sua atividade residual após a peletização. Yang *et al.* (2024), por exemplo, observaram que a incorporação da enzima em microcápsulas estabilizadas por nanocristais de celulose promoveu maior proteção estrutural, reduzindo a desnaturação térmica e permitindo a liberação controlada da enzima em condições simuladas do trato gastrointestinal. Esse efeito está associado à formação de uma matriz polimérica estruturada, na qual interações físico-químicas, como ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas, contribuem para a estabilização da estrutura tridimensional da proteína.

Além da proteção térmica, os sistemas de encapsulamento podem favorecer a liberação controlada da xilanase no trato gastrointestinal, garantindo que a enzima atue de forma mais eficiente no local de digestão dos substratos. Técnicas como *spray drying*, coacervação e gelificação iônica são amplamente utilizadas para a produção

de microcápsulas, sendo selecionadas de acordo com as propriedades desejadas, como resistência térmica, biodegradabilidade e perfil de liberação.

A microencapsulação de enzimas em matrizes de alginato é uma estratégia eficaz para aumentar sua estabilidade térmica, pois protege a estrutura proteica contra a desnaturação causada pelo calor. Esse processo atua como uma barreira física, reduzindo alterações conformacionais e preservando a atividade enzimática. Estudos demonstram que encapsular enzimas em partículas de alginato pode aumentar significativamente a retenção de atividade após tratamentos térmicos, pois a matriz polimérica atua como uma barreira física que reduz a alteração conformacional e a perda de funcionalidade que ocorre em enzimas livres sob temperaturas elevadas. Por exemplo, emulsões de alginato preparadas por *spray drying* promoveram uma melhoria substancial na estabilidade térmica de enzimas encapsuladas, com maior atividade residual em comparação com as formas não encapsuladas após exposição ao calor, o que evidencia o efeito protetor da microencapsulação (Weng *et al.*, 2023; Yang *et al.*, 2024).

Dessa forma, o uso de revestimentos e encapsulamento representa uma estratégia eficaz para aumentar a estabilidade da xilanase em condições industriais, contribuindo para a manutenção de sua atividade enzimática e para a otimização da eficiência nutricional em rações peletizadas (Yang *et al.*, 2024; Durán, 2021).

2.5.2 Uso de estabilizadores

O uso de estabilizadores constitui uma estratégia relevante para proteger a xilanase durante o processo de peletização, contribuindo para a manutenção de sua atividade enzimática sob condições de alta temperatura e pressão. Esses compostos atuam preservando a estrutura tridimensional das enzimas, reduzindo a desnaturação térmica e mantendo sua funcionalidade durante o processamento.

Durante a peletização, as condições de elevada temperatura e presença de oxigênio favorecem reações de oxidação lipídica, resultando na formação de espécies reativas, como radicais livres, que podem interagir com proteínas e promover alterações estruturais nas enzimas. Esses processos podem comprometer a atividade catalítica da xilanase, especialmente em matrizes ricas em lipídios insaturados (Geng; Liu; Zhang, 2023).

Em sistemas alimentares submetidos a aquecimento, a oxidação de lipídios

pode levar à formação de espécies reativas, como radicais livres, que interagem com proteínas, alterando sua estrutura, solubilidade e propriedades físico-químicas. Esse processo constitui um mecanismo importante de desnaturação e inativação enzimática, especialmente em condições de processamento térmico, como a peletização de rações (Geng; Liu; Zhang, 2023).

Estratégias que visam minimizar a exposição da enzima a agentes oxidantes e condições extremas de processamento tornam-se fundamentais para preservar sua atividade catalítica. O uso de estabilizadores pode contribuir para a manutenção da estrutura tridimensional da xilanase, reduzindo a desnaturação térmica e melhorando sua estabilidade durante o processamento. Esses compostos atuam principalmente por meio da criação de um microambiente mais favorável ao redor da enzima, diminuindo alterações conformacionais e protegendo sua atividade funcional.

No entanto, a eficácia dos estabilizadores depende de diversos fatores, incluindo sua natureza química, interação com a matriz da ração e condições de processamento, sendo necessária uma seleção criteriosa para garantir a estabilidade enzimática sem comprometer a qualidade nutricional do produto final.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostras e armazenamento

As rações utilizadas no presente estudo foram fornecidas pela empresa Copacol, localizada na cidade de Cafelândia - PR, sendo formuladas especificamente para aves de corte, de acordo com os padrões nutricionais adotados pela integradora. As dietas foram produzidas em escala industrial na empresa Copacol, seguindo os procedimentos tecnológicos usuais da fábrica de rações, garantindo uniformidade de formulação e representatividade das condições práticas de produção. As análises de atividade enzimática foram realizadas no laboratório de análises da empresa Safeeds, situada no Distrito de Sede Alvorada, Cascavel – PR.

A ração experimental foi previamente suplementada com xilanase da marca Weifang KDN Biotech Ltda., na concentração de 270,2 U/kg, conforme recomendações do fabricante e níveis de inclusão reportados na literatura científica para enzimas NSP em dietas de aves (Vargas et al., 2024). Essa adição foi realizada com o objetivo de melhorar a digestibilidade dos componentes fibrosos da dieta, especialmente as arabinoxilanas presentes nos ingredientes vegetais.

Previamente ao experimento principal, foram realizados ensaios preliminares com o objetivo de avaliar o comportamento inicial da atividade da xilanase frente às etapas de processamento: peletização e armazenamento das rações. Esses testes permitiram verificar a resposta da enzima às condições de processamento, servindo como base para a definição dos parâmetros experimentais adotados nos ensaios subsequentes.

As amostras das rações fareladas e peletizadas utilizadas nos experimentos foram armazenadas por 1, 2, 4, 6, 8 e 10 dias, em temperaturas entre 30 e 40 °C e umidade relativa de 60 a 70% em câmara de estudo de estabilidade (SS Scientific, modelo SS-CC), apresentada da Figura 2, simulando o tempo máximo de permanência no silo e condições ambientais típicas de armazenamento de rações em regiões de clima quente.

Figura 2: Câmara de estudo de estabilidade



Fonte: Autora (2025)

3.2 Preparo das soluções

A atividade da xilanase foi determinada pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), conforme descrito por Miller (1959), utilizando os seguintes reagentes:

- Tampão ácido acético—acetato de sódio (0,1 mol/L, pH 5,0);
- Solução padrão de xilose (10 mg/mL), preparada pela dissolução de 1,00 g de xilose anidra em tampão, com volume final ajustado para 100 mL;
- Solução de xilana (10 mg/mL), preparada com 1,00 g de xilana e 0,32 g de NaOH em 90 mL de água destilada, com ajuste de pH por ácido acético e volume final de 100 mL;

Reagente DNS, preparado com 3,15 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico, NaOH, tartarato duplo de sódio e potássio, fenol e sulfito de sódio, com aquecimento a 45 °C e volume final ajustado para 1000 mL.

Soluções padrão de xilose foram preparadas nas concentrações de 0,10 a 0,70 mg/mL. As leituras foram realizadas a 540 nm, utilizando a solução em branco

como referência. A curva padrão foi construída relacionando a concentração de xilose às respectivas absorbâncias (Miller, 1959).

3.3 Determinação da atividade enzimática da xilanase

A metodologia empregada para a determinação da atividade da xilanase baseou-se no método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), descrito por Miller (1959), com adaptações conforme protocolo analítico interno da empresa Safeeds, utilizado para controle e validação de atividade enzimática em matrizes de ração.

Três amostras de 10 g de ração foram pesadas e submetidas à extração enzimática com 40 mL de tampão ácido acético–acetato de sódio (0,1 mol/L, pH 5). As amostras foram agitadas por 30 minutos e posteriormente diluídas para 100 mL com o mesmo tampão, sendo então armazenadas sob refrigeração (4 °C) por 1 a 2 horas. Em seguida, 2,0 mL da solução de amostra foram pipetados em tubos de ensaio, aos quais foram adicionados 5,0 mL da solução de DNS e 2,0 mL da solução de xilana (10 mg/mL), incubados a 37 °C por 30 minutos, fervidos por 5 minutos, resfriados em banho de gelo? T Ambiente? Quanto tempo? e completados para 25 mL com água destilada.

A quantificação dos açúcares redutores liberados foi realizada pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), conforme descrito por Miller (1959), mediante adição de 0,250 mL do reagente à mistura reacional.

Após a adição do reagente, a amostra foi incubada em banho-maria a 100 °C por 5 minutos, resfriada à temperatura ambiente e, em seguida, adicionaram-se 2,5 mL de água destilada (Miller, 1959). As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu®, modelo 1900i Plus) a 540 nm. A atividade enzimática foi expressa em unidades de xilanase, definidas como a quantidade de enzima capaz de liberar 1 µmol de açúcares redutores por minuto, nas condições do ensaio.

3.4 Cálculo da atividade enzimática

A atividade enzimática da xilanase foi calculada com base no método descrito por Miller (1959), utilizando a seguinte equação:

$$\text{Atividade (U/g)} = \frac{(A_E - A_B) \times K}{M \times t} \times 1000 \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

- A_E : Absorbância da amostra;
- A_B : Absorbância da amostra controle (branco);
- K : Fator de conversão da curva de calibração;
- M : Massa da amostra (g);
- t : Tempo de reação;
- 1000: Fator de conversão de de mmol para μmol ;

3.5 Taxa de perda da atividade enzimática (%/dia)

A taxa de perda da atividade enzimática foi determinada com base na variação percentual da atividade ao longo do tempo de armazenamento. Inicialmente, calculou-se a perda total da atividade (%) pela seguinte equação:

$$\text{Perda total (\%)} = \frac{A_0 - A_f}{A_0} \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

- A_0 : Atividade enzimática inicial;
- A_f : Atividade enzimática final.

