

**VICTOR LIBARDO HURTADO NERY**

**ADIÇÃO DE ENZIMAS NAS RAÇÕES DE LEITÕES EM RECRIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, para obtenção do título de Mestre.

**Orientador**  
Prof. ELIAS TADEU FIALHO

**LAVRAS**  
**MINAS GERAIS-BRASIL**  
1997



027519  
VICTOR LIBARDO HURTADO NERY

**ADIÇÃO DE ENZIMAS NAS RAÇÕES DE LEITÕES EM RECRIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, para obtenção do título de Mestre.

**Orientador**

Prof. ELIAS TADEU FIALHO

LAVRAS  
MINAS GERAIS-BRASIL  
1997

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação  
da Biblioteca Central da UFLA

Hurtado Nery, Victor Libardo

Adição de enzimas nas rações de leitões em recria / Victor Libardo  
Hurtado Nery. -- Lavras : UFLA, 1997  
36 p. : il.

Orientador: Elias Tadeu Fialho  
Dissertação (Mestrado) - UFLA.  
Bibliografia.

1. Leitão - Alimentação. 2. Enzima. 3. Ração - Suplementação. 4.  
Atividade enzimática. 5. Digestibilidade. 6. Desempenho. 7. Suíno. I.  
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

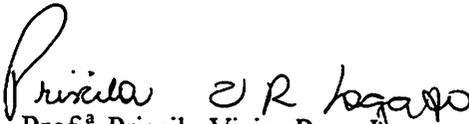
CDD - 636.4084  
- 636.4085  
- 636.40920151  
- 636.409239

**VICTOR LIBARDO HURTADO NERY**

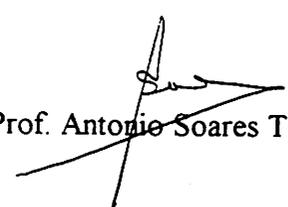
**ADIÇÃO DE ENZIMAS NAS RAÇÕES DE LEITÕES EM RECRIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 18 de julho de 1997

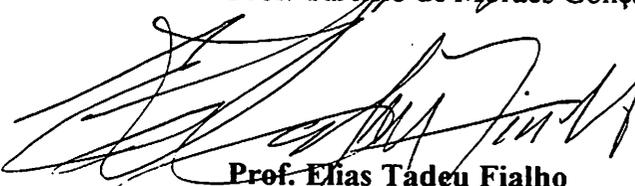
  
Prof.<sup>a</sup> Priscila Vieira Rosa Logato

  
Prof. Eduardo Pinto Filgueiras

  
Prof. Antonio Soares Teixeira

  
Prof. Custódio Donizete dos Santos

  
Prof. Tarcisio de Moraes Gonçalves

  
Prof. Elias Tadeu Fialho  
Orientador

THE UNIVERSITY OF CHICAGO

PHYSICS DEPARTMENT

PHYSICS 551

LECTURE NOTES

BY [Name]

DATE

1. Introduction

## **AGRADECIMENTOS**

À República Federativa do Brasil, à Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Zootecnia, ao Programa PEC-PG, ao CNPq, à EPAMIG, pelo fornecimento de recursos materiais e financeiros.

À Universidad de los Llanos por possibilitar a realização deste curso.

Ao professor orientador Elias Tadeu Fialho e ao Professor José Augusto de Freitas Lima pela oportunidade de realizar este trabalho, pela confiança depositada em mim no desenvolvimento do curso, e pela orientação exemplar ao longo do curso.

Aos professores membros da banca examinadora, Custodio Donizete dos Santos, Priscila Vieira Rosa Logato, Antonio Soares Teixeira, Eduardo Pinto Filgueiras e Tarcisio de Moraes Gonçalves, pela colaboração a este trabalho. Aos professores Marcos Rostagno e Luis Murgas do Departamento de Medicina Veterinária pela amizade.

Aos amigos e colegas Alberto, Antônio Marcos, Ademir Conde, Ademir Maciel, Carlos Boa Viagem, Celia Guimarães, Claudio Prospero, Eustaquio Resende Bittar, Jane Carvalho, José Hortêncio Mota, Julio Argentino, Marcio Martins, Marcelo Prudente de Assis, Maurilo, Miriam Terezinha Belo, Patricia Souza, Sebastião Ferreira, Sandra Pinto e Solano Sartorelli pela amizade.

Aos professores e funcionários do Departamento de Zootecnia da UFLA. Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal Suelba, Eliane, Marcio e Virgilio, pela colaboração constante nas análises laboratoriais. Ao amigo Carlos Souza, Secretário do curso de pós-graduação em Zootecnia pela colaboração nas atividades perante a Coordenação do Curso.

Aos amigos Alexandre Silva, Danilo, Gilberto Schickler, Marilisa de Souza, Patricia Rodrigues, Reinaldo Kato e Rony Ferreira pela colaboração na condução dos experimentos e na realização das análises laboratoriais. Aos funcionários do setor de suinocultura Helio Rodrigues e José Antônio Carvalho pela colaboração no trabalho de campo.

A Amparo, Diana, Doris, Marina, Myriam, Leonor, Lucero e Nelcy, e aos meus irmãos pelo apoio constante.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

A Jhonatan Camilo e Jhohan Steven,  
os meus Filhos, que justificam meus sonhos

dedico

## **BIOGRAFIA**

Victor Libardo Hurtado Nery, filho de Doris Melania Nery e José Antônio Hurtado. Nascido em primeiro de maio de 1958, em Piendamó, Cauca, Colômbia.

Formado em Medicina Veterinária e Zootecnia na Universidad de los Llanos em 1988.

Em 1989 foi contratado como professor Assistente na mesma Universidade, sendo em 1992 como professor efetivo.

Em março de 1995 ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia, na área de Produção Animal de Suínos, submetendo-se ao exame final de defesa em 18 de julho de 1997.

## SUMARIO

	<b>página</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	ix
<b>RESUMO</b> .....	xi
<b>ABSTRACT</b> .....	xiii
1 <b>INTRODUÇÃO</b> .....	1
2 <b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	3
2.1 Aspectos bioquímicos das enzimas.....	3
2.2 Usos das enzimas na alimentação animal.....	5
2.3 As enzimas e a digestibilidade dos nutrientes.....	7
2.4 Atividade enzimática em suínos.....	7
3. <b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	10
3.1 Localização e período experimental.....	10
3.2 Rações experimentais.....	10
3.3 Experimento I. Efeito da adição de enzimas sobre o desempenho de leitões em recria.....	13
3.3.1 Animais e instalações.....	13

3.3.2	Delineamento experimental e tratamentos.....	13
3.3.3	Manejo.....	14
3.3.4	Variáveis estudadas.....	14
3.3.5	Análise estatística.....	14
3.4	Experimento II. Efeito da adição de enzimas sobre o balanço energético e de nitrogênio de leitões em recria.....	15
3.4.1	Animais e instalações.....	15
3.4.2	Delineamento experimental e tratamentos.....	16
3.4.3	Manejo.....	16
3.4.4	Coleta de amostras.....	16
3.4.5	Variáveis estudadas.....	17
3.4.6	Análise estatística.....	17
3.5	Experimento III. Efeito da adição de amilase, lipase e protease sobre os níveis das enzimas digestivas de leitões em receia.....	18
3.5.1	Animais e instalações.....	18
3.5.2	Delineamento experimental e tratamentos.....	18
3.5.3	Manejo.....	18
3.5.4	Coleta de amostras.....	19
3.5.5	Preparação das amostras de quimo.....	19
3.5.6	Determinação da atividade enzimática.....	20
3.5.6.1	Determinação da atividade da amilase.....	20
3.5.6.2	Determinação da atividade da lipase.....	20
3.5.6.3	Determinação da atividade da tripsina.....	21

3.5.7	Análise estatística.....
4	<b>RESULTADOS E DISCUSÃO.....</b>
4.1	Experimento I. Desempenho.....
4.2.1	Experimento II Ensaio de Metabolismo .....
4.2.2	Balanço energético.....
4.2.3	Balanço de nitrogênio.....
4.3	Experimento III. Atividade enzimática.....
5	<b>CONCLUSÕES.....</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>
	<b>APÊNDICE.....</b>

