



**MATEUS FERREIRA GONÇALVES**

**DIGESTIBILIDADE PROTEICA DE FARELOS DE SOJA  
EM RAÇÕES PARA SUÍNOS COM OU SEM ADIÇÃO DE  
PROTEASE**

**LAVRAS – MG**

**2024**

**MATEUS FERREIRA GONÇALVES**

**DIGESTIBILIDADE PROTEICA DE FARELOS DE SOJA EM RAÇÕES PARA  
SUÍNOS COM OU SEM ADIÇÃO DE PROTEASE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Não Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

**Orientadora:** Profa. Dra. Luciana de Paula Naves

**Coorientador:** Prof. Dr. Bruno Alexander Nunes Silva

**LAVRAS – MG**

**2024**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Gonçalves, Mateus Ferreira.

Digestibilidade proteica de farelos de soja em rações para  
suínos com ou sem adição de protease / Mateus Ferreira Gonçalves.  
- 2024.

41 p.

Orientador(a): Luciana De Paula Naves.

Coorientador(a): Bruno Alexander Nunes Silva.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. Digestibilidade. 2. Aminoácidos. 3. Farelo de soja. I. Naves,  
Luciana De Paula. II. Silva, Bruno Alexander Nunes. III. Título.

**MATEUS FERREIRA GONÇALVES**

**DIGESTIBILIDADE PROTEICA DE FARELOS DE SOJA EM RAÇÕES PARA  
SUÍNOS COM OU SEM ADIÇÃO DE PROTEASE**

**PROTEIN DIGESTIBILITY OF SOYBEAN MEAL IN FEED FOR PIGS WITH  
OR WITHOUT ADDITION OF PROTEASE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Não Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 28 de Maio de 2024.

Dra. Luciana de Paula Naves, UFLA

Dr. Bruno Alexander Nunes Silva, UFLA

Dra. Débora Cristine de Oliveira Carvalho, UNIVASF

Dra. Claudia Cassimira da Silva Martins, DSM

Profa. Dra. Luciana de Paula Naves

Orientadora

**LAVRAS – MG**

**2024**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me abençoar com saúde, paz e proporcionar a força e sabedoria necessárias para que eu pudesse percorrer o caminho que fiz até aqui. Agradeço também, por Ele colocar em minha vida pessoas que puderam contribuir para o meu crescimento e desenvolvimento.

Aos meus pais, Lúcia e Ubaldo, por nunca medirem esforços para me apoiar, pelo exemplo de amor e companheirismo. Sem vocês essa conquista não seria possível.

A minha irmã, Melissa, por todas as palavras de incentivo que tanto me ajudaram durante esse processo.

A minha família, por todo amor e apoio, obrigado por acreditar nos meus sonhos e sempre me incentivar a seguir em frente.

A Universidade Federal de Minas Gerais por me permitir a execução desse projeto tão importante para minha formação.

A Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, por toda contribuição durante o processo de mestrado.

A minha orientadora, Profa. Luciana de Paula Naves pela oportunidade, pelos ensinamentos e apoio que foram de fundamental importância para conclusão dessa etapa.

Ao meu coorientador, Prof. Bruno Alexander Nunes Silva, pela idealização do projeto, captação do recurso financeiro e utilização das instalações durante a execução do experimento. Agradeço também, pela confiança e por toda disponibilidade em me atender sempre que necessário.

Ao Núcleo de Estudos em Produção de Suínos (NEPSUI), por todo apoio e incentivo durante o período de graduação e pós-graduação, principalmente durante a execução do projeto.

A todos os meus colegas e amigos que fiz durante a graduação e pós-graduação, em especial agradeço ao Afonso, Flávio, Isabela, Larissa, Rodrigo, Stephane e Thainara por todo apoio, conversas e conselhos que foram cruciais para que eu chegasse até aqui.

Aos membros da banca de defesa, por terem aceitado o meu convite e pelas contribuições feitas.

A dsm-firmenich Animal Nutrition & Health pela parceria e confiança durante todo o projeto de pesquisa.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro.

Muito obrigado!

## RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da adição de uma protease em rações para suínos em duas fases de crescimento, dos 35 aos 65 kg de peso vivo na primeira fase e dos 75 aos 110 kg de peso vivo na segunda fase, contendo farelo de soja submetidos a dois tipos de processamento (FS 48% PB Tostado ou FS Hypro 48 PB micronizado), em relação a digestibilidade ileal aparente (DIA) e verdadeira (DIV) da proteína e dos aminoácidos, utilizando método de cânula “T” simples. Foram utilizados 6 suínos machos, castrados, de origem genética comercial em um delineamento de quadrado latino, com 6 tratamentos (T1: Dieta isenta de proteína (DIP); T2: Farelo de soja 48% PB tostado; T3: Farelo de soja Hypro 48% PB micronizado; T4: Dieta isenta de proteína (DIP) + Protease; T5: Farelo de soja 48% PB tostado + Protease; T6: Farelo de soja Hypro 48% PB micronizado + Protease), 6 períodos e 6 repetições por tratamento. O uso da enzima não atingiu efeito significativo na primeira fase, entretanto na segunda, melhorou a digestibilidade verdadeira da proteína bruta e dos aminoácidos Metionina + Cisteína, Triptofano, Ácido Aspártico, Prolina ( $P < 0,05$ ) e mostrou uma tendência a melhorar ( $P < 0,10$ ) para a maioria dos aminoácidos: Lisina; Treonina, Isoleucina, Glicina, Serina, Valina, Leucina, Histidina, Fenilalanina, Ácido Glutâmico e Tirosina. Pode-se concluir que a utilização da protease melhorou a digestibilidade da proteína bruta e aminoácidos para suínos em fase final de crescimento, o que pode contribuir para melhorar significativamente a eficiência de aproveitamento no farelo de soja submetido aos dois tipos de processamento testados.

**Palavras-Chave:** Digestibilidade ileal verdadeira; Enzima; Suplementação; Processamento; Fatores antinutricionais.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of adding a Protease in diets for pigs in two growth phases, from 35 to 65 kg of live weight in the first phase and from 75 to 110 kg of live weight in the second phase, containing different sources of soybean meal (SBM 48% toasted or SBM Hypro 48% micronized), on the apparent ileal digestibility (AID) and standardized ileal digestibility (SID) of protein and amino acids, using the “T” cannula method. Six castrated male pigs from a same commercial genetic origin were used in a Latin square design, with 6 treatments (T1: Protein-free diet (PFD); T2: Soybean meal 48% toasted CP; T3: Hypro soybean meal 48% micronized CP; T4: Protein-free diet (PFD) + Protease; T5: Toasted soybean meal 48% CP + Protease; T6: Hypro soybean meal 48% micronized CP + Protease), 6 periods and 6 repetitions per treatment. The use of the enzyme in the second phase improved the standardized digestibility of crude protein and the amino acids Methionine + Cysteine, Tryptophan, Aspartic Acid, Proline ( $P<0.05$ ) and tended to improve ( $P<0.10$ ) for most amino acids: Lysine; Threonine, Isoleucine, Glycine, Serine, Valine, Leucine, Histidine, Phenylalanine, Glutamic Acid and Tyrosine. In conclusion, the use of the protease improved the digestibility of crude protein and amino acids for pigs in the fattening phase, which can contribute to significantly improve the efficiency of using different sources of soybean meal.

**Keywords:** Standardized ileal digestibility; Enzyme; Supplementation; Processing; Antinutritional factors.

## **INDICADORES DE IMPACTO**

A utilização do farelo de soja nos sistemas de produção de suínos é primordial para que se obtenha uma proteína animal de maneira eficiente. Há então a necessidade de compreender melhor a composição deste farelo de soja e as tecnologias de processamento aplicadas a ele. Para se avaliar a eficiência de utilização de uma fonte proteica nas rações, é necessário avaliar a digestibilidade dos aminoácidos no trato gastrointestinal dos animais. A utilização de enzimas, como as proteases, pode melhorar essa digestibilidade, aumentando o aproveitamento dos nutrientes. Este tipo de abordagem impacta diretamente a economia do sistema, pois possibilita a obtenção de um produto de qualidade com menor custo, beneficiando toda a cadeia produtiva, desde o suinocultor, até o consumidor final. Em nosso estudo, a utilização de protease aumentou a digestibilidade da proteína bruta e da maioria dos aminoácidos presentes nos farelos de soja avaliados. Estes resultados podem fornecer informações valiosas para a indústria de produção de alimentos para animais, permitindo a criação de dietas mais eficientes e economicamente viáveis. Em suma, este estudo é um exemplo de como a pesquisa pode ter impacto direto na prática e contribuir para o desenvolvimento de soluções inovadoras na indústria.