Em seguida, a taxa média de perda diária da atividade enzimática (%/dia) foi obtida dividindo-se a perda total pelo número de dias de armazenamento, conforme a equação:

$$\text{Taxa de perda (\%/dia)} = \frac{\text{Perda total (\%)}}{\text{dias}} \quad (\text{Eq. 3})$$

3.6 Análise da variação da atividade enzimática

A variação da atividade enzimática ao longo do tempo foi avaliada por meio de regressão linear simples, considerando a atividade enzimática em função do tempo de armazenamento, conforme a equação:

$$A = \beta_0 + \beta_1 \cdot t \quad (\text{Eq.4})$$

Onde:

- A : atividade enzimática (U/g);

- t = tempo de armazenamento (dias);
- β_0 = intercepto da regressão (atividade inicial estimada);
- β_1 = coeficiente angular da regressão (taxa de variação da atividade por dia).

3.7 Modelo exponencial de decaimento da atividade enzimática

O comportamento cinético da perda de atividade da xilanase durante o armazenamento foi avaliado por meio de um modelo exponencial de decaimento, descrito pela equação:

$$A(t) = A_0 \cdot e^{\{-kt\}} \quad (\text{Eq.5})$$

Onde:

- $A(t)$ = atividade enzimática no tempo t ;
- A_0 = atividade enzimática inicial;
- k = constante de decaimento (dia^{-1});
- t = tempo de armazenamento (dias);
- e = base do logaritmo natural ($\approx 2,718$).

A constante de decaimento (k) foi calculada pela seguinte expressão:

$$k = \frac{\ln(A_0) - \ln(A_f)}{t} \quad (\text{Eq.6})$$

Onde:

- A_0 = atividade enzimática inicial;
- A_f = atividade enzimática final;

3.8 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando os softwares R (R Core Team, 2023), por meio do ambiente integrado RStudio (RStudio Team, 2023), e também o OriginPro 2026 (OriginLab Corporation). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento, totalizando $n = 18$ amostras (seis períodos de armazenamento $\times$ três repetições).

Inicialmente, foi realizada uma análise descritiva dos dados, incluindo medidas de tendência central (média, mediana) e dispersão (desvio padrão,

coeficiente de variação), além da inspeção gráfica por meio de histogramas e boxplots para avaliar a distribuição dos valores.

Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), com o objetivo de verificar a existência de diferenças significativas entre os períodos de armazenamento quanto à atividade enzimática da xilanase.

Quando observadas diferenças significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, adotando-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presente seção tem por finalidade analisar criticamente os efeitos do processamento de peletização e do armazenamento subsequente sobre a estabilidade da xilanase incorporada às rações experimentais.

4.1 Atividade enzimática da xilanase em ração para aves

A análise da atividade enzimática da xilanase em amostras de ração para aves foi conduzida com o objetivo de avaliar as variações entre a ração farelada e peletizada ao longo de dez dias de armazenamento. Essa avaliação permite simular o comportamento da enzima durante o período em que a ração permanece armazenada em silos até o seu consumo.

As determinações foram realizadas por meio de leituras de absorbância da amostra enzimática (AE) e do branco (AB), possibilitando o cálculo da atividade enzimática expressa em unidades por grama (U/g) para cada tratamento e tempo de análise. A curva padrão de xilose utilizada para quantificação da atividade enzimática apresentou comportamento linear ($R^2 = 0,9968$).

Os dados apresentados na Tabela 2 referem-se a testes preliminares realizados com o objetivo de avaliar o comportamento inicial da atividade da xilanase frente às etapas de processamento da ração, servindo como base para a definição dos ensaios subsequentes. Para essa etapa, foram utilizadas amostras de ração coletadas antes da peletização (farelada) e imediatamente após a peletização (peletizada) destinadas à alimentação de aves, coletadas diretamente na linha de produção da Copacol. A peletização foi realizada a uma temperatura de 80 °C. As amostras foram obtidas após o processamento industrial e, posteriormente, submetidas à análise laboratorial para quantificação da atividade enzimática residual, permitindo avaliar a recuperação da xilanase presente na própria ração comercial.

Tabela 2: Atividade enzimática de xilanase em rações para aves

Amostras	Atividade (U/g)	Média Atividade (U/g) $\pm$ Desvio padrão
Antes da peletização	0,190	0,190 $\pm$ 0,0025
	0,192	
	0,187	
Imediatamente após a peletização	0,179	0,175 $\pm$ 0,0035
	0,175	
	0,172	
Imediatamente após o resfriamento	0,171	0,174 $\pm$ 0,0031
	0,175	
	0,177	

Fonte: Autora (2025)

A redução observada nos valores médios após a peletização está em consonância com estudos que demonstram que o processamento térmico exerce impacto significativo sobre a atividade de enzimas adicionadas às rações. Estudos de Wang *et al* (2023) dizem que o processo de peletização de rações geralmente ocorre em temperaturas entre 70 e 90 °C, podendo comprometer a estabilidade de enzimas exógenas. Adicionalmente, estudos de Dotsenko *et al* (2024) indicam que a xilanase deve apresentar resistência térmica para suportar condições de processamento entre 80 e 90 °C, nas quais pode ocorrer rápida inativação enzimática caso não haja estabilidade adequada. De acordo com esses autores, a exposição da enzima a temperaturas próximas de 90 °C resultou em redução de sua atividade. De forma semelhante, no presente estudo, a temperatura de 80 °C resultou em uma redução de aproximadamente 8,4% na atividade da xilanase, indicando que realmente a temperatura do processo de peletização compromete a estabilidade da enzima.

Pode-se observar que as maiores alterações ocorreram na etapa de peletização, enquanto o resfriamento subsequente não promoveu perdas adicionais expressivas. O aumento da variabilidade observado após o resfriamento pode estar relacionado à heterogeneidade inerente ao processo industrial ou à sensibilidade analítica na quantificação da atividade enzimática, aspecto também relatado na literatura como fonte de variação experimental em estudos de recuperação enzimática (Pope & Fahrenholz, 2020; Lee *et al.*, 2024).

Esse comportamento confirma a sensibilidade da xilanase ao estresse térmico, especialmente durante a etapa de condicionamento, considerada crítica para a preservação da atividade enzimática.

4.2 Atividade enzimática de Xilanase em ração farelada

As amostras de rações fareladas foram submetidas à análise da atividade enzimática da xilanase, e os resultados, bem como a média, desvio padrão e perda enzimática, estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Variação da atividade enzimática da xilanase em ração farelada ao longo do período de armazenamento (média $\pm$ desvio padrão)

Amostras	Atividade (U/g)	Média Atividade (U/g) $\pm$ Desvio padrão	Perda enzimática (%)
0 dias	0,191	0,181 $\pm$ 0,0156	0,00
	0,189		
	0,163		
1 dia	0,168	0,165 $\pm$ 0,0026	8,84
	0,163		
	0,164		
2 dias	0,158	0,153 $\pm$ 0,0068	15,47
	0,145		
	0,155		
4 dias	0,145	0,140 $\pm$ 0,0110	22,65
	0,147		
	0,127		
6 dias	0,134	0,132 $\pm$ 0,0072	27,07
	0,138		
	0,124		
8 dias	0,124	0,107 $\pm$ 0,0209	40,88
	0,114		
	0,084		
10 dias	0,079	0,089 $\pm$ 0,0164	50,83
	0,080		
	0,109		

Fonte: Autora (2025)

De acordo com os resultados, houve uma diminuição progressiva nos valores médios de atividade enzimática ao longo do período de armazenamento, indicando que o tempo de estocagem influencia negativamente a estabilidade da enzima nas rações fareladas. No dia zero (ração recém-produzida), a média da atividade

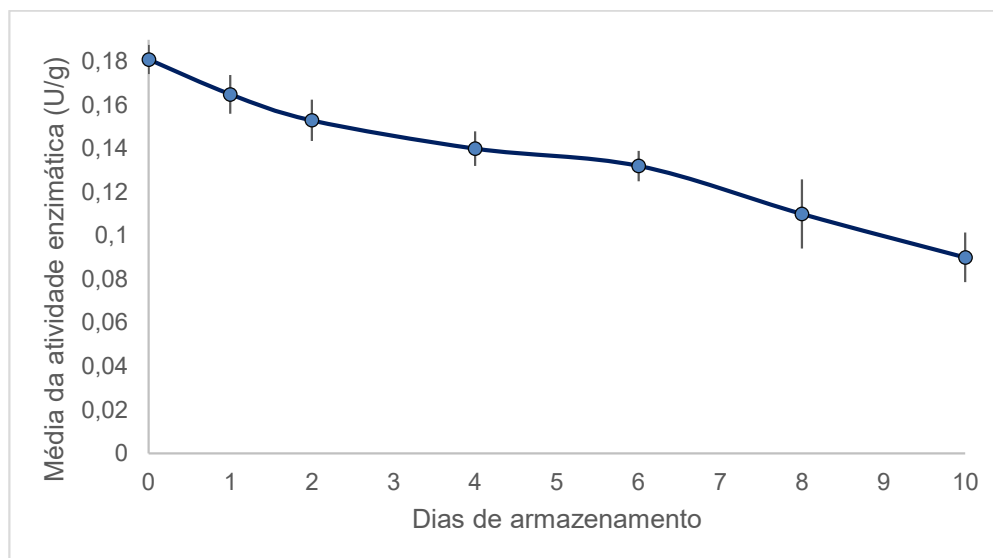
enzimática foi de 0,181 U/g, apresentando um desvio padrão de 8,6%, o que indica boa consistência entre as repetições, porém não foi observado o valor teórico inicialmente adicionado na ração (0,272 U/g), esse comportamento pode estar associado a perdas durante a etapa de processamento e homogeneização do farelo. Durante esse processo, realizado em misturador, parte da enzima pode ter sido adsorvida às superfícies do equipamento (paredes e pás), além de estar sujeita à distribuição heterogênea na matriz alimentar e à possível inativação parcial causada por atrito mecânico e condições ambientais.