## LISTA DE TABELAS

	Tabela	Pagina
1	Composição química dos ingredientes utilizados nas rações experimentais.....	11
2	Composição centesimal das rações experimentais para suínos em recria.....	12
3	Consumo Médio Diário de Ração (CMDR), Ganho Médio Diário de Peso (GMDP) e Conversão Alimentar (CA) de suínos em de recria alimentados com rações contendo suplementação de enzimas. Experimento I.....	23
4	Energia Bruta Ingerida (EBI), Energia Excretada nas Fezes (EF), Energia Excretada na Urina (EU), Energia Digestível (ED), Energia Metabolizável (EM), Relação Energia Metabolizável/Energia Digestível (EM/ED).....	24
5	Nitrogênio Ingerido (NI), Nitrogênio Excretado nas Fezes (NEF), Nitrogênio Absorvido (NABS), Coeficiente de Digestibilidade da Proteína Bruta (CDPB), Nitrogênio Excretado na Urina (NEU), Retenção de Nitrogênio (RN) de leitões alimentados com suplementação de enzimas. Experimento II.....	25
6	Atividade enzimática da amilase, lipase e tripsina de leitões alimentados com dietas contendo suplementação de enzimas s. Experimento III.....	27

7	Atividade da amilase, lipase e tripsina segundo o peso dos leitões alimentados com dietas contendo adição de enzimas exógenas.....	28
---	--	----

## RESUMO

HURTADO NERY, Víctor Libardo, Lavras:UFLA, Julho de 1997. **Adição de enzimas nas rações de leitões em recria.** (Dissertação-Mestrado em Zootecnia. 36p.)<sup>1</sup>

Foram conduzidos três experimentos no setor de suinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, com o objetivo de estudar os efeitos da adição de enzimas exógenas na ração sobre o desempenho, digestibilidade e níveis de amilase, lipase e tripsina em leitões de 10-30 kg. Experimento I: foram utilizados 160 leitões mestiços Landrace x Large White de 9.87 (1.48) kg de peso vivo, alojados em baias suspensas em sala de alvenaria com ambiente semi-controlado, distribuídos em cinco tratamentos e oito repetições. Sendo estudadas as variáveis Consumo Médio Diário de Ração (CMDR), Ganho Médio Diário de Peso (GPMD) e Conversão Alimentar (CA). Experimento II: foram utilizados 20 leitões machos castrados de 17.4 (0.5) kg, mantidos em gaiolas metabólicas e em ambiente controlado; para estudar variáveis Balanço Energético (BE), Energia Digestível (ED), Energia Metabolizável (EM), Retenção de Nitrogênio (RN), e Coeficiente de Digestibilidade da Proteína Bruta (CDPB). Experimento III: foram utilizados 30 leitões, alojados em baias de recria, para estudar os níveis de enzimas digestivas naturais no quimo dos suínos nos pesos de 10, 20, e 30 kg. O delineamento experimental utilizado nos três experimentos foi o de blocos casualizados. A análise estatística foi realizada no pacote computacional SANEST. A ração experimental foi a base de milho, farelo de soja, mais a adição de enzimas exógenas, contendo 18% de proteína bruta e 3400 kcal/kg de

---

<sup>1</sup> Orientador Professor Dr Elias Tadeu Fialho. Membros da banca: Prof. Dra. Priscila Vieira Rosa Logato, Prof. Dr. Antonio Soares Teixeira, Prof. Dr. Custodio Donizete dos Santos, Prof. Dr. Eduardo Pinto Filgueiras, Prof. Tarcisio Gonçalves de Moraes.

ED. Os cinco tratamentos foram: A-Ração Basal (RB) ou testemunha, B-RB+ amilase; C-RB+ lipase; D-RB+ protease; e E-RB + complexo de amilase, lipase e protease, sendo as mesmas adicionadas em doses de 25 g de enzima/100 kg de ração. Os resultados não mostraram diferenças significativas ( $P>0.05$ ) para CMDR, GMDR, entretanto o tratamento contendo adição de protease apresentou melhor CA ( $P<0.05$ ), sendo que a adição do complexo enzimático proporcionou pior CA. Os dados de digestibilidade apresentaram diferenças significativas ( $P<0.05$ ) apenas para, CDPB, sendo que o ED e EM foram similarerse ( $P>0,05$ ) nos diferentes tratamentos testados. Os tratamentos contendo adição de enzimas apresentaram maiores valores de CDPB do que ao testemunha. A RN foi similar ( $P>0,05$ ) entre as diferentes tratamentos testados. Os níveis de atividade de amilase, tripsina e lipase no quimo dos suínos não foram influenciados ( $P>0,05$ ) pela adição de enzimas exógenas, entretanto o peso dos animais influenciou significativamente ( $P<0.05$ ) os níveis de amilase e tripsina. De acordo com os resultados obtidos conclui-se que a adição de protease às rações dos leitões dos 10-30 kg pode ser tecnicamente viável.

## ABSTRACT

### FEED ENZYMES IN THE PIGLETS

Three experiments were carried out in the swine sector of the animal Science at the University Federal of Lavras, with the objective of to study the effects the feed enzymes on the performance, digestibility and amylase, lipase and tripsin activities in the piglets. The chemical composition of the fed basis were: protein, CP (18.00); digestible energy, DE (3400 kcal/kg), based on corn and soybean meal. Experiment 1. The feed intake (FI), Daily gain (DG) and Feed Conversion (FC) were taken on 160 piglets ( Landrace X Large White) of 9,87 (1,48) kg body weigth, kepted creep and submitted in control diet as well as one of thre enzymes supplements (amylase, lipase, protease and complex). In the experiment II, were used 20 barrows of 17.4 (0.5) kg, for to determine the Digestible Energy (DE), Metabolizable Energy (ME) and Protein Digestibility (PD).In the experiment III, A total of 30 piglets were utilized in order to determine the profiles of amylase, lipase and tripsin, in the 30 piglets. The statistical analysis were performed using the Sanest procedure . The treatments were A: Control (Basal Diet, BD); B: BD+ amylase; C:BD+ lipase; D:BD+ protease; and E:BD + complex (amylase, lipase and protease).it was added 25 g of enzyme/100 kg of feed. Pigs were assigned to the treatments in a randomized complete block design, with eighth replicates/treatment . There were no significant effects ( $P>0,05$ ) of enzymes on FI, DG in the performance assay. There with the treatment protease improved FC ( $P<0.05$ ). The results of digestibility shown significant effects ( $P<0.05$ ) on PD, therefore the DE

and ME had no significant differences ( $P>0.05$ ) amount the treatment tested.. The profiles of amylase, tripsin and lipase shown no influence by added the enzymes. The body weigth the piglets significant effects ( $P<0,05$ ) on profiles the amylase and tripsin. Accord to the resultas the only proteases shown the tecnicly adequate for piglets performance 10 to 30 kh of live weight.

## 1. INTRODUÇÃO

Na busca por melhor eficiência na produção de suínos, é necessário considerar os avanços importantes nas áreas de manejo, nutrição, alimentos alternativos, e uso de aditivos que participam dos processos de alimentação e nutrição destes animais nas diferentes fases do ciclo de produção. Dentre os diversos aditivos estudados as enzimas digestivas tem merecido uma especial atenção pelos pesquisadores.

As pesquisas utilizando enzimas na alimentação dos suínos se iniciaram nos anos 50, com a finalidade de melhorar a utilização da cevada como forma de incrementar o ganho de peso, e a conversão alimentar de leitões recém desmamados. Entretanto o uso comercial das enzimas na alimentação animal teve seu início somente em 1984 na Finlândia, e as mesmas foram utilizadas em rações baseadas em grãos como aveia, trigo, cevada, centeio e triticale, cereais estes que caracterizam por conterem alta viscosidade. Em 1996 foram desenvolvidos varios produtos enzimáticos para serem utilizados em rações à base de grãos como milho e sorgo, caracterizados por serem de baixa viscosidade e contendo níveis significativos de farelo de soja.

Nos últimos anos tem-se utilizado enzimas, objetivando incorporar às rações matérias primas de baixa qualidade, para melhorar o aproveitamento dos ingredientes como milho, sorgo, farelo de soja, e para reduzir o impacto ecológico dos dejetos dos suínos sobre o meio ambiente.

Com base no exposto, esta pesquisa teve por objetivos determinar o efeito da adição das enzimas exógenas amilase, lipase e protease em rações de suínos em recria, sobre o desempenho, a digestibilidade dos nutrientes, e determinar níveis de amilase, lipase e tripsina em leitões de 10 aos 30 kg do peso vivo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Aspectos Bioquímicos das enzimas

As enzimas são proteínas que catalisam as reações químicas nos sistemas biológicos. A atividade catalítica das enzimas depende de uma série de fatores como concentração do substrato e da enzima, e o ambiente onde a reação acontecerá. Alguns dos fatores mais importantes citados por Classen (1993) que podem influenciar na atividade das enzimas são temperatura, pH, umidade e a presença de coenzimas e inibidores enzimáticos.