## **IMPACT INDICATORS**

The use of soybean meal in swine production systems is essential to obtain animal protein efficiently. Therefore, there is a need to better understand the composition of this soybean meal and the processing technologies applied to it. To assess the efficiency of using a protein source in feed, it is necessary to evaluate the digestibility of amino acids in the animals' gastrointestinal tract. The use of enzymes, such as proteases, can improve this digestibility, increasing the use of nutrients. This type of approach directly impacts the system's economy, as it makes it possible to obtain a quality product at lower cost, benefiting the entire production chain, from the swine farmer to the end consumer. In our study, the use of protease increased the digestibility of crude protein and most of the amino acids present in the soybean meals evaluated. These results can provide valuable information for the animal feed production industry, allowing the creation of more efficient and economically viable diets. In short, this study is an example of how research can have a direct impact on practice and contribute to the development of innovative solutions in industry.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	10
2.1	Soja para a alimentação animal e fatores antinutricionais no farelo .....	10
2.2	Obtenção do farelo de soja e processamentos térmicos empregados .....	11
2.3	Indicadores de qualidade do farelo de soja .....	13
2.4	Utilização de proteases exógenas em dietas para suínos .....	14
3	JUSTIFICATIVAS.....	16
	REFERÊNCIAS .....	17
1	INTRODUÇÃO.....	24
2	MATERIAL E MÉTODOS .....	25
2.1	Comissão de ética no uso dos animais.....	25
2.2	Instalações e animais utilizados.....	25
2.3	Procedimentos cirúrgicos para implantação da cânula T.....	25
2.4	Delineamento experimental e dietas avaliadas.....	26
2.5	Coletas.....	28
2.6	Equações para determinação dos coeficientes de digestibilidade .....	28
2.7	Análises laboratoriais.....	29
2.8	Análises estatísticas .....	32
3	RESULTADOS .....	33
4	DISCUSSÃO.....	38
5	CONCLUSÃO .....	40
	REFERÊNCIAS.....	41

## 1 INTRODUÇÃO

O farelo de soja, por ser a principal fonte proteica para a alimentação animal, se tornou um dos ingredientes mais presentes nas formulações de dietas para suínos e aves. No entanto, o farelo de soja contém teores relativamente altos de fatores antinutricionais, como lectinas, glicinina,  $\beta$ -conglucina e inibidores de proteases que podem inativar enzimas necessárias para a adequada digestão das proteínas, prejudicando a saúde e desempenho dos animais (WANG *et al.*, 2014).

Para reduzir a quantidade de fatores antinutricionais no farelo de soja, vários processamentos térmicos podem ser empregados como o cozimento e a tostagem, que ajudam a reduzir especialmente a atividade dos inibidores de protease (BELLAVAR *et al.*, 1999). Outros métodos como a extrusão e micronização também são utilizados frequentemente pela indústria, com o intuito de promover maior qualidade da matéria prima (TOOMER *et al.*, 2023).

A diversidade nos tipos de processamentos reflete em variada qualidade do produto oferecido no mercado (GONZÁLEZ-VEGA *et al.*, 2011). Neste sentido, a suplementação de uma protease poderia melhorar a digestibilidade dos aminoácidos independente da qualidade do farelo de soja, resultando em dietas com maior qualidade e menor custo. A protease dietética é uma enzima exógena capaz de degradar proteínas, melhorando a digestibilidade destes nutrientes e o desempenho de suínos nas diferentes fases de desenvolvimento (PARK *et al.*, 2020).