À medida que o período de armazenamento avançou, observou-se uma redução progressiva da atividade enzimática, atingindo 0,089 U/g no décimo dia. Essa redução pode ser atribuída à degradação enzimática provocada por variações de temperatura e umidade, além de interações químicas entre a enzima e os componentes da ração. Fatores ambientais, como a temperatura do ambiente, as oscilações térmicas ao longo do dia e a umidade relativa do ar, também podem ter contribuído para a desnaturação parcial da enzima, resultando na diminuição observada da atividade durante o armazenamento.

Entre o dia zero e o 2º dia, a atividade média diminuiu de 0,181 U/g para 0,153 U/g, apresentando uma queda de 15,47%, o que sugere que a xilanase manteve uma boa estabilidade inicial, com degradação mais acentuada ocorrendo após esse período. Notou-se que a partir do 4º dia uma redução mais rápida nos valores médios da atividade, passando de 0,140 U/g (4º dia) para 0,107 U/g (8º dia), evidenciando que as condições de armazenamento impactaram mais severamente a estabilidade da enzima após alguns dias.

Observa-se uma redução progressiva da atividade enzimática da xilanase desde o primeiro dia de armazenamento, com perda de 8,84% após 24 horas e declínio contínuo ao longo do período avaliado, atingindo 50,83% ao final de 10 dias em relação à atividade inicial. Esse comportamento evidencia a influência direta do tempo de estocagem na estabilidade da enzima em ração farelada.

A Figura 3 apresenta o gráfico da média da atividade enzimática da xilanase em função do tempo de armazenamento da ração farelada, evidenciando a tendência de variação ao longo do período analisado.

Figura 3: Atividade enzimática de ração farelada (média $\pm$ desvio Padrão)**Fonte: Autora (2025)**

Os desvios padrão mostram que a redução observada se deve de fato ao efeito do tempo de estocagem, e não a flutuações experimentais. A partir do oitavo dia, no entanto, houve discreto aumento da variabilidade ($DP = 0,0209$), o que pode estar relacionado à instabilidade da enzima sob condições prolongadas de armazenamento.

A análise de regressão linear demonstrou que a atividade enzimática da xilanase em ração farelada apresentou comportamento linear decrescente ao longo do período de armazenamento, conforme descrito pelo modelo ajustado:

$$A = 0,1796 - 0,0093t (R^2 \approx 0,97)$$

Onde:

- A: atividade enzimática (U/g);
- t: tempo de armazenamento (dias).

A inclinação negativa indica uma redução média de 0,0093 U/g por dia, equivalente a aproximadamente 5,1% da atividade inicial corroborando os resultados observados experimentalmente. Esse resultado demonstra uma perda gradual e consistente da atividade enzimática ao longo do tempo, corroborando os dados experimentais obtidos.

Além do modelo linear, a atividade enzimática também foi avaliada por meio de um modelo exponencial de decaimento, considerando a cinética de degradação da enzima ao longo do tempo. A aplicação desse modelo é adequada para representar a cinética de degradação enzimática, uma vez que enzimas, por serem proteínas tendem a apresentar comportamento de degradação dependente do tempo, característico de reações de primeira ordem.

O coeficiente de decaimento foi calculado a partir da relação logarítmica entre os valores de atividade enzimática inicial e final, resultando em $k \approx 0,071 \text{ dia}^{-1}$. Com base nesse coeficiente, a atividade enzimática ao longo do tempo foi descrita pela equação exponencial:

$$A_t = 0,181 \cdot e^{\{-0,071t\}}$$

O ajuste do modelo exponencial confirma a tendência de redução contínua da atividade enzimática durante o período de armazenamento, indicando que a degradação da xilanase ocorre de forma dependente do tempo, mesmo na ausência de processamento térmico adicional.

A aplicação desse modelo reforça a tendência de perda contínua da atividade enzimática ao longo do armazenamento, indicando que a xilanase apresenta sensibilidade ao tempo de estocagem mesmo na forma farelada. Esse comportamento pode comprometer a eficácia tecnológica da enzima quando longos períodos de armazenamento são adotados, destacando a importância do controle rigoroso das condições físico-químicas da ração, bem como do uso de estratégias que minimizem a degradação enzimática durante a estocagem.

A maior perda de atividade enzimática observada na ração farelada pode ser atribuído à maior exposição da enzima a fatores ambientais e interações químicas na matriz alimentar. A forma farelada apresenta maior área superficial e, consequentemente, maior contato com oxigênio e umidade, favorecendo processos de oxidação e alterações conformacionais da proteína ao longo do tempo. Resultados semelhantes foram reportados por Carvalho *et al.* (2020), que observaram reduções de 20 a 30% na atividade enzimática em condições moderadas de temperatura (25–40 °C), podendo ultrapassar 50% em condições mais severas ou períodos prolongados de armazenamento.

Além disso, Sulabo *et al.* (2011) demonstraram que a estabilidade de enzimas exógenas é influenciada pela forma de incorporação na matriz alimentar, sendo observada menor retenção de atividade quando a enzima é misturada diretamente à ração, em comparação com formas protegidas, especialmente sob condições de maior temperatura e umidade. Esses resultados corroboram os achados do presente estudo, indicando que a maior exposição da enzima na ração farelada contribui para sua menor estabilidade ao longo do armazenamento.

Adicionalmente, a ausência do condicionamento térmico e da compactação promovida pela peletização mantém a enzima mais exposta à matriz alimentar, tornando-a mais suscetível a interações com minerais, lipídios e outros componentes da dieta, os quais podem comprometer sua estabilidade estrutural. Estudos indicam que o microambiente da ração, incluindo composição química e interações com ingredientes, influencia diretamente a estabilidade de enzimas exógenas, podendo resultar em redução da atividade mesmo na ausência de processamento térmico (Dersjant-Li *et al.*, 2014; Sulabo *et al.*, 2011).

De forma complementar, evidências da literatura indicam que a estabilidade de enzimas em rações está diretamente relacionada às condições ambientais pós-processamento. Segundo Adeola e Cowieson (2011), a eficácia biológica da xilanase depende não apenas de sua resistência ao processamento térmico, mas também da manutenção de sua atividade durante o armazenamento. Fatores como temperatura elevada, umidade relativa e atividade de água favorecem reações oxidativas e alterações conformacionais, promovendo desnaturação parcial e redução da atividade catalítica.

Dessa forma, os resultados obtidos demonstram que a preservação da atividade enzimática não depende exclusivamente da ausência de processamento térmico, mas também das condições de armazenamento e da forma de exposição da enzima na matriz alimentar. O controle rigoroso de fatores como temperatura, umidade e tempo de estocagem torna-se, portanto, fundamental para preservar a funcionalidade da xilanase e assegurar sua eficácia na nutrição de aves.

4.3 ANOVA nas amostras de ração farelada

Os dados apresentados na Tabela 4 correspondem à análise de variância (ANOVA) realizada para avaliar o efeito dos dias de armazenamento sobre a atividade

enzimática da xilanase. A análise foi conduzida com o objetivo de verificar se houve diferenças estatisticamente significativas na atividade enzimática ao longo do período experimental.

Tabela 4: Análise de variância (ANOVA) nas amostras de ração farelada

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Dias	0,0184	6	0,00301	17,9951	0,0000076	2,8477
Erro	0,0023	14	0,0002			

Fonte: Autora (2025)

A análise de variância (ANOVA), realizada ao nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$), evidenciou diferenças estatisticamente significativas na atividade enzimática da xilanase entre os tratamentos avaliados ($F = 17,99$; $p < 0,0001$). O valor de F calculado mostrou-se substancialmente superior ao F crítico ($17,99 > 2,85$), rejeitando a hipótese nula de igualdade entre as médias. O baixo valor de p reforça a robustez estatística da diferença observada, indicando que fatores associados ao processamento e ao armazenamento da ração exerceram forte influência sobre a estabilidade da enzima.

Observa-se uma tendência clara de redução da atividade enzimática ao longo do tempo, indicando que quanto maior o período de exposição da ração a condições ambientais desfavoráveis, maior é a perda de atividade. Esse comportamento reforça a necessidade de um controle rigoroso nas etapas pós-produção, garantindo a preservação da qualidade e eficácia do produto.

4.4 Teste de Tukey nas amostras de ração farelada

Para identificar quais dias de análise diferem significativamente entre si quanto à atividade enzimática, foi realizado o teste de comparação de médias de Tukey, conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 5: Teste de Tukey nas amostras de ração farelada

Dias	Média da atividade enzimática (U/g)
0	0,181 ^a
1	0,165 ^{ab}
2	0,153 ^{ab}
4	0,140 ^{bc}
6	0,132 ^{bc}
8	0,107 ^{cd}
10	0,089 ^d

Fonte: Autora (2025)

Nota: O dia 0 (“a”) difere significativamente do dia 10 (“d”). Os dias 1 (“ab”) e 2 (“ab”) não diferem entre si, pois compartilham as mesmas letras. O dia 4 (“bc”) não difere do dia 6 (“bc”) nem do dia 2 (“ab”), pois possuem pelo menos uma letra em comum. O dia 8 (“cd”) difere do dia 0 (“a”), mas pode não diferir do dia 6 (“bc”) e do dia 10 (“d”), devido ao compartilhamento de letras.

O teste de Tukey confirmou diferenças significativas ($p < 0,05$) na atividade enzimática da xilanase ao longo do período de armazenamento, evidenciando redução progressiva da atividade, especialmente a partir do quarto dia.