A digestão e hidrólise dos alimentos é feita pela ação enzimática que desdobra partículas maiores dos nutrientes em partículas que possam ser absorvidas pelo intestino delgado. Genericamente se consideram os seguintes tipos de enzimas principais, proteases, lipases e carbohidrases, cujos substratos são proteínas, lipídeos e carboidratos, respectivamente. Sendo que a variação na composição dos alimentos pode alterar a atividade dessas enzimas.

As enzimas digestivas que hidrolisam proteínas, chamadas proteases, são sintetizadas como zimogênios inativos no estômago e no pâncreas, as quais são pepsina, quimotripsina e tripsina. A pepsina digere proteínas no ambiente ácido do estômago em pH 2,0-4,0 (Tardin, 1985; Makkink, et. al., 1994), sendo que a quimotripsina e a tripsina digerem proteínas no intestino

delgado em ambiente alcalino em pH 8,0 (Tardin, 1985). A digestão de proteínas no duodeno requer a ação conjunta de várias enzimas proteolíticas, porque cada uma é específica para um limitado número de cadeias laterais dos aminoácidos. Portanto, os zimogênios devem ser ativados ao mesmo tempo. O controle coordenado é conseguido pela ação da tripsina como ativador comum de todos os zimogênios pancreáticos, como tripsinogênio, quimotripsinogênio proelastase e procarboxi-peptidase, (Stryer, 1988)

A ação proteolítica da tripsina têm função de endopeptidase para produzir polipeptídeos e hidrolisando ligações internas, onde ocorrer principalmente aminoácidos básicos como arginina e lisina; e pela quimotripsina onde ocorrer aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano, enquanto que a elastase tem especificidade pelas ligações peptídicas dos aminoácidos alifáticos leucina, alanina e valina.

Nos suínos a  $\alpha$ -amilase salivar ou ptialina atua na boca sobre as ligações  $\alpha$  1,4, do amido atividade esta que é neutralizada pelo pH ácido do estômago. A  $\alpha$ -amilase pancreática, tem a mesma função que a anterior, digerindo o amido no intestino para produzir glicose, maltose e maltotriose (oligossacarídeos).

As gorduras são hidrolisadas por uma lipase pancreática a ácidos graxos, glicerol, monoacilgliceróis e diacilgliceróis. A lipase pancreática é específica para a hidrólise das ligações ésteres (Harper, Rodwell e Mayes, 1994) e, em pH 7,1 (Tardin, 1985). É importante enfatizar que os sais biliares exercem uma função importante na emulsificação das gorduras, possibilitando sua digestão e posterior absorção, assim como na ativação da lipase (Tardin, 1985)

## 2.2. Usos das enzimas na alimentação animal

As enzimas de acordo com Chesson, (1987) são utilizadas na alimentação de suínos e aves, para a hidrólises de fatores antinutricionais (FAN), para a suplementação das enzimas digestivas dos animais, e para a hidrólises de Polissacarídeos Não Amiláceos, PNA. Além, destes usos, Graham (1996) relatou, que as enzimas reduzem a viscosidade da digesta no intestino delgado distal, causada por fibra solúvel (xilanas) e pelas ligações  $\beta$ -glucanos; e que as enzimas rompem a parede celular rica em fibra, na qual encontram-se contidos os nutrientes e protegidos contra o processo da digestão. Embora os resultados da adição de enzimas tenham sido mais pesquisados nas aves, em suínos pesquisa tem mostrado respostas positivas do uso de fitase como forma de melhorar o aproveitamento do fósforo na forma de fitatos, em suínos recém desmamados e em crescimento (Pointillar, 1991; Jongbloed, Mroz e Kemme, 1992; Young, Leunissen e Atkison, 1993; Mroz, Jongbloed e Kemme, 1994; Lei et. al., 1994).

Os produtos enzimáticos utilizados comercialmente podem ser de origem bacteriana, fúngica e vegetal. As enzimas utilizadas na alimentação animal são derivadas de um limitado número de microorganismos, tais como *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Humicola* e *Bacillus* (Morgan e Cowan, 1996). As enzimas de origem microbiana, a glucanase, quando adicionadas nas rações melhoram a utilização da cevada porque diminuem a viscosidade da digesta mediante hidrólises parciais dos  $\beta$ -glucanos, produzindo uma redução da ligação da água com o amido, facilitando assim a ação das enzimas naturais sobre o amido e as proteínas, em rações para frangos (Cowan, 1990.), entretanto, para suínos, os resultados obtidos com a adição de glucanase são menos eficientes, porque o consumo de água contribui para a diluição da viscosidade produzida pelos  $\beta$ -glucanos tornando-os altamente digestíveis no íleo (Campbell e Bedford, 1992)

Golovov e Alexeiv, citados por Costa, Lopes e Nicolaiewsky, (1979), obtiveram resultados favoráveis, utilizando o pepsinogênio como suplemento de rações para leitões na fase de crescimento, com idade inicial de 70 dias, administrando 3 gramas de pepsinogênio por animal durante 50 dias. Os resultados indicaram que o grupo experimental dos suínos testados com pepsinogênio propiciaram ganho diário de peso 11,7% superior aos do grupo controle. Da mesma forma, Costa, Lopes e Nicolaiewsky (1979), Utilizando um complexo enzimático comercial, proveniente de misturas de enzimas de origem fúngica e bacteriana (amilase, protease e celulase), em rações para suínos em crescimento e terminação baseadas em milho, farelo de soja, farelo de trigo e farinha de carne, constataram, que a adição de níveis de 0.01 e 0.02% do complexo enzimático não proporcionaram diferenças significativas no ganho de peso e na conversão alimentar dos suínos nas fases de crescimento e terminação. Os mesmos autores também não obtiveram diferenças significativas nas variáveis comprimento da carcaça, espessura do toucinho e a área do olho de lombo quando as rações foram suplementadas com o preparado enzimático.

Segundo Easter (1988), produtos enzimáticos usados na alimentação de suínos contendo proteases e amilases tem propiciado aumentos na capacidade digestiva das rações, bem como melhorado a digestibilidade da matéria seca e de nitrogênio de rações baseadas em milho e farelo de soja para leitões, de acordo com o autor esses aumentos ocorreram durante as três primeiras semanas após a desmama, e podem ser explicados pelo incremento dos níveis de enzimas pancreáticas determinadas durante esta fase da vida dos leitões (Easter, 1988).

Em suínos desmamados entre 3-7 semanas de idade e pesando entre 4-16 kg cujas rações tinham suplementação de amilase e protease, foram observados aumentos significativos no ganho de peso e na conversão alimentar de acordo com os resultados citados por Collier e Hardy, (1986) e Inborr e Ogle, (1988). A adição de preparados enzimáticos em rações para leitões recém

desmamados e contendo amilase, protease e polissacaridase também contribuíram para a redução da incidência de diarreia em leitões (Inborr e Ogle, 1988; Chesson, 1993)

### **2.3 As enzimas e a digestibilidade dos nutrientes**

A suplementação de enzimas no período após desmama pode ser benéfica para os leitões. Pesquisas tem evidenciado que a inclusão de amilase nas rações melhoram a digestibilidade do amido contido nos cereais (Officer, 1995; Acamovic e McCleary, 1996, Classen, 1996); enquanto que a suplementação de lipase melhorou o aproveitamento de gordura pelos suínos em recria (Cera, Mahan e Reinhart, 1988), sendo que a adição de proteases melhoram a digestibilidade da proteína (Corring, Aumaitre e Durand, 1978).

### **2.4 Atividade enzimática em suínos**

Os níveis de enzimas digestivas no organismo animal são influenciados pela idade e pelo tipo de alimento. A função digestiva em leitões recém desmamados é comprometida, devido que a produção de enzimas pancreáticas pelo animal pode ser drasticamente reduzida ocorrendo também modificações morfológicas das vilosidades, (Partridge, 1993).

Em função do desenvolvimento fisiológico dos animais, de acordo com Cantor (1995) a atividade da amilase no intestino delgado aumenta durante os 10 primeiros dias de idade. Leitões recém desmamados alimentados com dietas contendo altos níveis de amido não possuem capacidade de sintetizar amilase suficiente para a digestão dos substratos. A maltase, sacarase e proteases são inicialmente pouco ativas enquanto que a lactase apresenta grande atividade nos

leitões recém nascidos, sendo que a mesma decresce com o aumento da idade dos suínos. Os aumentos de carboidratos, proteínas e gordura na dieta, são acompanhados de aumentos em amilase, proteases e lipases respectivamente de acordo com o tipo de rações (Corring, 1978), segundo este autor, o aumento de 0 - 40% na proteína das rações propiciam aumentos de até 250% da quimotripsina e de 20% da tripsina.