Dessa forma a avaliação da eficiência da fonte proteica na dieta, quando combinada ao uso de uma enzima protease, envolve a análise da digestibilidade dos aminoácidos contidos na matéria-prima. Este processo considera tanto os fatores internos do animal, que afetam sua capacidade de digestão, quanto os fatores externos relacionados à composição e características nutricionais da ração fornecida. A determinação da digestibilidade dos aminoácidos é essencial para compreender como a fonte de proteína e a enzima protease interagem na absorção de nutrientes pelo animal (SAKOMURA & ROSTAGNO, 2016). Neste contexto, objetivou-se, avaliar a digestibilidade ileal verdadeira e aparente da proteína e dos aminoácidos nos dois tipos de processamento testado (tostagem e micronização) no farelo de soja com ou sem a adição de protease, durante as fases de crescimento e engorda de suínos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Soja para a alimentação animal e fatores antinutricionais no farelo

A soja é uma leguminosa importante em todo o mundo, cultivada principalmente para a extração de óleo (TOOMER *et al.*, 2023). Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2023), a produção mundial de soja na safra 2022/ 2023 foi superior a 369 milhões de toneladas, em uma área plantada de 136 milhões de hectares, demonstrando ser um produto de grande importância econômica a nível global.

Além da produção de óleo, a soja também é utilizada para originar uma variedade de produtos alimentícios, incluindo o farelo de soja. Apenas uma pequena porcentagem deste farelo produzido é destinada ao consumo humano direto, sendo a maior parte utilizada na alimentação de aves e suínos, seguido do destino para bovinos e outros animais de fazenda (IBÁÑEZ *et al.*, 2020). O farelo de soja é um subproduto obtido durante o processo de extração do óleo de soja, rico em aminoácidos altamente digestíveis, o que o torna uma interessante fonte proteica para alimentação animal (KIM *et al.*, 2016). Entretanto, apesar dos benefícios na utilização como fonte proteica na alimentação dos suínos, o farelo de soja contém fatores antinutricionais, que podem prejudicar a saúde e desempenho dos animais (RUIZ *et al.*, 2020). Dentre os fatores antinutricionais mais importantes presentes no farelo de soja, destacam-se:

- Fatores alergênicos, como glicinina e  $\beta$ -conglucina, que reduzem a absorção de nutrientes e causam efeitos deletérios às microvilosidades do intestino delgado (WU *et al.*, 2016);
- Fitatos, que podem se complexar com minerais como cálcio, ferro, zinco e magnésio, prejudicando sua biodisponibilidade e impedindo a absorção, causando assim deficiência destes minerais aos animais (AFINAH *et al.*, 2010);
- Lectinas, também chamadas de hemaglutininas, que podem combinar-se com células da parede intestinal, reduzindo a absorção de nutrientes (RUIZ *et al.*, 2020);
- Inibidores de proteases, considerados os mais importantes e abundantes fatores antinutricionais presentes no farelo de soja. Estes compostos inibem a atividade de enzimas cruciais para a digestão das proteínas, podendo assim prejudicar a absorção de aminoácidos (WANG *et al.*, 2011).

No contexto dos inibidores de proteases, há os inibidores de tripsina, um tipo de inibidor de serina protease, pertencentes à superfamília de proteínas chamadas serpinas. Eles são encontrados em muitos ingredientes alimentares, especialmente na soja e são capazes de inibir

a atividade da tripsina e da quimotripsina, que são enzimas proteolíticas secretadas pelo pâncreas (CHEN *et al.*, 2020). Existem dois tipos principais de inibidores de tripsina na soja: inibidores de Kunitz e inibidores de Bowman-Birk (IBB). A proporção desses inibidores varia de acordo com o tipo de soja e as condições de cultivo e processamento, mas geralmente a soja crua contém cerca de 80% de Kunitz e 20% de IBB (SHIVAKUMAR *et al.*, 2015). Os inibidores de Kunitz são compostos de alto peso molecular que se ligam irreversivelmente à tripsina e outras proteases, formando ligações estáveis que impedem a digestão das proteínas. Já os IBB são compostos de baixo peso molecular que podem se ligar reversivelmente à tripsina e outras proteases, sendo considerados menos potentes do que os inibidores de Kunitz (CHEN *et al.*, 2020).

A presença de inibidores de tripsina em produtos derivados da soja utilizados na alimentação animal é uma grande preocupação para a indústria, já que a soja é uma importante fonte de proteína para muitas espécies animais. Alguns autores já relataram que os coeficientes de digestibilidade são reduzidos em suínos a medida em que se aumenta a concentração de inibidores de tripsina em produtos derivados da soja (GOEBEL e STEIN, 2011; WEDEKIND *et al.*, 2020).