4.5 Atividade enzimática de xilanase em ração peletizada

Os dados fornecidos representam a variação da atividade enzimática da xilanase em ração de aves peletizadas ao longo de 10 dias de armazenamento, com base nas leituras de absorbância enzimática da amostra (AE) e do branco (AB). A Tabela 6 apresenta essa análise dos resultados, o respectivo desvio padrão e a perda enzimática. As amostras foram armazenadas sob condições controladas de temperatura variando entre 30 e 40 °C e umidade relativa entre 60 e 70%, com o objetivo de simular condições ambientais de estresse térmico e higroscópico comumente observadas durante o armazenamento e transporte de rações em regiões de clima tropical. Essas condições foram adotadas para avaliar a estabilidade e a recuperação da atividade enzimática da xilanase frente a possíveis variações ambientais que podem comprometer sua eficiência tecnológica e nutricional.

Tabela 6: Variação da atividade enzimática da xilanase em ração peletizada ao longo do período de armazenamento (média $\pm$ desvio padrão)

Amostras	Atividade (U/g)	Média Atividade (U/g) $\pm$ Desvio Padrão	Perda Enzimática (%)
0 dia	0,169	0,173 $\pm$ 0,0067	0,00
	0,181		
	0,170		
1 dia	0,160	0,170 $\pm$ 0,0089	1,73
	0,173		
	0,177		
2 dias	0,166	0,167 $\pm$ 0,0095	3,47
	0,177		
	0,158		
4 dias	0,145	0,153 $\pm$ 0,0080	11,56
	0,153		
	0,161		
6 dias	0,143	0,150 $\pm$ 0,0070	13,29
	0,150		
	0,157		
8 dias	0,154	0,142 $\pm$ 0,0159	17,92
	0,148		
	0,123		
10 dias	0,125	0,123 $\pm$ 0,0114	28,90
	0,133		
	0,111		

Fonte: Autora (2025)

A atividade enzimática da xilanase em ração peletizada apresentou redução progressiva ao longo dos 10 dias de armazenamento, evidenciando a influência do tempo e das condições ambientais sobre a estabilidade da enzima. A atividade média inicial foi de 0,173 U/g no dia zero, reduzindo para 0,123 U/g ao final do período, o que corresponde a uma perda total de aproximadamente 28,9%.

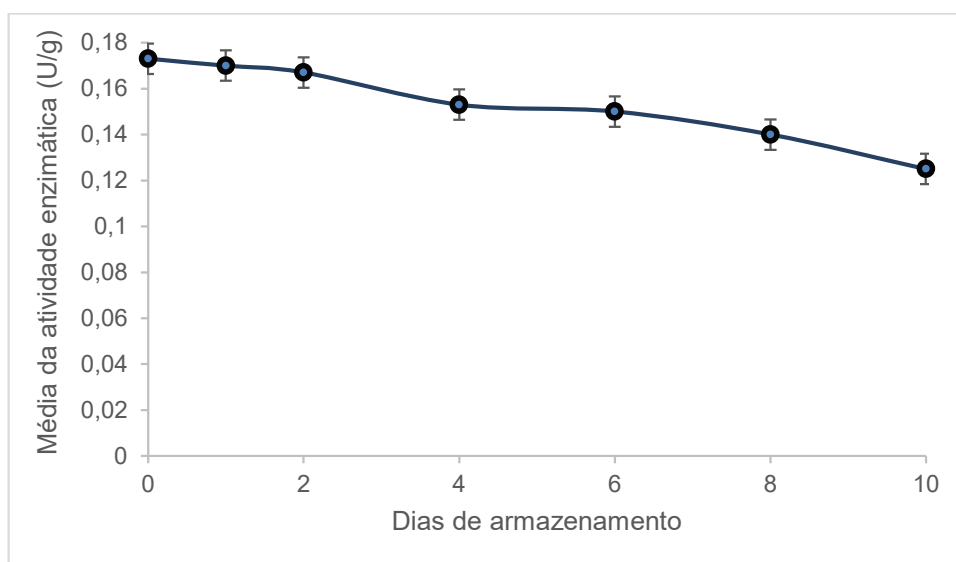
Nos primeiros dias de armazenamento, a atividade enzimática manteve-se relativamente estável, com reduções inferiores a 4% até o segundo dia, indicando boa estabilidade inicial da enzima na matriz peletizada. A partir do quarto dia, observou-se intensificação da perda de atividade, com declínio mais acentuado entre os dias 8 e 10, sugerindo que o efeito cumulativo das condições de armazenamento passa a impactar de forma mais significativa a estabilidade enzimática.

A taxa média de perda da atividade enzimática foi de aproximadamente 2,9% ao dia, valor inferior ao observado na ração farelada, evidenciando maior estabilidade

da xilanase na forma peletizada. Os baixos valores de desvio padrão ao longo do período experimental indicam boa reprodutibilidade dos dados e reforçam que a redução da atividade está associada predominantemente ao efeito do tempo de armazenamento, e não à variabilidade experimental.

Os desvios padrão mantiveram-se baixos em todos os períodos ($\leq 0,0096$), indicando consistência entre as repetições e reforçando que a queda na atividade é atribuída principalmente ao efeito do tempo de estocagem, e não a variabilidade experimental, conforme está mostrando a figura 4.

Figura 4: Atividade enzimática de ração peletizada (média $\pm$ desvio Padrão)



Fonte: Autora (2025)

A relação entre a atividade enzimática da xilanase e o tempo de armazenamento foi inicialmente avaliada por meio de regressão linear, a qual indicou comportamento linear decrescente para a ração peletizada ao longo do período experimental. O modelo ajustado foi descrito pela equação:

$$A = 0,1734 - 0,0047t$$

Onde:

- A: atividade enzimática (U/g);
- t: tempo de armazenamento (dias).

A inclinação negativa do modelo indica uma redução média de 0,0047 U/g por dia, evidenciando que, embora ocorra perda progressiva da atividade da xilanase, a

forma peletizada apresenta maior estabilidade ao longo do armazenamento quando comparada à ração farelada.

De forma complementar, a degradação da atividade enzimática da xilanase foi descrita por meio de um modelo exponencial de decaimento, o qual apresentou melhor ajuste aos dados experimentais, conforme evidenciado pelo elevado coeficiente de determinação ($R^2 \approx 0,98$). O modelo exponencial obtido foi expresso pela equação:

$$A_t = 0,174 \cdot e^{\{-0,033t\}}$$

O coeficiente de degradação ($k = 0,033 \text{ dia}^{-1}$) indica que a perda de atividade ocorre de forma dependente do tempo, seguindo cinética típica de reações de primeira ordem.

A comparação entre os modelos linear e exponencial confirma a tendência de redução contínua da atividade enzimática durante o armazenamento, porém com menor velocidade de inativação na ração peletizada. Esse comportamento é evidenciado pela menor constante de decaimento em relação à ração farelada ($k = 0,071 \text{ dia}^{-1}$), indicando que a forma física da ração exerce influência direta na cinética de degradação da enzima.

A maior estabilidade observada na ração peletizada pode estar associada às características físico-químicas da matriz do pellet, que apresenta menor área superficial exposta ao ambiente, reduzindo o contato da enzima com oxigênio e umidade. Além disso, a compactação do material durante a peletização pode limitar interações entre a enzima e componentes da dieta, contribuindo para maior preservação da sua estrutura tridimensional ao longo do armazenamento.

A comparação entre as formas físicas evidencia diferenças marcantes na estabilidade da xilanase. Embora as atividades iniciais tenham sido semelhantes (0,181 U/g para ração farelada e 0,173 U/g para peletizada), a divergência entre os tratamentos aumentou ao longo do tempo, com perdas significativamente maiores na ração farelada. Esses resultados demonstram que a forma peletizada confere maior proteção à enzima durante o armazenamento, reduzindo sua taxa de degradação.

No contexto da produção comercial de frangos de corte, o tempo de permanência da ração nos silos das granjas varia conforme a fase de criação e o consumo das aves. Nas fases iniciais (pré-inicial e inicial), o consumo é proporcionalmente menor, podendo resultar em maior tempo de armazenamento no

campo, especialmente no caso da ração pré-inicial, que geralmente é entregue antes do alojamento dos pintinhos e pode permanecer no silo por vários dias até o consumo efetivo. De modo geral, estima-se que a ração possa permanecer armazenada na propriedade por até aproximadamente sete dias, enquanto nas fases finais o consumo é mais rápido, podendo ocorrer em dois a três dias após o fornecimento. Esse período de armazenamento, aliado às condições ambientais de temperatura e umidade frequentemente elevadas em regiões tropicais, pode influenciar a estabilidade de aditivos sensíveis ao calor e à umidade, como enzimas exógenas, impactando sua atividade residual ao longo do tempo. Dessa forma, a utilização de rações peletizadas pode representar uma estratégia adicional para preservar a estabilidade da xilanase, contribuindo para maior eficiência nutricional e desempenho produtivo das aves.

4.6 ANOVA nas amostras de ração peletizada

Com base nos dados obtidos e visando verificar se a atividade da enzima xilanase apresenta variações estatisticamente significativas ao longo dos dias, a Tabela 7 apresenta os resultados da análise de variância (ANOVA).

Tabela 7: Análise de variância (ANOVA) nas amostras de ração peletizada

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Dias	0,0058	6	0,00096	9,3548	0,00031	2,8478
Erro	0,0014	14	0,00010			

Fonte: Autora (2025)

A análise de variância (ANOVA), conduzida ao nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$), indicou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos avaliados ($F = 9,35$; $gl = 6$ e 14 ; $p = 0,0003$). Como o valor de F calculado foi superior ao F crítico ($9,35 > 2,85$), rejeita-se a hipótese nula de igualdade entre as médias. Esses resultados evidenciam que a atividade enzimática da xilanase variou de forma consistente entre os grupos experimentais, demonstrando que o processamento da ração e o período de armazenamento influenciaram a estabilidade da enzima.