Nos leitões a função pancreática aumenta na terceira semana de idade, a amilase e a protease, presentes em baixas quantidades ao nascimento, aumentam nos períodos subsequentes. A desmama repentina na quarta semana de vida dos leitões causa queda na produção de amilase e uma redução significativa na produção das proteases, segundo medições de atividade por unidade de peso do pâncreas (Lindemann et al., 1986; Owsley, Orr e Tribble, 1986). De acordo com Makkink, et al. (1994) a produção de proteases pancreáticas dependem da fonte protéica e da quantidade de alimento ingerido. O consumo de alimento diminui após a desmama em função de que o sistema digestivo dos leitões tem que se adaptar ao alimento sólido, adequando o pH, as secreções enzimáticas e a motilidade intestinal, além dos transtornos digestivos ocasionados pela proteína da soja, a qual contém fatores antinutricionais e de antígenos, propiciando aos leitões recém desmamados uma série de disfunções intestinais (Makkink, et al., 1994).

As enzimas necessárias para a digestão tais como a amilase, a sacarase e as proteases, desenvolvem-se de forma mais significativa a partir da segunda ou terceira semana de vida do leitão. Mudanças bruscas na alimentação dos leitões recém desmamados podem causar prejuízo no seu desempenho. O nível de amilase pancreática segue um padrão crescente com a idade. A discrepância verificadas à sexta semana, foram relacionadas às diferenças no conteúdo estomacal, porém, o padrão linear de crescimento com a idade foi mais evidente nos leitões desmamados (Tardin, 1985). A idade e o método de alimentação influenciam o desenvolvimento enzimático em

suínos desde o nascimento até 10 semanas de idade, tem sido constatado aumentos na atividade da amilase e das proteases pancreáticas.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1. Localização e período experimental**

Foram conduzidos 3 experimentos no período de março a dezembro de 1996, nas instalações do setor de suinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), município de Lavras-MG, localizado a 21° 14' de latitude sul e 45° de longitude oeste e a uma altitude de 910 metros (Castro Neto, Sedyama e Vilela, 1980).

### **3.2. Rações experimentais**

Foram utilizadas rações fareladas e formuladas com às recomendações do NRC (1988). A ração basal estava composta de milho, farelo de soja, açúcar de cana, fosfato bicálcico, calcário calcítico, sal iodado, óleo de soja, vitaminas e minerais contendo 18% de proteína bruta e 3400 kcal/kg de alimento, sendo adicionados os preparados enzimáticos contendo amilase bacteriana, lipase e protease fúngica numa proporção de 25 g /100 kg de ração, segundo as doses recomendadas pela Alltech, empresa fornecedora do material. A composição química dos

ingredientes utilizados encontra-se na Tabela 1 e a composição centesimal das rações experimentais na Tabela 2.

TABELA 1. Composição química dos ingredientes utilizados nas rações experimentais.

Composição	INGREDIENTES					
	Milho moido	Farelo de soja	Açúcar de cana	Oleo de soja	Fosfato bicálcico	Calcário Calcítico
Matéria Seca <sup>1</sup> (%)	89,10	89,50	-	-	-	-
Proteína Bruta <sup>1</sup> (%)	8,50	44,00	-	-	-	-
Fibra Bruta <sup>1</sup> (%)	2,17	6,46	-	-	-	-
Extrato Etéreo <sup>2</sup> (%)	3,28	0,79	-	-	-	-
Energia Digestível <sup>2</sup> (kcal/kg)	3450	3460	3850	7560	-	-
Cálcio <sup>1</sup> (%)	0,02	0,35	-	-	24,4	38,1
Fósforo Total <sup>1</sup> (%)	0,30	0,60	-	-	18,3	-
Lisina <sup>2</sup> (%)	0,24	2,80	-	-	-	-

<sup>1</sup> Valores segundo análises realizadas no laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras.

<sup>2</sup> Valores segundo EMBRAPA, CNPSA (1991)

TABELA 2.- Composição centesimal das rações experimentais para leitões em recría.

Ingredientes	SUPLEMENTAÇÃO ENZIMÁTICA				
	Testemunha	Amilase	Lipase	Protease	Complexo Enzimático
Milho	65,10	65,10	65,10	65,10	65,10
Farelo de soja	28,55	28,55	28,55	28,55	28,55
Açúcar de Cana	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Óleo de Soja	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30
Calcário	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fosfato bicálcico	1,40	1,40	1,40	1,40	1,40
Premix Vitaminico <sup>2</sup>	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Premix Mineral <sup>3</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Sal iodado	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Caulim	0,10	0,075	0,075	0,075	0,025
Enzimas <sup>4</sup>	-	0,025	0,025	0,025	0,075
total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

## Valores analisados

Proteína Bruta <sup>1</sup> (%)	18,09
Energia Digestível <sup>1</sup> (kcal/kg)	3409
Cálcio <sup>1</sup> (%)	0,76
Fósforo total <sup>1</sup> (%)	0,60
Lisina (%)	0,96

1. Valores analisados no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras
2. Premix (Roche) suínos contendo Vit A, 900.000 UI; Vit D3, 900.000 UI; Vit E, 10.000 UI; Vit K3, 4 g; B1, 2.0 g; B2, 5 g; B6, 5 g; B12, 40 mg; Ácido Nicotínico, 40.0 g; Bacitracina de Zinco, 10.0 g; Antioxidante, 30.0 g; Selenito de Sódio, 50 mg; Excipiente qsp 1.000 g
3. Rologomix (Roche) suínos contendo Ferro, 180 g; cobre, 20 g; cobalto, 4 g; manganês, 80 g; zinco, 140 g; iodo, 4 g; excipiente qsp 1000 g.
4. Amilase BA<sup>®</sup>, Lipase<sup>®</sup>, Protease PF<sup>®</sup>, dosagem segundo a recomendação da Altech do Brasil

### **3.3. EXPERIMENTO I. Efeito da adição de preparados enzimáticos nas rações sobre o desempenho de leitões em recria.**

#### **3.3.1. Animais e instalações**

Foram utilizados 160 leitões recém desmamados, mestiços Landrace x Large White, de 9.87 (0.48) kg de peso vivo e 35 (4) dias de idade, sendo 80 machos e 80 fêmeas. Os animais foram confinados na creche em grupos de 4, em baias suspensas a 1.2 m de altura medindo 2.0 x 1.2 m, com pisos ripados premoldados, dotadas de comedouros semi-automáticos e bebedouros tipo chupeta em sala de alvenaria, sendo os mesmos mantidos em ambiente semi-controlado. Durante o experimento um termômetro de máxima e mínima foi utilizado para registrar a temperatura diariamente. As médias de temperaturas, máximas e mínimas foram de 25,6 e 20,5°C respectivamente, o período experimental foi de 35 dias.

#### **3.3.2 Delineamento experimental e tratamentos**

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados com cinco tratamentos com oito repetições de quatro animais cada para um total de 32 leitões por tratamento, o critério para a formação dos blocos foi o peso dos leitões. A unidade experimental esteve formada pela baia contendo quatro leitões, sendo dois de cada sexo. Os animais foram distribuídos ao acaso nos seguintes tratamentos:

Testemunha, (ração basal)

Ração basal + Amilase

Ração Basal + Lipase

Ração Basal + Protease

Ração Basal + Complexo enzimático de amilase, lipase e protease

### **3.3.3. Manejo**

Os leitões foram pesados no início e no final do período experimental, as rações e água foram fornecidas a vontade do início até o término do período experimental (35 dias), com observação diária quanto a ocorrência de diarreia e o desenvolvimento dos mesmos.

### **3.3.4. Variáveis estudadas**

Foram avaliados o Consumo Médio Diário de Ração (CMDR), o Ganho Médio Diário de Peso (GMDP) e a Conversão Alimentar (CA), durante o período experimental.

### **3.3.5. Análise estatística**

Os dados experimentais foram submetidos a análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando-se o pacote computacional SANEST, Sistema de Análise Estatística, descrito por Zonta, Machado e Silveira Junior (1994). O modelo estatístico utilizado neste experimento foi o seguinte:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + \epsilon_{ij}.$$

No qual:

$Y_{ij}$  = Valor de cada observação do tratamento  $i$  no bloco  $j$ .