Para minimizar os efeitos negativos dos inibidores de tripsina na dieta animal, estratégias de processamento podem ser utilizadas, como tratamento térmico, hidrólise enzimática e fermentação (DE LIMA *et al.*, 2013). Além disso, a seleção de cultivares de soja com níveis baixos de inibidores de tripsina também pode ajudar a reduzir os efeitos negativos na digestibilidade da proteína (TOOMER *et al.*, 2023).

## **2.2 Obtenção do farelo de soja e processamentos térmicos empregados**

O processamento da soja é um procedimento industrial que envolve a geração de óleo de soja a partir da soja bruta, seguido pela remoção das cascas e outros resíduos sólidos para produzir o farelo de soja. O processo começa com a limpeza da soja, removendo impurezas e pedras. Após a limpeza, a soja é transportada para o processo de esmagamento, onde é realizada uma série de etapas para extrair o óleo e produzir o farelo. O primeiro passo é a quebra da soja através de rolos quebradores. Em seguida, a soja quebrada é separada da casca, que então é moída e tostada, para posterior reincorporação ao farelo, dependendo do tipo de subproduto a ser comercializado (BELLAVAR *et al.*, 1999).

A soja sem casca segue para o condicionador e em seguida para a laminação. Na laminação, os grãos partidos passam por rolos e seguem para a expansão, que consiste em submeter o material a um vapor para que se torne esponjoso (TOOMER *et al.*, 2023). Após a

expansão, o material segue para o resfriador e, em seguida, para o extrator de óleo, onde o óleo bruto de soja é obtido pelo uso de solventes. O óleo bruto é então refinado para produzir o óleo de soja comestível. O farelo de soja, por sua vez, é prensado para remover o excesso de óleo e produzir finalmente o farelo de soja desengordurado, utilizado em sua maior parte na produção de ração animal (RUIZ *et al.*, 2020).

O farelo de soja para ser utilizado na alimentação animal necessita-se passar por processamentos para reduzir e/ou inativar os fatores antinutricionais. Considerando que alguns fatores antinutricionais presente na soja crua são termolábeis, usa-se o tratamento térmico. Existem vários métodos de processamento térmico, incluindo descamação, cozimento e tostagem, que resultam em diferentes perfis de nutrientes para os produtos finais, devido a diferenças nas temperaturas de processamento (TOOMER *et al.*, 2023).

O método mais simples de processamento de oleaginosas é o cozimento, no qual a soja crua é totalmente imersa em água e cozida por um período de 30 a 120 minutos, posteriormente seca mecanicamente ou ao ar. Alternativamente, a soja crua pode ser processada via torrefação em temperaturas que variam de 100 a 210 °C (TOOMER *et al.*, 2023). Outro método de processamento hidrotérmico é a descamação (*flaking*), que envolve uma injeção de vapor de baixa pressão em um condicionador para cozinhar a soja. Durante esse processo, o óleo é facilmente liberado pela prensagem dos grãos entre dois rolos, que transformam a soja em flocos. Esse processo ajuda a melhorar a digestibilidade da proteína da soja e aumentar a disponibilidade de nutrientes para os animais (MOURE *et al.*, 2006).

Existem ainda métodos de processamento adicionais, como extrusão e micronização, que são utilizados para melhorar a digestibilidade e disponibilidade dos nutrientes, agregando valor ao produto final. A micronização é um processo de cozimento que utiliza raios infravermelhos para cozinhar cereais de maneira geral em temperaturas que variam de 180 a 220 °C (TOOMER *et al.*, 2023). No caso da soja, o grão passa por uma esteira vibratória sob queimadores de gás que ejetam raios infravermelhos. Durante a passagem pela esteira, os raios infravermelhos penetram no grão, movimentando e aquecendo-o, provocando inchaço e fissuras internas. Em seguida, o grão passa por um cilindro que lâmina e resfria o produto em um tanque com agitador. O produto final é moído e para que seja utilizado em rações. Esse processo melhora a digestibilidade da soja e aumenta a energia disponível para o animal que a consome. No entanto, os efeitos podem variar dependendo do processo de micronização, condições de armazenamento e uso posterior (DOURADO *et al.*, 2011). Além disso, é importante avaliar o custo-benefício da micronização em relação a outros métodos de processamento, considerando o impacto econômico no sistema (TOOMER *et al.*, 2023).