Assim, pode-se inferir que a xilanase não se manteve uniforme ao longo dos dias, reforçando a importância de considerar as condições de processamento e conservação da ração na manutenção da atividade enzimática disponível às aves no momento do consumo.

4.7 Teste de Tukey nas amostras de ração peletizada

Para identificar quais dias de análise diferem significativamente entre si quanto à atividade enzimática, foi realizado o teste de comparação de médias de Tukey, conforme apresentado na Tabela 8.

Tabela 8: Teste de Tukey nas amostras de ração peletizada

Dias	Média da atividade enzimática (U/g)
0	0,173 ^a
1	0,170 ^a
2	0,167 ^a
4	0,153 ^{ab}
6	0,150 ^{ab}
8	0,142 ^{bc}
10	0,123 ^c

Fonte: Autora (2025)

Nota: Os dias 0, 1 e 2, identificados pela letra “a”, não diferem estatisticamente entre si. Os dias 4 e 6, com a notação “ab”, apresentam comportamento intermediário, não diferindo nem dos períodos com letra “a” nem daqueles com letra “b”. O dia 8 (“bc”) não difere dos dias classificados com “b” ou “c”, mas difere dos períodos que possuem apenas a letra “a”. O dia 10 (“c”) apresenta diferença significativa em relação aos dias iniciais de armazenamento, indicando maior redução da atividade enzimática ao final do período avaliado.

A Tabela 8 apresenta as médias da atividade enzimática da xilanase (U/g) ao longo dos dias de armazenamento, acompanhadas das letras indicativas do teste de Tukey. As letras sobrescritas (a, b, c) representam grupos estatisticamente homogêneos, ou seja, médias que não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

Nos dias 0, 1 e 2, as médias da atividade enzimática (0,173, 0,170 e 0,167 U/g) pertencem ao mesmo grupo (“a”), indicando ausência de diferença significativa e sugerindo que, nesse período inicial, a enzima manteve sua estabilidade.

A partir do quarto dia, observa-se o início de uma tendência de redução da atividade enzimática, com as médias de 4 e 6 dias (0,153 e 0,150 U/g) pertencendo ao grupo “ab”. Essa mudança indica o começo de um processo de perda de atividade, ainda que não significativamente diferente dos valores iniciais.

No dia 8 (0,142 U/g), a média apresenta sobreposição entre os grupos “bc”, evidenciando diminuição gradual da atividade enzimática. Por fim, no décimo dia, a média de 0,123 U/g, classificada no grupo “c”, diferencia-se significativamente das médias iniciais, confirmando uma redução estatisticamente significativa da atividade ao longo do tempo.

Essa queda na atividade pode estar associada à instabilidade térmica e estrutural da xilanase, que tende a sofrer desnaturação proteica e perda de eficiência catalítica durante o armazenamento. Fatores como umidade residual da ração, temperatura ambiente, oxidação e interação com outros componentes da matriz alimentar podem acelerar esse processo. Assim, os resultados indicam que o tempo de armazenamento exerce influência direta sobre a estabilidade da xilanase, comprometendo progressivamente sua atividade enzimática.

Pequenas diferenças entre as leituras individuais em cada dia são esperadas devido à homogeneidade das amostras, às variações instrumentais ou à distribuição não uniforme da enzima na matriz da ração.

4.8 Comparação da atividade enzimática da xilanase nas rações fareladas e peletizadas

A Tabela 9 ilustra a evolução da atividade enzimática da xilanase nas rações fareladas e peletizadas ao longo de dez dias de armazenamento.

Tabela 9: Comparação da atividade enzimática da xilanase nas rações fareladas e peletizadas

Dia	Farelada (U/g)	Peletizada (U/g)	Diferença (%) Peletizada vs. Farelada
0	0,181	0,173	-4,42%
1	0,165	0,170	+3,03%
2	0,153	0,167	+9,15%
4	0,140	0,153	+9,29%
6	0,124	0,150	+20,97%
8	0,107	0,142	+32,71%
10	0,089	0,123	+38,20%
Redução total	-50,8%	-28,9%	—

Fonte: Autora (2025)

Observação: Valores positivos na coluna "Diferença (%)" indicam que a atividade da enzima na ração peletizada foi maior que na farelada no respectivo dia.

A comparação da atividade enzimática da xilanase entre as rações farelada e peletizada ao longo do período de armazenamento evidencia diferenças significativas na estabilidade da enzima em função da forma física da dieta. No início do período experimental (dia 0), as atividades médias foram semelhantes entre os tratamentos (0,181 U/g para a ração farelada e 0,173 U/g para a peletizada), indicando que,

imediatamente após o processamento, não houve diferença expressiva entre as formas físicas.

Entretanto, a partir do 2º dia de armazenamento, a atividade enzimática da ração peletizada passou a ser superior à da farelada, com diferenças progressivamente maiores ao longo do tempo. No 10º dia, a atividade residual foi de 0,123 U/g para a ração peletizada e 0,089 U/g para a farelada, representando uma diferença de aproximadamente 38,2% a favor da forma peletizada.

Ao final do período avaliado, a ração farelada apresentou redução acumulada de 50,8% da atividade enzimática inicial, enquanto a ração peletizada apresentou perda de 28,9%. Esses resultados indicam que, embora o processo de peletização imponha estresse térmico à enzima, a estrutura final do pellet proporciona maior estabilidade durante o armazenamento, resultando em menor taxa de degradação ao longo do tempo.

A análise das taxas de perda diária reforça esse comportamento, com redução média de aproximadamente 5,1% ao dia na ração farelada e 2,9% ao dia na ração peletizada. Adicionalmente, a análise cinética demonstrou maior constante de decaimento para a forma farelada ($k \approx 0,071 \text{ dia}^{-1}$) em comparação à peletizada ($k \approx 0,033 \text{ dia}^{-1}$), evidenciando maior velocidade de inativação enzimática na ração farelada.

Essa diferença pode ser explicada pelas características físicas da ração peletizada, que apresenta uma estrutura mais compacta e organizada em função das condições de processamento, como temperatura, umidade e pressão. Esse processo promove aumento da densidade e formação de uma matriz sólida com porosidade reduzida, alterando a distribuição e o tamanho dos poros no interior do pellet (Peng *et al.*, 2022). A ração peletizada comporta-se como um material poroso no qual a transferência de umidade ocorre por difusão, sendo influenciada tanto pela microestrutura interna quanto pelas propriedades de superfície, o que pode limitar a penetração de água e sua distribuição no interior do pellet (Silva *et al.*, 2018). Além disso, a microestrutura e as propriedades físico-químicas dos pellets influenciam a interação com a água e a estabilidade dos componentes da ração, podendo reduzir a exposição direta a fatores ambientais que favorecem a degradação (Ge *et al.*, 2023). Dessa forma, a formação de uma matriz mais densa e com transferência de massa

controlada pode contribuir para a preservação da atividade enzimática ao longo do armazenamento.

Em contraste, a ração farelada apresenta maior área de contato com o ambiente, favorecendo processos de oxidação, variações de umidade e interações com componentes da matriz alimentar, o que pode acelerar a degradação enzimática. Estudos demonstram que a estabilidade de enzimas exógenas é fortemente influenciada pelas condições de armazenamento e pela forma de incorporação na dieta, sendo observada maior perda de atividade em matrizes menos estruturadas e sob condições de temperatura e umidade elevadas (Sulabo *et al.*, 2011; Dersjant-Li *et al.*, 2014).

Apesar das perdas iniciais decorrentes do processamento térmico, evidências indicam que uma fração significativa da atividade enzimática pode ser mantida após a peletização, dependendo das condições operacionais adotadas, permitindo a preservação dos efeitos zootécnicos desejados (Miladinovic *et al.*, 2021). Dessa forma, a avaliação da estabilidade enzimática deve considerar não apenas o impacto imediato do processamento, mas também o comportamento da enzima ao longo do armazenamento.

Do ponto de vista nutricional, a manutenção de níveis adequados de atividade enzimática até o momento do consumo é fundamental para garantir a eficácia da xilanase na degradação dos polissacarídeos não amiláceos e na melhoria da digestibilidade da dieta. De acordo com Adeola e Cowieson (2011), a eficácia das xilanases está diretamente relacionada à atividade residual presente na ração, sendo recomendado um intervalo mínimo de aproximadamente 0,1 a 0,25 U/g para obtenção de respostas zootécnicas consistentes.

Considerando esse intervalo, observa-se que a ração farelada apresentou valores inferiores ao mínimo recomendado ao final do período experimental (0,089 U/g no 10º dia), enquanto a ração peletizada manteve níveis dentro da faixa eficaz (0,123 U/g), evidenciando maior potencial de desempenho nutricional.

Os resultados obtidos demonstram que a forma física da ração exerce influência determinante sobre a estabilidade da xilanase durante o armazenamento. Embora a peletização seja tradicionalmente associada a perdas enzimáticas devido ao estresse térmico, os dados indicam que, nas condições avaliadas, a estrutura do pellet contribui para maior preservação da atividade ao longo do tempo.

Dessa forma, a escolha da forma física da ração, aliada ao controle das condições de armazenamento e ao uso de estratégias tecnológicas de proteção enzimática, como encapsulamento ou formulações termoestáveis, torna-se fundamental para garantir a manutenção da atividade enzimática e a eficácia da suplementação em sistemas de produção avícola.