$\mu$  = Média geral da amostra.

$T_i$  = Efeito do tratamento  $i$ , sendo  $i = 1, 2, 3, 4, 5$ .

$B_j$  = Efeito do bloco  $j$ , sendo  $j = 1, 2, 3, 4$ .

$\epsilon_{ij}$  = Erro associado a cada observação.

### **3.4. EXPERIMENTO II. Efeito da adição de preparados enzimáticos nas rações sobre o balanço energético e de nitrogênio de leitões em recría**

#### **3.4.1 Animais e instalações**

Foram utilizados 20 suínos machos castrados, mestiços Large White e Landrace de 17.4 (0.5) kg de peso vivo. Durante o período pre-experimental de 9 aos 17 kg de os suínos foram mantidos em grupos de 4 animais e alimentados com as rações contendo cada um dos preparados enzimáticos estudados. Após este período os animais foram confinados individualmente em gaiolas metabólicas semelhantes às descritas por Pekas (1968) na sala de metabolismo em ambiente semi-controlado durante todo o período experimental de 15 dias, sendo 10 dias de adaptação às gaiolas e 5 dias para a coleta total de fezes e urina, de acordo com Fialho et al. (1979).

### **3.4.2. Delineamento experimental e tratamentos**

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, sendo que as dietas testadas foram as mesmas utilizadas no experimento de desempenho (Tabela 2), com cinco tratamentos e quatro repetições, dois em cada bloco. A unidade experimental foi conformada pela gaiola metabólica contendo um animal.

### **3.4.3. Manejo**

A quantidade diária de ração foi calculada a base da matéria seca e em função do peso metabólico ( $\text{kg}^{0.75}$ ). As rações foram umidecidas, como forma de se evitar perdas e facilitar a ingestão, e fornecidas duas vezes ao dia (7:00 e 15:00 horas). O fornecimento de água foi à vontade.

### **3.4.4. Coleta de amostras**

A coleta do material, fezes e urina foi realizada após o fornecimento de ração (a urina de manhã e as fezes à tarde), mantendo-se um intervalo de 24 horas entre as coletas (Serrano, 1990). Para definir o início e final da coleta de fezes, utilizou-se óxido férrico ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) na ração, como marcador fecal, segundo Fialho et al. (1979). Para a coleta das fezes, foram utilizados plásticos nas bandejas, após a coleta era retirado todo tipo de material estranho às fezes, e as amostras foram armazenadas no congelador. Ao final do período experimental as fezes foram pesadas, homogeneizadas, retirando-se amostras por tratamento.

Para a coleta de urina, utilizou-se baldes plásticos, contendo 20 ml de HCl (1:1 em volume) para evitar perdas de nitrogênio e levada a uma proveta de 3000 ml, sendo completada a um volume constante para todos os animais. Utilizou-se uma peneira de nylon de malha fina para a filtragem da urina. Retirando-se uma alíquota de 200 ml por animal e armazenando esta amostra em potes plásticos, identificados e conservados em congelador a  $-10^{\circ}\text{C}$ . Ao término do período de coleta de fezes e urina, as amostras foram homogeneizadas e submetidas a análises químicas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), segundo as normas do AOAC (1990)

#### **3.4.5. Variáveis estudadas**

Foram avaliados o Balanço Energético (BE), a Energia Digestível (ED), a Energia Metabolizável (EM), a Retenção de Nitrogênio (RN), e o Coeficiente de Digestibilidade da Proteína Bruta (CDPB).

#### **3.4.6. Análise estatística**

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o pacote computacional SANEST, descrito por Zonta, Machado e Silveira Junior, (1996). O modelo estatístico aplicado ao experimento foi o mesmo utilizado no experimento de desempenho.

### **3.5. EXPERIMENTO III. Efeito da adição de preparados enzimáticos nas rações sobre os níveis das enzimas digestivas de leitões em recria**

#### **3.5.1. Animais e instalações**

Foram utilizados 30 leitões mestiços (Landrace x Large White), sendo 15 fêmeas e 15 machos, e alojados em baias de recria, dotadas de comedouros fixos e bebedouros tipo chupeta em sala de alvenaria.

#### **3.5.2. Delineamento experimental e tratamentos.**

O delineamento experimental foi de blocos casualizados com 5 tratamentos, 3 blocos e 2 repetições por bloco. O critério para a formação dos blocos foi o peso dos animais. As rações testadas foram as mesmas utilizadas nos experimentos de desempenho e de digestibilidade (Tabelas 2). A unidade experimental esteve formada por cada animal abatido.

#### **3.5.3. Manejo**

Os animais recém desmados foram alimentados a vontade durante todo o período experimental, as dietas testadas foram as mesmas utilizadas nos experimentos de desempenho e de digestibilidade. Quando os leitões atingiram 10 kg, foram separados dos animais de cada tratamento ao acaso, permaneceram em jejum por aproximadamente 12 horas, sendo após

alimentados por uma hora e, após intervalo de 30 minutos abatidos e utilizados para a coleta do quimo (Soares, 1995).

#### **3.5.4. Coleta de Amostras**

Após os animais serem abatidos foi realizada a remoção de 150 centímetros da primeira porção do intestino delgado para a coleta do quimo (Soares, 1995). As amostras de quimo foram congeladas sendo posteriormente liofilizadas e armazenadas até o momento das análises de atividade enzimática de amilase, lipase e tripsina. Estas amostras constituíram os dados do perfil enzimático referentes ao início do experimento. O mesmo procedimento para abate e coleta de amostras foi realizado quando os leitões atingiram em média 20 kg de peso vivo.

Ao final do período experimental, quando os animais atingiram em média 30 kg de peso vivo, foram abatidos dois animais por tratamento, utilizando-se o mesmo procedimento descrito para o início do experimento. Os dados obtidos constituíram as atividades enzimáticas do final do experimento

#### **3.5.5. Preparação das Amostras de Quimo**

Para obtenção das amostras do quimo liofilizado, foram utilizados os mesmos procedimentos descritos para o pâncreas, segundo o método Van Kaak, Rietveld e Makking, (1991). De cada amostra liofilizada foi retirado 0,1 g, o qual foi solubilizado em 5 ml de Tampão Tris/HCl 0,05 M e pH 7,1, e submetido a extração da enzima em agitador magnético a 4°C durante 30 minutos. Posteriormente a solução foi homogeneizada em tubo homogeneizador

Doune sendo o volume completado para 10 ml. As atividades enzimáticas foram determinadas fazendo incubação a 30°C de aliquotas das amostras de quimo com os respectivos substratos preparados em tampão Tris 0,05 M, pH 7,1. Em cada determinação a mistura foi incubada pelo menos quatro diferentes períodos de tempo. Controles sem enzima (branco de substrato) e sem substrato (branco de enzima) foram incubados do mesmo modo do que os tubos que continham os substratos experimentais. A alíquota utilizada foi de 0,2 ml e diluída 5 vezes em tampão Tris para a determinação da atividade de amilase, lipase, e tripsina.

### **3.5.6. Determinação da Atividade Enzimática**

#### **3.5.6.1. Determinação da atividade de Amilase**

A determinação de atividade da amilase foi realizada utilizando a metodologia descrita por Noelting e Bernfeld (1948), utilizando como substrato o amido 1%, preparado em tampão Tris 0,05M, pH7,1, com 4 tempos de reação (0, 15, 30 e 45 minutos) e leitura no espectrofotometro a 550 nm. A atividade foi expressa em micromoles de substrato hidrolisado por minuto (Unidade, U)

#### **3.5.6.2. Determinação da Atividade da Lipase**

A atividade da lipase foi determinadas segundo o método descrito por Alfenas et al., (1991) com modificações, utilizando Alfa-Naftil Acetato em tampão Tris 50 mM, pH 7,1 como substrato. Após a incubação em quatro tempos (0, 5, 10 e 15 minutos) foi adicionado o Reagente

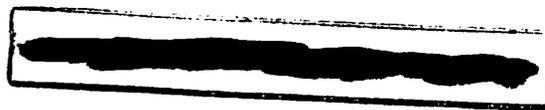
de Cor (SDS 1.4%, Fast Blue RR Salt 1,4 mM, em tampão Citrato 0.5M, pH 6,0), para interromper a reação e quantificar o  $\alpha$ -naftol liberado. Após 15 minutos a 30°C foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 500 nm. A atividade foi expressa em micromoles de substrato hidrolisado por minuto (unidade, U).