O farelo de soja, quando processado adequadamente apresenta um perfil de aminoácidos bastante equilibrado, com boa digestibilidade e palatabilidade (BELLAYER *et al.*, 1999). O teor de proteína bruta pode variar em função da fonte e dos métodos de processamento, mas geralmente se encontra entre 42% e 50% (DOURADO *et al.*, 2011). Contudo, o tratamento térmico utilizado pode afetar a disponibilidade de alguns aminoácidos, o superaquecimento do farelo de soja pode resultar na reação de Maillard, que é uma reação química entre açúcares e aminoácidos que ocorre em altas temperaturas e pode levar à indisponibilidade especialmente da lisina, primeiro aminoácido limitante para suínos (HOFMANN *et al.*, 2020). Por outro lado, um sub aquecimento também afeta a qualidade do produto, pois não inativa de forma eficiente os fatores antinutricionais presentes na soja (BELLAYER *et al.*, 1999).

### **2.3 Indicadores de qualidade do farelo de soja**

Os inibidores de tripsina são fatores antinutricionais presente na soja que necessitam ser mensurados para que o farelo de soja possa ser realizado de forma eficiente na formulação de rações para suínos. A mensuração do teor de inibidores de tripsina presentes no farelo de soja é imprescindível para poder realizar de forma eficiente a formulação de rações para suínos e garantir que os animais estejam recebendo as quantidades adequadas de aminoácidos via dieta (CHEN *et al.*, 2020). Ensaio enzimáticos com tripsina purificada e substratos de renderização de cor, como benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (DL-BAPNA) ou benzoil-L-arginina-p-nitroanilida (L-BAPNA), são utilizados para determinar a quantidade de inibidores de tripsina presente no farelo de soja. Esses ensaios são baseados na capacidade da tripsina de quebrar ligações peptídicas específicas, dando origem a um produto colorido que pode ser quantificado espectrofotometricamente (HAMERSTRAND *et al.*, 1981). Porém, os métodos de avaliação são caros e complexos, além disso, é comum haver variações nos resultados de teor de inibidores de tripsina em produtos de soja (SUEIRO *et al.*, 2015). Isso acontece devido a pequenas modificações no procedimento como tamanho de partículas, homogeneidade das amostras, fonte e pureza da tripsina, método de extração, entre outros (LIU, 2019).

A urease é uma enzima presente na soja que catalisa a hidrólise da ureia em dióxido de carbono e amônia, resultando em um aumento do pH da solução devido à liberação de amônia (SAVAGE *et al.*, 1995). Os inibidores de tripsina e a urease não possuem relação bioquímica ou funcional entre si, porém ambos são termolábeis e parcialmente inativados pelo tratamento térmico durante o processamento da soja (RUIZ, 2012). Diferente da quantificação de inibidores de tripsina, a determinação da atividade da urease pode ser feita rapidamente, de maneira quantitativa ou qualitativa, por esse motivo a atividade de urease é comumente

utilizada para mensurar a concentração de inibidores de tripsina presentes no farelo de soja (CHEN *et al.*, 2020). Normalmente, a atividade dos inibidores de tripsina na soja não processada varia entre 20,0 e 35,0 mg g<sup>-1</sup>, enquanto no produto já processado essa atividade reduz abaixo de 4,0 mg g<sup>-1</sup> (TOOMER *et al.*, 2023).

O teste de solubilidade da proteína em KOH, é outro indicador de qualidade do farelo de soja, utilizado com maior eficiência para indicar o processamento feito em excesso (BATAL *et al.*, 2003). É baseado na solubilidade das proteínas da soja em uma solução de hidróxido de potássio. O procedimento envolve a incubação de uma amostra com uma solução de KOH a 0,2% por 20 minutos à temperatura ambiente. Após esta incubação, a amostra é centrifugada e o sobrenadante é analisado quanto à concentração de proteína. A solubilidade da proteína, expressa em porcentagem, é calculada dividindo-se o teor de proteína da solução extraída de KOH pelo teor de proteína da amostra original de soja (CAPRIÇA *et al.*, 2010). Segundo Butolo (2010), o farelo de soja adequadamente processado apresenta solubilidade em torno de 80%, já o produto superprocessado, apresenta solubilidade próxima aos 90%.