4.9 ANOVA bifatorial da atividade enzimática em função do tipo de ração e do tempo de armazenamento

Com o objetivo de avaliar de forma estatisticamente robusta os efeitos do tipo de ração (farelada e peletizada) e do tempo de armazenamento sobre a atividade enzimática da xilanase, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância bifatorial (ANOVA dois fatores). Esse procedimento permitiu verificar não apenas os efeitos isolados de cada fator, mas também a existência de interação entre eles, indicando se o comportamento da atividade enzimática ao longo do tempo difere em função da forma física da ração. Os resultados dessa análise estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Análise de variância bifatorial da atividade enzimática da xilanase em função do tipo de ração e do tempo de armazenamento

Fonte de variação	GL	SQ	MQ	F	valor-P	F crítico
Tipo de ração	1	0,00264	0,00264	19,29	0,000146	4,20
Tempo (dias)	6	0,02219	0,00370	27,03	<0,0001	2,445
Dias*tipo de ração	6	0,00201	0,00034	2,45	0,0494	2,445
Modelo	13	0,02685	0,00207	15,09	<0,0001	2,089
Erro	28	0,00383	0,00014			
Total	41	0,03068				

Fonte: Autora (2025)

A análise de variância, realizada ao nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$), demonstrou que o tipo de ração exerceu efeito significativo sobre a atividade enzimática da xilanase ($F = 19,29$; $p = 0,000146$), evidenciando que a forma física da ração influencia diretamente a estabilidade da enzima, sugerindo que o tipo de tratamento realizado na ração interfere na atividade desta enzima.

Em relação ao fator tempo, os resultados mostraram um efeito altamente significativo sobre a atividade enzimática ($F = 27,03$; $p < 0,0001$), indicando que as

médias da resposta variaram ao longo dos diferentes tempos avaliados, como já evidenciado nas Tabelas 3 e 5.

A interação entre tipo de ração e tempo foi significativa ($F = 2,45$; $p = 0,0494$), embora com menor magnitude, sugerindo que o padrão de variação da atividade enzimática ao longo do tempo difere entre as formas físicas da ração. Esse resultado confirma que a taxa de degradação da xilanase não é uniforme entre os tratamentos, sendo influenciada pela estrutura da matriz alimentar.

O modelo estatístico como um todo foi significativo ($F = 15,09$; $p < 0,0001$), indicando que os fatores avaliados explicam de forma consistente a variação observada na atividade enzimática.

De modo geral, os resultados da ANOVA corroboram as análises descritivas e cinéticas previamente apresentadas, confirmando que tanto o tipo de ração quanto o tempo de armazenamento influenciam significativamente a estabilidade da xilanase, com evidências de interação entre esses fatores.

4.10 Teste de Tukey para comparação da atividade enzimática da xilanase entre ração farelada e peletizada ao longo do tempo de armazenamento

Após a constatação de efeitos significativos do tipo de ração, do tempo de armazenamento e da interação entre esses fatores por meio da análise de variância bifatorial, procedeu-se à comparação múltipla de médias pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). Esse teste foi aplicado para identificar, de forma detalhada, em quais tempos de armazenamento ocorreram diferenças estatisticamente significativas entre as rações farelada e peletizada, bem como para avaliar o comportamento da atividade enzimática da xilanase dentro de cada tratamento ao longo do período experimental. Os resultados dessa comparação estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Teste de Tukey para comparação da atividade enzimática da xilanase entre ração farelada e peletizada ao longo do tempo de armazenamento

Tipo de ração	Tempo (dias)	Atividade enzimática (U/g)
Peletizada	0	0,173 ^{ab}
Farelada	0	0,181 ^a
Peletizada	1	0,170 ^{ab}
Farelada	1	0,165 ^{abc}
Peletizada	2	0,167 ^{ab}
Farelada	2	0,152 ^{abcd}
Peletizada	4	0,153 ^{abcd}
Farelada	4	0,139 ^{bcde}
Peletizada	6	0,150 ^{abcd}
Farelada	6	0,132 ^{cde}
Peletizada	8	0,142 ^{bcde}
Farelada	8	0,107 ^{ef}
Peletizada	10	0,123 ^{def}
Farelada	10	0,089 ^f

Fonte: Autora (2026)

Nota: A ração farelada no dia 0 (0,181^a) não difere da peletizada nos dias 0, 1 e 2 (^{ab}), pois compartilham a letra “a”. A ração farelada no dia 10 (0,089^f) difere significativamente dos tratamentos iniciais identificados pelas letras “a” e “ab”, por não apresentar letras em comum. Valores classificados como “abcd” apresentam comportamento intermediário, podendo não diferir estatisticamente de médias contendo qualquer uma dessas letras. A presença de múltiplas letras indica sobreposição estatística entre diferentes tratamentos e períodos de armazenamento.

A Tabela 11 apresenta as médias da atividade enzimática da xilanase ao longo dos dias de armazenamento para cada tipo de ração, com as letras indicativas do teste de Tukey. As letras sobrescritas (a, b, c, d, e, f) identificam grupos estatisticamente homogêneos, ou seja, médias que não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

Nos dias 0, 1 e 2, observa-se que a atividade enzimática não difere significativamente entre os dias e entre os tipos de ração, indicando que a xilanase manteve sua atividade estável no início do armazenamento, independentemente do tipo de ração. Isso sugere que, o processo de peletização ou farelamento não provocou degradação significativa da enzima.

A partir do dia 4, nota-se uma redução gradual na atividade enzimática. Mesmo a ração peletizada mantendo valores relativamente próximos dos dias iniciais, a farelada apresenta diferença significativa em relação aos tempos anteriores,

indicando que fatores associados ao tipo de ração podem reduzir a atividade enzimática.

Nos dias 6 e 8, os valores continuam reduzindo, como mostra a sobreposição de letras entre alguns grupos, evidenciando uma queda da atividade enzimática gradual e progressiva, possivelmente relacionada à instabilidade da enzima durante o armazenamento.

No dia 10, a atividade enzimática da ração farelada cai para 0,089 U/g, classificada no grupo “f”, significativamente inferior às médias iniciais, enquanto a peletizada também apresenta queda, mas ainda mantém valores maiores que a farelada.

Desta forma, estes resultados indicam que, ao longo dos 10 dias a xilanase sofre perda significativa de atividade, sendo mais pronunciada na ração farelada, evidenciando uma interação entre tipo de ração e tempo de armazenamento, como já verificado também na ANOVA dois fatores (Tabela 3).

Em resumo, o teste de Tukey vem confirmar que, embora a atividade inicial seja semelhante entre as rações, o tempo de armazenamento e o tipo de processamento da ração podem influenciar significativamente a estabilidade da enzima xilanase, com tendência de maior perda da sua atividade em rações fareladas ao longo do período avaliado.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu avaliar a estabilidade e a cinética da atividade da enzima xilanase em rações para aves nas formas farelada e peletizada, considerando os efeitos do processamento e do armazenamento sobre sua funcionalidade.

Os resultados demonstraram que o processo de peletização promove redução inicial da atividade enzimática em função do estresse térmico e mecânico, confirmando a sensibilidade da xilanase às condições de processamento. No entanto, verificou-se que, ao longo do período de armazenamento, a ração peletizada apresentou maior estabilidade enzimática quando comparada à ração farelada.

A atividade enzimática da xilanase diminuiu progressivamente ao longo dos dias de armazenamento em ambas as formas físicas, sendo observadas perdas mais acentuadas na ração farelada, que apresentou redução de aproximadamente 50,8%, enquanto a ração peletizada apresentou perda de 28,9% ao final de 10 dias. Esses resultados indicam que a forma física da ração exerce influência significativa na preservação da atividade enzimática durante o armazenamento.

A análise cinética evidenciou que a degradação da xilanase segue comportamento compatível com modelos de primeira ordem, com maior constante de decaimento para a ração farelada em relação à peletizada, confirmando maior velocidade de inativação na forma farelada. Esses achados foram corroborados pela análise de variância bifatorial, que demonstrou efeitos significativos do tipo de ração, do tempo de armazenamento e da interação entre esses fatores sobre a atividade enzimática.

A maior estabilidade observada na ração peletizada pode ser atribuída à sua estrutura mais compacta e à menor exposição da enzima a fatores ambientais, como oxigênio e umidade, o que contribui para a preservação de sua estrutura e atividade ao longo do tempo. Em contrapartida, a ração farelada, por apresentar maior área superficial e maior interação com o ambiente, mostrou-se mais suscetível à degradação enzimática.

Do ponto de vista prático, os resultados indicam que a peletização, apesar de causar perdas iniciais de atividade, pode contribuir para maior estabilidade da xilanase durante o armazenamento, favorecendo a manutenção de níveis enzimáticos mais próximos dos recomendados até o momento do consumo pelas aves.

Como perspectivas futuras, destaca-se a necessidade de avaliar estratégias tecnológicas capazes de aumentar a estabilidade da xilanase, com ênfase na microencapsulação, que pode atuar como barreira protetora frente aos efeitos do processamento térmico e das condições de armazenamento. Além disso, a realização de ensaios *in vivo* com frangos de corte é fundamental para verificar se as diferenças observadas *in vitro* na estabilidade e na atividade enzimática se traduzem em melhorias no desempenho zootécnico, na digestibilidade dos nutrientes e na redução da viscosidade intestinal.

A ausência de ensaios *in vivo* neste estudo constitui uma limitação metodológica, uma vez que avaliações em condições biológicas reais permitem uma análise integrada dos efeitos da xilanase sobre o desempenho animal e a fisiologia intestinal. Contudo, a realização de ensaios *in vivo* é recomendada em estudos futuros para avaliar a tradução dos resultados *in vitro* em respostas zootécnicas.