### **3.5.6.3. Determinação da Atividade da Tripsina**

A atividade da tripsina foi determinada segundo o método descrito por Erlanger, Kokowsk e Cohen, (1961), determinação após a ativação da enteroquinase utilizando-se Benzoil-DL arginina p-nitroanilida (BApNA) como substrato e incubação em quatro tempos (15, 30, 45 e 60 minutos), e leitura no espectrofotômetro a 410 nm . A atividade foi expressa em micromoles de substrato hidrolisado por minuto (Unidade, U).

### **3.5.7. Análise Estatística**

Os resultados de atividade enzimática foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando-se o pacote computacional SANEST, descrito por Zonta, Machado e Silveira Junior, (1984). O modelo estatístico aplicado foi o mesmo utilizado nos experimentos de desempenho e digestibilidade.



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Experimento I. Desempenho.

Os resultados de Consumo Médio Diário de Ração (CMDR), Ganho Médio Diário de Peso (GMDP) e Conversão Alimentar (CA) de suínos alimentados com adição de enzimas são apresentados na Tabela 3. A adição das enzimas amilase, lipase e protease não influenciaram significativamente ( $P>0.05$ ) o ganho de peso e o consumo de ração. O uso da protease melhorou ( $P<0,05$ ) a conversão alimentar em relação aos tratamentos contendo o complexo enzimático e a testemunha. Embora não tenha sido encontrado diferenças significativas, constatou-se uma tendência de melhoria do ganho de peso em torno de 6,0, 3,0, e 2,5% a favor dos tratamentos contendo protease, amilase e o complexo enzimático respectivamente em relação à testemunha.

Os resultados relativos às diferenças na conversão alimentar entre os tratamentos contendo adição de protease em relação àqueles contendo o complexo enzimático e a testemunha, reafirmam os resultados obtidos no ensaio de metabolismo conduzido neste trabalho em que se constatou melhoria na digestibilidade da proteína bruta e retenção de nitrogênio, as quais foram superiores para o tratamento contendo protease. Estes resultados sugerem o melhor aproveitamento da proteína para a formação de tecido e para o crescimento, nos leitões

alimentados com ração contendo proteases. Resultados semelhantes foram referenciados por Soto (1996), com leitões dos 7 aos 23 kg de peso vivo, e por Officer (1995), com leitões das 3-7 semanas de idade.

Os resultados obtidos no presente experimento indicam que a suplementação das enzimas amilase e lipase e na forma de complexo não têm efeitos significativos sobre o desempenho dos suínos em recria, e uma possível explicação para este resultado é que pela origem a concentração das enzimas utilizadas em cada um dos tratamentos testados, os quais se apresentaram insuficientes concentrações para propiciarem melhoras no desempenho dos leitões.

TABELA 3. Consumo Médio Diário de Ração (CMDR), Ganho Médio Diário de Peso (GMDP) e Conversão Alimentar (CA) de leitões em recria alimentados com rações contendo suplementação de enzimas.

Variável	SUPLEMENTAÇÃO ENZIMÁTICA					C. V.
	Testemunha	Amilase	Lipase	Protease	Complexo Enzimático	
Nº Leitões	32	32	32	32	32	-
Período Experimental, dias	35	35	35	35	35	-
Peso Inicial, kg	10,0	9,90	9,90	9,80	9,80	7,6
Peso Final, kg	28,5	28,7	28,0	29,6	28,7	7,5
CMDR, g/dia	971	971	943	967	1017	10,8
GMDP	526	542	516	557	539	8,4
CA	1,84 a	1,79 ab	1,83 ab	1,74 b	1,89	6,3

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05)

## 4.2. Experimento II. Ensaio de Metabolismo

### 4.2.1. Balanço Energético

Os resultados para Energia Bruta ingerida (EBI), energia excretada nas fezes (EF), energia excretada na urina (EU), Energia Digestível (ED), Energia Metabolizável (EM), relação EM/ED e Balanço Energético (BE) dos suínos alimentados com rações contendo ou não adição de enzimas exógenas são apresentados na tabela 4.

TABELA 4. Dados de Energia Bruta Ingerida (EBI), Energia Excretada nas Fezes (EF), Energia Excretada na Urina (EU), Balanço Energético (BE), Energia Digestível (ED), Energia Metabolizável (EM), Relação Energia Metabolizável/Energia Digestível (EM/ED) de leitões em recria alimentados com rações contendo suplementação de enzimas. Experimento II<sup>1</sup>.

Variável <sup>2</sup>	SUPLEMENTAÇÃO ENZIMÁTICA					C.V.(%)
	TESTEMUNH A	AMILASE	LIPASE	PROTEASE	COMPLENO enzimático	
EBI (kcal/kg)	4792	4561	4522	5116	4407	8,39
EF (Kcal/kg)	662	611	534	671	579	12,34
EU (Kcal/kg)	131	140	145	141	132	7,02
BE	3999	3810	3843	4304	3786	7,24
ED (kcal/kg)	3747	3767	3801	3821	3756	1,14
EM (kcal/kg)	3627	3633	3662	3699	3628	1,30
EM/ED	96,8	96,4	96,4	96,8	96,5	0,28

<sup>1</sup> Dados expressos na base da matéria seca.

<sup>2</sup> Não houve diferença Estatística pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ )

A adição de enzimas exógenas não teve influência significativa ( $P>0.05$ ) no balanço energético, na energia digestível (ED) nem na energia metabolizável (EM). Verificou-se entretanto

a tendência da digestibilidade da energia apresentar valores maiores nos tratamentos contendo protease em relação ao testemunha. Uma possível explicação para estes resultados seria a relação existente entre o consumo e a utilização da energia nos diferentes processos metabólicos e fisiológicos normais dos animais.

#### 4.2.2. Balanço de nitrogênio (BN)

Os resultados de nitrogênio ingerido (NI), nitrogênio excretado nas fezes (NEF), nitrogênio excretado na urina (NEU), nitrogênio absorvido por dia (NABS), retenção de nitrogênio (RN) e Coeficiente de digestibilidade da proteína bruta (CDPB), encontram-se na tabela 5.

TABELA 5. Nitrogênio Ingerido (NI), Nitrogênio Excretado nas Fezes (NEF), Nitrogênio Absorvido (NABS) Coeficiente de Digestibilidade da Proteína Bruta (CDPB), Nitrogênio Excretado na Urina (NEU), Retenção de Nitrogênio (RN). de leitões em fase de recria alimentados com rações contendo suplementação de enzimas. Experimento II.

Variável	SUPLEMENTAÇÃO ENZIMÁTICA					C. V. (%)
	Testemunh a	Amilase	Lipase	Protease	Complexo Enzimático	
NI (g/dia)	36,00 a	34,94 a	36,47 a	38,57 a	34,77 a	5,49
NEF (g/dia)	5,00 a	4,70 a	4,53 a	3,52 b	4,36 ab	9,33
NABS (g/dia)	31,00 a	30,24 a	31,94 a	34,01 a	34,40 a	6,53
CDPB (%)	86,09 c	86,31 b	87,58 a	88,40 a	87,44 ab	0,76
NEU (g/dia)	2,35 a	2,48 a	2,57 a	2,20 a	2,37 a	23,97
RN (g/dia)	28,65 a	27,76 a	29,37 a	31,88 a	28,05 a	1,30

<sup>1</sup> Médias seguidas com distintas letras na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05)

O Coeficiente de digestibilidade da proteína bruta, o nitrogênio excretado pelas fezes foram influenciados (P<0.05) pelas enzimas exógenas adicionadas às rações, sendo que o

tratamento contendo protease propiciou maior coeficiente de digestibilidade da proteína bruta da ração e o tratamento testemunha foi o que apresentou os menores valores. Os resultados referentes a retenção de nitrogênio não foram influenciados ( $P>0.05$ ) pela adição de enzimas exógenas na dieta.

O efeito da adição de enzimas sobre a digestibilidade da proteína bruta comparado com os valores obtidos no experimento de desempenho na variável consumo de ração médio diário, coincidem com os resultados encontrados por Officer (1995) que determinou que a adição de  $\beta$ -glucanase, hemi-celulase, pentosanase, amilase, proteinase e lipase na ração não afetaram o consumo voluntário de ração, o ganho de peso nem a conversão alimentar de leitões, durante as 5 semanas seguintes à desmama.

O efeito da adição de enzimas sobre o coeficiente digestibilidade da proteína bruta justifica os resultados obtidos no desempenho relativos a variável Conversão alimentar no tratamento contendo protease o qual indica a melhoria na utilização da proteína na fase na qual o leitão tem requerimentos relativos altos deste nutriente para o crescimento, formação de tecido e ganho de peso. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Shields, et. al., (1980) com suínos de 1-10 semanas de idade., além disto, uma outra possível explicação do efeito das enzimas exógenas sobre a digestibilidade da proteína bruta e a retenção de nitrogênio, é que parte da eficiência obtida é devido à diminuição na produção e perdas de enzimas endógenas.