#### **2.4 Utilização de proteases exógenas em dietas para suínos**

A suplementação de dietas para suínos com enzimas exógenas tem sido uma estratégia cada vez mais utilizada na indústria para melhorar a digestibilidade dos nutrientes e a eficiência alimentar dos animais em crescimento e terminação (KIARIE *et al.*, 2013). Com o aumento no custo de alimentação para o sistema de produção nos últimos anos, estratégias para melhorar a eficiência na nutrição dos suínos são amplamente estudadas com o intuito de aumentar a sustentabilidade ambiental e econômica (CLARK e TILMAN, 2017).

As enzimas exógenas são altamente específicas aos substratos, o que significa que elas reconhecem e ajudam a degradar ligações químicas específicas presentes nos componentes das rações que geralmente não são hidrolisadas por enzimas endógenas e os convertem em produtos que podem ser aproveitados pelos animais (OJHA *et al.*, 2019). A fitase é a enzima mais utilizada na indústria de produção de suínos e aves, representando 60% do mercado de enzimas alimentares para monogástricos, seguida por amilases que representam cerca de 30% e por fim as proteases e lipases, representando em torno de 10% (COWIESON e ROOS, 2016).

As proteases exógenas podem ser de natureza ácida, atuando em ambientes como o estômago, quebrando proteínas em peptídeos menores ou podem ainda ser alcalinas, atuando no intestino delgado, melhorando a eficiência de digestão de proteínas mais complexas, como aquelas presentes em alimentos de origem vegetal (ROOKE *et al.*, 1998). Existem ainda proteases específicas, estas são projetadas para quebrar proteínas específicas, como as proteínas

de soja, promovendo assim a melhora da digestibilidade desses alimentos (THORPE *et al.*, 2001).

Em sua maioria, as proteases exógenas são de origem microbiana e são adicionadas à dieta dos suínos como suplementos para melhorar a digestibilidade dos nutrientes presentes nos alimentos, facilitando a hidrólise de proteínas que resistem a ação de enzimas endógenas (TORRES-PITARCH *et al.*, 2019). Neste sentido, as proteases exógenas complementam o mecanismo das proteases endógenas no processo digestivo, sendo que cada tipo de enzima proteolítica tem uma especificidade para certos tipos de ligações peptídicas e aminoácidos (MURUGESAN *et al.*, 2014). Por exemplo, as proteases endógenas, como a tripsina, são altamente específicas para ligações peptídicas que envolvem aminoácidos básicos, como a lisina (Lys) e a arginina (Arg). Por outro lado, as proteases exógenas, como as subtilisinas, têm afinidade por grandes aminoácidos hidrofóbicos, como a fenilalanina (Phe) e a tirosina (Tyr) (PERONA e CRAIK, 1995). Portanto, a atuação conjunta tem o potencial de aumentar a eficiência na taxa de hidrólise e digestibilidade dos aminoácidos (LIU *et al.*, 2013).

Um estudo recente avaliou o efeito da suplementação de protease dietética, na digestibilidade de aminoácidos de farelos de soja superprocessados (SALAZAR-VILLANEA *et al.*, 2022). Os pesquisadores relataram melhora na digestibilidade aparente de tirosina (Tyr) e fenilalanina (Phe), contudo, a suplementação por protease exógena não mitigou todos os efeitos negativos do processamento hidrotérmico do farelo de soja, visto que o aumento no tempo de processamento diminuiu a digestibilidade aparente de todos os aminoácidos, demonstrando a necessidade de estudos mais detalhados nesse sentido.