Dessa forma, conclui-se que a eficácia da suplementação com xilanase não depende exclusivamente da resistência ao processamento térmico, mas também da sua estabilidade durante o armazenamento. Assim, estratégias como o controle das condições ambientais, a otimização do tempo de estocagem e o uso de tecnologias de proteção enzimática tornam-se fundamentais para garantir a manutenção da atividade enzimática e a eficiência nutricional das dietas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABENA, T.; SIMACHEW, A. **A review on xylanase sources, classification, mode of action, fermentation processes, and applications as a promising biocatalyst.** BioTechnologia, v. 105, n. 3, p. 273–285, 2024. DOI:10.5114/bta.2024.141806.
- ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. **Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production.** Journal of Animal Science, Champaign, v. 89, n. 10, p. 3189–3218, 2011. DOI: 10.2527/jas.2010-3715.
- AHMED, Z.; ARIAEENEJAD, S.; ZEINALABEDINI, M.; SADEGHI, A.; GHARAGHANI, S.; MARDI, M. **Enhancing nutritional and potential antimicrobial properties of poultry feed through encapsulation of metagenome-derived multi-enzymes.** BMC Biotechnology, v. 24, p. 76, 2024. DOI: [10.1186/s12896-024-00904-y](https://doi.org/10.1186/s12896-024-00904-y).
- BEAUCHEMIN, K. A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D. P.; YANG, W. Z. **Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants.** Journal of Animal Science, v. 81, p. E37–E47, 2003.
- BEDFORD, M. R.; COWIESON, A. J. **Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology.** Animal Feed Science and Technology, v. 173, n. 1-2, pages 76-85, 2012. DOI: [10.1016/j.anifeedsci.2011.12.018](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.018).
- BIOQUÍMICA BRASIL. **O mundo das xilanases.** 2018. Disponível em: <https://bioquimicabrasil.com/2018/02/04/enzimas-xilanases/>. Acesso em: 26 mar. 2026.
- CARVALHO, C. C.; MELO, R. R.; LIMA, F. C.; SILVA, R. N.; GOMES, E.; BON, E. P. S. **Stability of cellulolytic enzymes at different storage temperatures.** Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 63, e20170710, 2020.
- COSTA, G. B. M. **Produção e caracterização de xilanases obtidas por fermentação em estado sólido.** 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química com Atribuições Tecnológicas) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.
- DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. **Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 95, n. 5, p. 878–896, 2014. DOI: 10.1002/jsfa.6998.
- DHAVER, P.; PLETSCHKE, B. I.; SITHOLE, B.; GOVINDEN, R. **Optimization, purification, and characterization of xylanase production by a newly isolated Trichoderma harzianum strain by a two-step statistical experimental design strategy.** Scientific Reports, Londres, v. 12, art. 17791, 2022. DOI: [10.1038/s41598-022-22723-x](https://doi.org/10.1038/s41598-022-22723-x).

DILLON, G. P.; FILER, K.; GAFFNEY, M.; MORAN, C. A. **Validation of an analytical method for the determination of the activity of xylanase in animal feed additives and in animal feedingstuffs**. Journal of Applied Animal Nutrition, Cambridge, v. 3, p. 1–11, 2015.

DOTSENKO, A.; SINELNIKOV, I.; ROZHKOVA, A.; ZOROV, I.; & SINITSYN, A. **Flexibility of active center affects thermostability and activity of *Penicillium canescens* xylanase E**. Biochimie, v. 216, p. 83–89, 2024. DOI: [10.1016/j.biochi.2023.10.004](https://doi.org/10.1016/j.biochi.2023.10.004).

DURÁN, D. M. **Feed-associated factors to xylanase response in corn-based poultry diets**. 2021. Tese (Doutorado) – Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 2021. Disponível em: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/673972/dmd1de1.pdf;jsessionid=11BE367993C0B6DDDE5FDFCAF2CCD230?sequence=1>. Acesso em: 26 mar. 2026.

EFSA – EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. **Scientific opinion on the safety and efficacy of xylanase (endo-1,4- β -xylanase) as a feed additive for poultry**. EFSA Journal, v. 16, n. 8, p. 5361, 2018. DOI: 10.2903/j.efsa.2018.5361.

GE, C.; XUE, M.; HOOFT, J. M.; ØVERLAND, M.; LIANG, X.; WANG, J.; MENG, P.; QIN, Y.; & WANG, H. **Impact of physiochemical properties of protein ingredients on pellet quality and microstructure**. Aquaculture Reports, v. 31, 101632, 2023. DOI: 10.1016/j.aqrep.2023.101632.

GENG, L.; LIU, K.; ZHANG, H. **Lipid oxidation in foods and its implications on proteins**. Frontiers in Nutrition, 15, 2023. DOI:10.3389/fnut.2023.1192199.

GUIDO, E. S. **Produção de xilo-oligossacarídeos por hidrólise enzimática de xilanase**. 2016. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2016. Disponível em: https://www.oasisbr.ibict.br/vufind/Record/BRCRIS_82c2dc955a71a9fce240cdaa70e6e6b2. Acesso em: 26 mar. 2026.

HUSSAIN, M.; MIRZA, M. A.; NAWAZ, H.; ASGHAR, M.; AHMED, G. **Effect of exogenous protease, mannanase, and xylanase supplementation in corn and high protein corn DDGS based diets on growth performance, intestinal morphology and nutrient digestibility in broiler chickens**. Brazilian Journal of Poultry Science, v. 21, n. 4, eRBCA-2019-1088, 2019. DOI: 10.1590/1806-9061-2019-1088.

IUBMB – INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. **Enzyme nomenclature EC 3.2.1.8 – Xylanase**. 2024. Disponível em: <https://www.enzyme-database.org/query.php?ec=3.2.1.8>. Acesso em: 7 ago. 2025.

KAUR, D.; SINGH, J.; SINGH, H.; KAUR, P. **An insight into microbial sources, classification, and industrial applications of xylanases: a rapid review**.

Biotechnology and Applied Biochemistry, v. 70, n. 4, p. 1489–1503, 2023. DOI:10.1002/bab.2469.

LEE, S. R.; KIM, J. H.; PARK, S. Y.; CHO, J. H.; KIM, I. H. **Novel thermal stability enhanced xylanase improves the performance and digestibility parameters in broilers.** Poultry Science, v. 103, n. 12, p. 104447, 2024. DOI: 10.1016/j.psj.2024.104447.

MCCAFFERTY, K. W.; BEDFORD, M. R.; KERR, B. J.; DOZIER, W. A. III. **Effects of age and supplemental xylanase in corn- and wheat-based diets on cecal volatile fatty acid concentrations of broilers.** Poultry Science, v. 98, n. 10, p. 4787–4800, 2019. DOI: 10.3382/ps/pez194.

MILADINOVIC, D. D.; STOREBAKKEN, T.; LEKANG, O. I.; SALAS-BRINGAS, C. **The effect of feed enzymes phytase, protease and xylanase on pelleting of microalgal biomass.** Heliyon, v. 7, n. 12, e08598, 2021. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e08598.

MILLER, G. L. **Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugar.** Analytical Chemistry, v. 31, n. 3, p. 426–428, 1959. DOI: 10.1021/ac60147a030.

MONCLARO, A. V. **Caracterização de múltiplas formas de xilanases produzidas por *Aspergillus oryzae* quando crescido em resíduos têxteis.** 2014. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

MOURA, G. S.; LANNA, E. A. T.; DONZELE, J. L.; FALKOSKI, D. L.; REZENDE, S. T.; OLIVEIRA, M. G. A.; ALBINO, L. F. T. **Stability of enzyme complex solid-state fermentation subjected to the processing of pelleted diet and storage time at different temperatures.** Revista Brasileira de Zootecnia, v. 45, n. 12, p. 731–736, 2016.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry.** 8. ed. New York: W. H. Freeman, 2021.

ORIGINLAB CORPORATION. OriginPro (software), versão 2026. Northampton, MA, 2026.

PENG, F.; XIANG, R.; FANG, F.; & LIU, D. **Analysis of feed pelleting characteristics based on a single pellet press device.** International Journal of Agricultural and Biological Engineering, v. 15, n. 4, p. 65–70, 2022. DOI: <https://doi.org/10.25165/ijabe.20221504.6155>.

POPE, J. T.; FAHRENHOLZ, A. C. **The effect of the level of mixer-added water and mash conditioning temperature on parameters monitored during pelleting and phytase and xylanase thermostability.** Animal Feed Science and Technology, v. 269, p. 114679, 2020. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2020.114679.

R CORE TEAM. R: **A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2023.

R STUDIO TEAM. **RStudio**: Integrated Development Environment for R. Boston, MA, 2023.

RAVINDRAN, V. **Feed enzymes: the science, practice, and metabolic realities**. Journal of Applied Poultry Research, Champaign, v. 22, n. 3, p. 628–636, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3382/japr.2013-00739>.

SILVA, K. F.; DURAU, J. F.; MARX, F. O.; OLIVEIRA, S. G.; KRABBE, E. L. **Equivalência energética da peletização de dietas para frangos de corte**. In: Congresso latino – americano de nutrição animal, 8, 2018, Campinas. Anais [...]. Campinas: CBNA. Disponível em <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1104064>. Acesso em 26 mar. 2026.

SULABO, R. C.; JU, W. S.; STEIN, H. H. **Factors affecting storage stability of various commercial phytase sources**. Journal of Animal Science, v. 89, n. 12, p. 4262–4271, 2011.

SURESHKUMAR, S.; SONG, J.; SAMPATH, V.; KIM, I. **Exogenous enzymes as zootechnical additives in monogastric animal feed: a review**. Agriculture, Basel, v. 13, n. 12, p. 2195, 2023. DOI: 10.3390/agriculture13122195.