### **4.3. Experimento III. Atividade Enzimática**

Os resultados de atividade enzimática obtidos expressos em  $\mu$ micromoles de substrato hidrolisado/minuto (Unidades,U/g) de quimo liofilizado das enzimas digestivas amilase, lipase, e

tripsina de leitões de diferentes pesos e alimentados com ração contendo ou não adição de enzimas exógenas são apresentados na tabela 6.

TABELA 6. Atividade enzimática da amilase, lipase e tripsina de leitões em recria alimentados com rações contendo suplementação de enzimas. Experimento III.

Variável <sup>1</sup>	SUPLEMENTAÇÃO ENZIMÁTICA					C.V.
	Testemunha	Amilase	Lipase	Protease	Complexo Complexo	
Amilase	259,9	265,4	250,8	339,2	332,3	18,5
Lipase	68,6	75,6	85,0	79,6	74,9	34,6
Tripsina	62,9	69,5	58,6	56,4	60,8	22,6

<sup>1</sup> Não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) pelo teste de Tukey.

A adição de enzimas exógenas às rações não influenciou significativamente ( $P.0,05$ ) a atividade da amilase, da lipase e da tripsina do quimo dos leitões. Estes resultados diferem com os citados por Graham (1996), que observou influência positiva da adição de enzimas exógenas sobre os níveis de atividade das enzimas pancreáticas tripsina, quimotripsina e amilase, medidas na digesta, porém o autor não constatou diferenças significativas no nível de lipase pela ação das enzimas adicionadas. De acordo com o autor o resultado da pouca eficiência das enzimas endógenas é que as mesmas aumentam a eficiência da utilização pelo animal das proteínas para o crescimento dos leitões e não na produção de enzimas pelos mesmos.

Os resultados do efeito do peso (10, 20 e 30 kg) do leitão sobre a atividade enzimática são apresentados na Tabela 7. O peso dos leitões influenciou significativamente ( $P<0.05$ ) apenas a atividade das enzimas digestivas amilase, e tripsina. O efeito é explicado pelo fato de que à medida em que o leitão cresce, ocorre um aumento do volume e peso do pâncreas, com o conseqüente aumento do consumo de ração, o que propicia uma maior liberação das enzimas pancreáticas

Estes resultados concordam com Shields, et al., (1980), que determinou que a idade e o método de alimentação aumentam a atividade da amilase e das proteases pancreáticas entre a sexta e a décima semana de idade, período que coincide com o maior consumo de ração e de mais rápido índice de crescimento dos leitões. A atividade triptica crescente por efeito do peso vivo nos animais no quimo, é semelhante aos valores encontrados por Soares (1995), em leitões de diferentes idades e alimentados com dosi tipos de ração.

TABELA 7. Atividade da amilase, lipase e tripsina de leitões de diferentes pesos, alimentados com rações contendo suplementação de enzimas. Experimento III<sup>1</sup>

Peso Kg	ATIVIDADE ENZIMÁTICA		
	Amilase	Lipase	Tripsina
10	206,1 C	80,3 a	54,9 b
20	288,2 B	65,6 a	56,5 b
30	373,9 A	84,4 a	73,6 a

<sup>1</sup> Dados expressos em U (Unidades)/g de quimo liofilizado

<sup>2</sup> Médias seguidas de distintas letras na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,01 maiúsculas; P<0,05 minúsculas)

Os resultados de atividade enzimática são semelhantes aos obtidos por outros autores que determinaram que o peso, a idade e o tipo e quantidade de ração consumida aumentam a atividade das enzimas pancreáticas na digesta (Shields, et. al., 1980; Lindenman et. al., 1986; Tardin, 1985; Chesson, 1993; Makkink et. al., 1994, Soares, 1995) e diferem entretanto aos obtidos por Souffrant (1993) que não encontrou diferenças na atividade enzimática em suínos alimentados com diferentes tipos de dietas, durante a sexta e a décima semana de vida, período este que coincide com o maior consumo alimentar e mas rápido índice de crescimento desses animais.

## 5. CONCLUSÕES

A utilização das enzimas exógenas, amilase bacteriana, lipase e protease fúngica na ração aumentam a digestibilidade dos nutrientes durante a fase de desenvolvimento dos leitões (10-30 kg de peso vivo), principalmente da proteína, melhorando a conversão alimentar dos leitões.

O nível de atividade das enzimas digestivas naturais é aumentado na medida em que o animal cresce.

A suplementação de amilase, lipase e protease exógenas na ração para leitões em recria não afeta a atividade enzimática natural dos leitões (10-30 kg)

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACAMOVIC, T., McCLEARY, B.V. Optimizing The Response. **Feed Mix**, Illinois, v.4, n.4, p.14-17, 1996
- ALFENAS, A.C., INGRID, P. BRUNE, W. PASSADOR, G.C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungo e essências florestais**, Viçosa: UFV, 1991. 241p
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. **Official methods of analysis**. ed. 15 th. Arlinton, 1990. 1078 p.
- CAMPBELL, G and BEDFORD, M.R., Enzyme applications for monogastric feed. A eview. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.72, n.3, p.449-466, Set, 1992.
- CANTOR, A. Enzimas usadas na Europa, Estados Unidos e Ásia. Possibilidades para uso no Brasil. In: RONDA LATINOAMERICANA DE BIOTECNOLOGIA 5, Curitiba, 1995. **Anais...**Curitiba: Alltech, 1995. p.31-42.
- CASTRO NETO, P.; SEIYAMA, G. C.; VILELA, E. A. de. Probabilidade de ocorrência de períodos secos em Lavras, Minas Gerais. **Ciência e prática**, Lavras, v.4, n.1, p.55-65, jan/jun. 1980.
- CERA, K. R., MAHAN, D.C., e REINHART, G.A. Weekly digestibilities of diets supplemented with corn oil, lard or tallow by weanling swine. **Journal of Animal Science**.Champaign, v.66, n.6 p.1430-1437. Jun, 1988.
- CHESSON, A. Supplementary enzymes to improve the utilization of pig and poultry diets. In: **HARESING, W.; COLE, P.J.A. (eds)). Recent advance in animal nutrition**, London: Butterworths, 1987, p.71-89.
- CHESSON, A. Feed enzymes. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.45, n.1, p.65-79, Jan, 1993.
- CLASSEN, H. L. Enzimas usadas en el alimento. **Avicultura Profesional**, Bogotá, v.10, n.3, p.162-168, 1993.

- CLASSEN, H. L. Cereal grain starch and exogenous enzymes in poultry diets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.62, n.1, p.21-27, Oct. 1996.
- COLLIER, B.; HARDY, B. The use of enzymes in pig and poultry feeds. part 2. Results of animal trials. **Feed compouder**, London, v.6, n.2, p. 28-30, 1986.
- CORRING, T.; AUMAITRE, A. e DURAND, G., Development of digestive enzymes in the piglet from birth to 8 weeks. I. Pancreas and pancreatic enzymes. **Nutrition and Metabolism**, New York, v.22, n.1, p.231-243. 1978
- COSTA, V., LOPES, J., NICOLAIEWSKY, S. Efeito da suplementação enzimática em rações para suínos em crescimento e terminação. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.8, n.3, p.459-472. 1979
- COWAN, D. Enzimas en alimentos para pollos de engorde. Bogotá, **Avicultura Profesional**, v.7, n.3, p.107-112, marz, 1990
- EASTER, R. A. Acidification of diets for pigs. In: **HARESING, W.; COLE, P.J.A. (eds)). Recent advance in animal nutrition**, London: Butterworths, 1988, p.61-71.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves. **Tabela de composição química e valores energéticos de alimentos para suínos e aves**. 3. Ed. Concórdia, 1991. 97p. (EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 19)
- ERLANGER, B.F., KOKOWSK, N., and COHEN, W., The preparation and properties of two new chromogenic substrates. **Archives Biochemistry and Biophys**, New York, v.95, p.271-280. 1961
- FIALHO, E.T.; ROSTAGNO, H.S.; FONSECA, J.B.; SILVA, M.A Efeito do peso sobre o balanço energético e protéico de rações a base de milho e sorgos com diferentes conteúdos de tanino para suínos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.8, n.3, p.386-397, 1979.
- GRAHAM, H. Mode de action of feed enzymes in diets based on low viscous and viscous grains. In: **SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE NUTRIÇÃO DE SUÍNOS E AVES**, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 1996. p.60-69.
- HARPER, H., RODWELL, V., e MAYES, P. **Digestão e absorção no trato gastrointestinal**. In: **Bioquímica**. ATHENEU (ed.). 1994. p.254-272.
- INBORR, J. and OGLE, R. B. Effect of enzyme treatment of piglets feed on performance and post-weaning diarrhoea. **Swedis Journal of Agricultural Research**, Estocolmo, v.18, n.2, p.129-133. 1988.

- JONGBLOED, A. W.; MROZ, Z. and KEMME, P. A. The effect of supplementary aspergillus niger phytase in diet for pigs or concentration and apparent digestibility of dry niger phytase in diets pigs or concentration and apparent digestibility of dry matter, total phosphorus, and phytic acid in different sections of the alimentary tract. **Journal of animal Science**, Champaign, v.70, n.4, p.1159-1168. Apr, 1992
- LEI, X. G.; KU, P. K.; MILLER, M. T.; YOKOYAMA, M. T. e ULLREY, D. E. Calcium level affects the efficacy of supplemental microbial phytase in corn-soybean meal of weanling pigs. **Journal of Animal Science**. Champaign, v.72, n.1, p.139-143. Jan, 1994
- LINDEMANN, M. D., CORNELIUS, S. G., EL KANDELGY, S. M., MOSER, R. L. e PETTIGREW, J. E. Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme level in the piglet. **Journal of Animal Science** Champaign, v.62, n.5, p.1298-1307. May, 1986.
- MAKKINK, C.A.; BERNTSEN, P.J.M., KAMP, B.M.L. and VERSTEGEN, W.R. Gastric protein breakdown and pancreatic enzyme activities in response to two different dietary protein sources in newly weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, n.11, p.2843-2850, Nov, 1994
- MORGAN, A. e COWAN, D., Beyond the horizon the future for enzymes. **Feed Mix**, Illinois, v.4, n.4, p.23, 1996.
- MROZ, Z.; JONGBLOED, A. W. and KEMME, P.A. Apparent digestibility and retention of nutrients bound to phytate complexes as influenced by microbial phytase and feeding regime in pigs. **Journal of Animal Science**. Champaign, v.72, n.1, p.126-132, Jan, 1994.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. COMMITTEE. Committee on Animal Production. Subcommittee on Swine Nutrition. **Nutrient Requirement of swine**. 19 ed. Washington, 1988
- NOELTING, G. e BERNFELD, P. Sur les enzymes amylolytiques. III la  $\beta$ -Amylase: dosage d'activité et controle de l'absence d' $\alpha$ -amylase. **Helvetica Chemica Acta**. v.31, n.2, p.286-96. 1948
- OFFICER, D. I. Effect of multi-enzyme supplements on the growth performance of piglets during the pre and post-weaning periods. **Animal Feed Science and Technology**. Amsterdam, v.56, p.55-65. 1995
- OWSLEY, W. F., ORR, D.E., and TRIBBLE, L. F. Effect of age and diet on the development of the pancreas and the synthesis and secretion of pancreatic enzymes in the young pig. **Journal of Animal Science**. Champaign, v.63, n.2, p.497-504. Aug, 1986.
- PEKAS, J. C. Versatile swine laboratory apparatus for physiologic and metabolic studies. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.27, n.5, p.1303-1306, May, 1968.
- PARTRIDGE, G. R. In feed enzymes and antibodies. In: Recent advance in animal nutrition, **Anais...Wincham**, Northwich , p.34-50. 1993.

- POINTILLAR, A. Enhancement of phosphorus utilization in growing pigs fed phytate-rich diets by using rye bran. **Journal of Animal Science**. Champaign, v.69, n.3, p.1109-1115, March, 1991
- SERRANO, V. S.; TAFURI, M.L.; ROSTAGNO, H.S.; LEAO, M.I.; SANT'ANNA, R. Digestibilidade da proteína bruta e dos aminoácidos de suplementos protéicos em suínos, submetidos ou não a anastomose íleo-retal. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.19, n.6, p.476-488.1990
- SHIELDS, R. G.; EKSTROM, K.E.; MAHAM, D. C. Effect of weaning age and feeding method on digestive enzyme development in swine from birth to ten week. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.50, n.2, p.257-265, Feb, 1980.
- SOARES, J. M., **Perfil enzimático de tripsina e quimotripsina do pâncreas e do quimo de leitões do nascimento aos 35 dias de idade**. Viçosa: UFV, 1995. 43p. (Tese de mestrado em agroquímica)
- SOUFFRANT, W. B., SAUER, W. C., MOSENTHIN, R. and LANGE, C. F. M. Effect of feeding different diets on the exocrine pancreatic secretion of nitrogen, amino acids and enzymes in growing pigs. **Journal Science Food Agriculture**. Oxford, v.62, n.3, p.229-234. 1993
- SOTO, M.F. The use of enzymes to improve the nutritional value of corn-soy diets for poultry and swine. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE NUTRIÇÃO DE SUÍNOS E AVES, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 1996. p.1-13.
- STRYER, L. Controle da atividade enzimática. In : **Bioquímica**, 3. Ed. Rio de Janeiro : Guanabara, p.191-203. 1988.
- TARDIN, A. C. Fisiologia digestiva e nutrição no desmame precoce de leitões. In: CONGRESSO DE ABRAVES 5, Rio de Janeiro, 1985, **Anais...** Rio de Janeiro: ABRAVES, 1985. p.33-57.
- VAN KAAK, M. J., RIETVELD, E. C., and MAKKINK, C. A. Determination of tripsin and chimotripsin activity in pancreatic juice, tissue and chyme : the effect of freeze drying and storage. **Anais...** International symposium on digestive phisiology in pigs 5. Wageningen, Netherlands. p. 356-360. 1991.
- YOUNG, L.G. ; LEUNISSEN, M.; ATKISON, J. L. Addition of microbial phytase to diets of young pigs. **Journal of Animal Science** Champaign, v.71, n.8, p.2147-2150. Aug, 1993.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A. A.; SILVEIRA JUNIOR, P. **Sistema de Análise estatística para microcomputadores (SANEST)**. Pelotas : UFPEL, Departamento de Matemática e estatística, 1984. 151p.

## APÉNDICE

**Tabela 1A** - Quadrados Médios e níveis de significância de Consumo de Ração Médio Diário (CRMD), Ganho de Peso Médio Diário (GPMD) e Conversão Alimentar (CA).  
Experimento I

Causas de Variação	GL	CRMD		GPMD		CA	
		QM	Sigmif.	QM	Signifi	QM	Signif
Tratamento.	4	7480.287	0.5148	0.002947	0.24786	0.04717	0.0219
Bloco	7	31754.68	0.0055	0.007271	0.00770	0.11185	0.0000
Residuo	28	8414.8015				0.01393	

**Tabela 2A** - Quadrados Médios e níveis de significância de Balanço Energético (BE), Energia Digestível (ED) e Energia Metabolizável (EM). Experimento II.

Causas de Variação	GL	BE		ED		EM	
		QM	Sigmif.	QM	Signifi	QM	Signif
Tratamento.	4	316052.5	0.14155	3909.7	0.1313	3877.2	0.2007
Bloco	1	397056.2	0.12766	224.4	0.7312	84.0	0.8435
Residuo	14	154020.0		1840.5		2252.5	

**Tabela 3A** - Quadrados Médios e níveis de significância de Retenção de Nitrogênio, Digestibilidade de Matéria Seca (DMS) e Coeficiente de Digestibilidade da Proteína Bruta (CDPB). Experimento II

Causas de Variação	GL	RN		MSD		CDPB	
		QM	Signif.	QM	Signif	QM	Signif
Tratamento.	4	10.89778	0.195	2.57285	0.067	3.28108	0.002
Bloco	1	2.28465	0.560	1.73595	0.188	0.80670	0.201
Residuo	14	6.24410		0.92089		0.45344	

**Tabela 4A** - Quadrados Médios e níveis de significância da Atividade de amilase, lipase e Tripsina. Experimento III.

Causas de Variação	GL	AMILASE		LIPASE		TRIPSINA	
		QM	Signif.	QM	Signif	QM	Signif
Tratamento.	4	10890.427	0.0159	222.487	0.8644	149.2073	0.5567
Bloco	2	70381.287	0.0000	974.184	0.2701	1070.5033	0.0108
Residuo	23	2854.145		704.088		193.3937	