VARGAS, J. I.; GULIZIA, J. P.; HERNANDEZ, J. R.; SIMÕES, C. T.; GUZMAN, E. G.; LEE, J.; ADHIKARI, R.; HAN, S. E.; PACHECO, W. J. **Dose response of xylanase enzyme on ileal viscosity, digestibility of nutrients, and performance of broiler chickens fed wheat-based diets**. Journal of Applied Poultry Research, v. 33, n. 4, 100479, 2024. DOI: [10.1016/j.japr.2024.100479](https://doi.org/10.1016/j.japr.2024.100479).

WANG, Y.; ZHAO, F.; ZHANG, H.; ZHANG, Q.; ZHAO, W.; SA, R.; & XIE, J. **Effects of phytase source and dose on its stability during pelleting process under different conditioning temperatures**. Animals, v. 13, p.23:3741, 2023. DOI: 10.3390/ani13233741.

WENG, Y.; LIU, X.; ZHANG, H.; CHEN, L. **Microencapsulation of enzymes in alginate matrices to enhance thermal stability during spray drying**. Food Hydrocolloids, v. 137, 2023.

YANG, S.; FENG, M.; XU, J.; DENG, Z.; ZHANG, H.; LIU, Y.; CHEN, X. **Encapsulation, characterization and in vitro releasing of xylanase and glucose oxidase (GOD) into cellulose nanocrystals stabilized three-layer microcapsules**. International Journal of Biological Macromolecules, 2024. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.135515.

APÊNDICE A - Avaliação da normalidade dos resíduos ANOVA (ração farelada e peletizada)

A avaliação da normalidade dos resíduos da ANOVA foi realizada por meio do histograma dos resíduos, gráfico de probabilidade normal (Q-Q plot) e teste de Shapiro-Wilk. O histograma apresentou distribuição aproximadamente simétrica, sem desvios acentuados de assimetria em ambas as rações, indicando comportamento próximo ao esperado para uma distribuição normal. No Q-Q plot, observou-se que os pontos permaneceram próximos à linha de referência, demonstrando adequada aderência dos resíduos à normalidade teórica.

O teste de Shapiro-Wilk apresentou valor de p superior a 0,05, indicando ausência de diferença significativa em relação à distribuição normal. Dessa forma, os resíduos atenderam ao pressuposto de normalidade da análise de variância, validando a aplicação da ANOVA aos dados experimentais.

Figura A1: Histograma dos resíduos - ração farelada

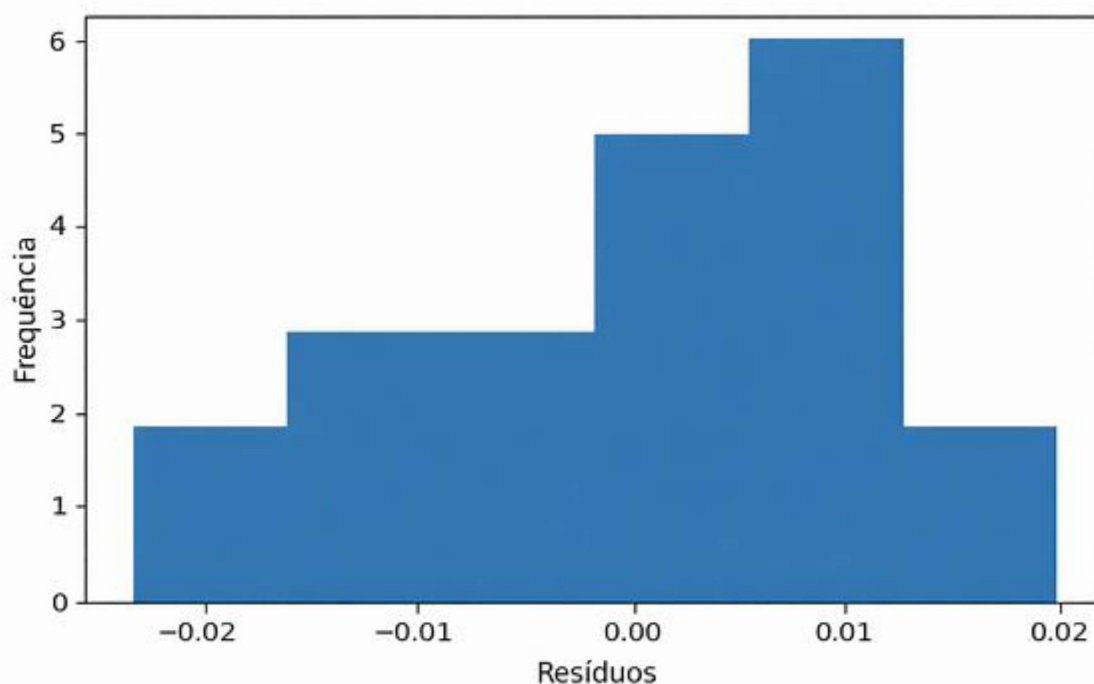


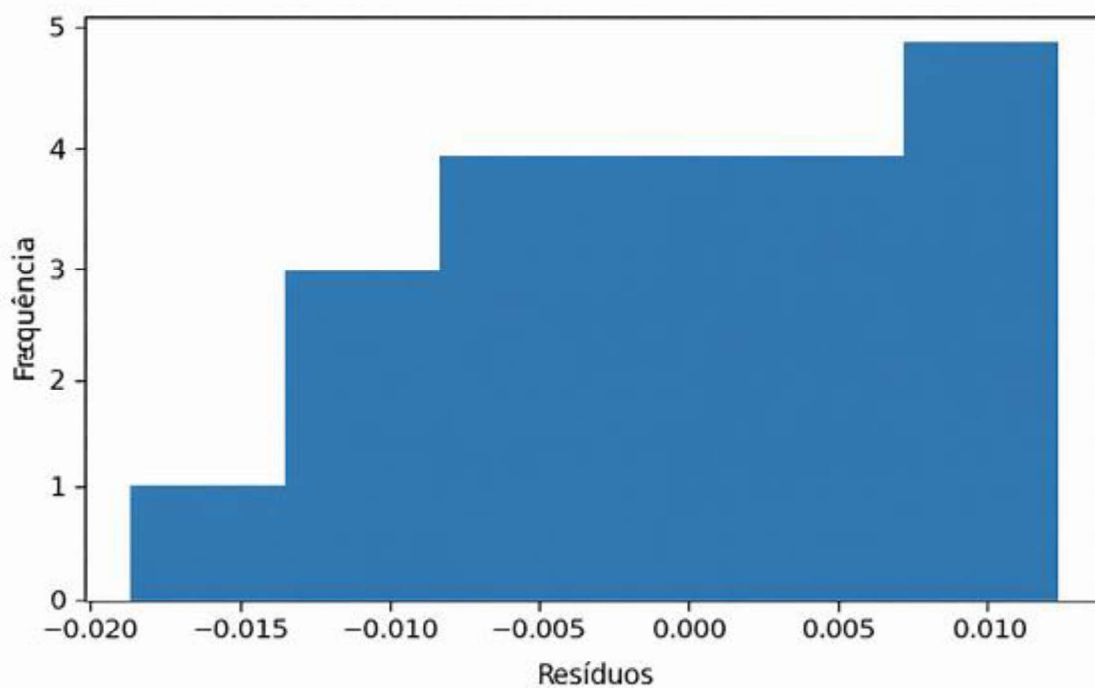
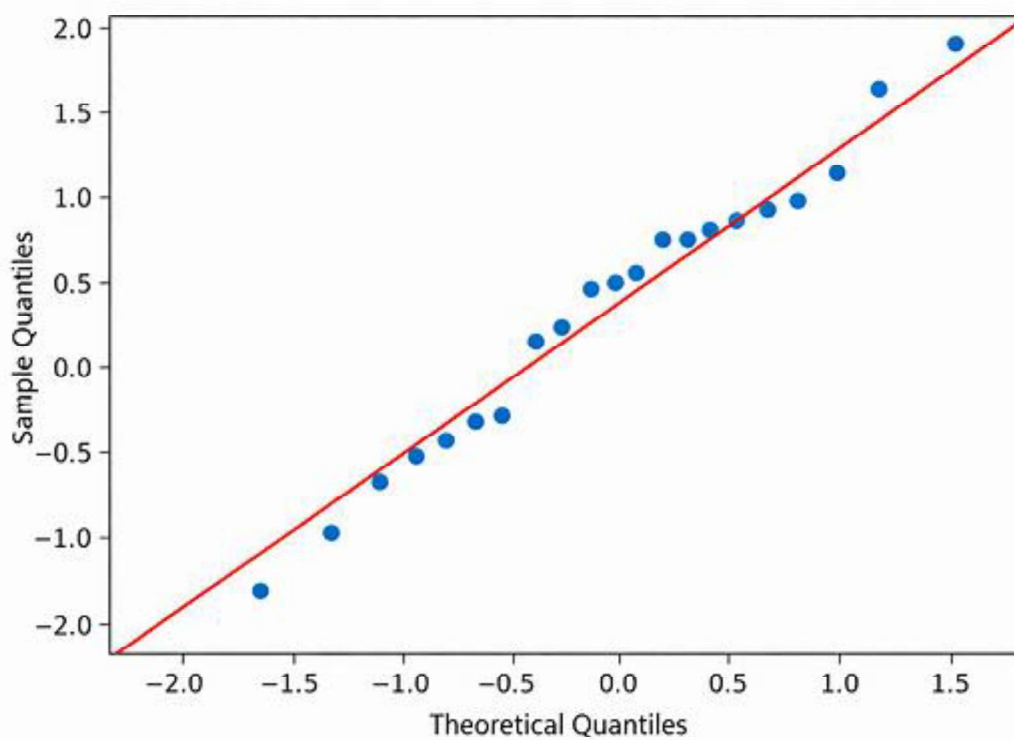
Figura A2: Histogram dos resíduos - ração peletizada**Figura A3: Q-Q plot dos resíduos – ração farelada**

Figura A4: Q-Q plot dos resíduos – ração peletizada