A digestibilidade inerente dos aminoácidos da dieta (a que contempla apenas a ação de enzimas endógenas, sem a participação de enzimas exógenas suplementares) é fator chave para entender os prováveis efeitos das enzimas adicionadas à ração (COWIESON e BEDFORD, 2009). A digestibilidade inerente refere-se à quantidade de nutrientes que podem ser naturalmente digeridos e absorvidos pelo organismo sem qualquer intervenção enzimática adicional (suplementar). Por exemplo, é bem estabelecido que a digestibilidade ileal aparente da metionina (Met) é relativamente alta (90-95%; RAVINDRAN *et al.*, 2005; COWIESON *et al.*, 2010), enquanto a digestibilidade ileal aparente de aminoácidos como treonina (Thr) e cisteína (Cys) são mais baixas (75-80%; RAVINDRAN *et al.*, 2005; COWIESON *et al.*, 2010). Dessa forma, ao considerar a suplementação de protease, é esperado um maior efeito para a digestibilidade de aminoácidos como cisteína (Cys), treonina (Thr), serina (Ser), glicina (Gly), prolina (Pro) e aspartato (Asp), em comparação a outros aminoácidos como metionina (Met), glutamato (Glu), arginina (Arg) ou até mesmo a lisina (Lys) (COWIESON e ROOS, 2013).

Atualmente, a protease dietética tem sido amplamente utilizada em dietas para suínos, como parte de compostos multi-enzimáticos, demonstrando benefícios como melhora da digestão proteica e desempenho de suínos desmamados, em crescimento e terminação (ZUO *et al.*, 2015, MIN *et al.*, 2019). Outros estudos, utilizando protease dietética como monocomponente, também relatam melhorias na eficiência de digestão de proteínas complexadas a fatores antinutricionais, influenciando positivamente no desempenho e saúde intestinal de leitões (KIM *et al.*, 2017, ADEOLA *et al.*, 2011).

### **3 JUSTIFICATIVAS**

Considerando a presença de fatores antinutricionais, especialmente os inibidores de tripsina nos farelos de soja e a grande variabilidade na qualidade dos produtos encontrados no mercado, devido aos diferentes tipos de processamento empregados. Além do conhecimento que a protease exógena é uma enzima que pode contribuir para melhorar a digestibilidade dos nutrientes presentes nos alimentos, facilitando a hidrólise de proteínas que resistem a ação de enzimas endógenas complementando assim o mecanismo de ação das proteases endógenas, objetivou-se avaliar a digestibilidade ileal verdadeira e aparente da proteína e dos aminoácidos do farelo de soja submetido a dois tipos de processamento, com ou sem a adição de protease, durante as fases de crescimento de suínos.

## REFERÊNCIAS

ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of animal science**, v. 89, n. 10, p. 3189-3218, 2011.

AFINAH, S. *et al.* Phytase: application in food industry. **International Food Research Journal**, v. 17, n. 1, p. 13-21, 2010

BATAL, A. B.; PARSONS, C. M. Utilization of different soy products as affected by age in chicks. **Poultry Science**, v. 82, n. 3, p. 454-462, 2003.

BELLAVER, C.; SNIZEK JR, P. Processamento da soja e suas implicações na alimentação de suínos e aves. In: **Congresso Brasileiro de Soja**. Londrina-PR: EMBRAPA, 1999.

BUTOLO, J. E. Qualidade de Ingredientes na Alimentação Animal. **Campinas, Sao Paulo: CBNA**, 2010.

CĂPRIȚĂ, R. Protein solubility as quality index for processed soybean. **Animal Science and Biotechnologies**, v. 43, n. 1, p. 375-378, 2010.

CHEN, J. *et al.* Trypsin inhibitor and urease activity of soybean meal products from different countries and impact of trypsin inhibitor on ileal amino acid digestibility in pig. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 97, n. 10, p. 1151-1163, 2020.

CLARK, M. Comparative analysis of environmental impacts of agricultural production systems, agricultural input efficiency, and food choice. **Environmental Research Letters**, v. 12, n. 6, p. 064016, 2017.

COWIESON, A. J.; ROOS, F. F. Toward optimal value creation through the application of exogenous mono-component protease in the diets of non-ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 221, p. 331-340, 2016.

COWIESON, A. J.; *et al.*, Interactions between xylanase and glucanase in maize-soy-based diets for broilers. **British Poultry Science**, v. 51, n. 2, p. 246-257, 2010.

COWIESON, A. J.; ROOS, F. F. Bioefficacy of a mono-component protease in the diets of pigs and poultry: a meta-analysis of effect on ileal amino acid digestibility. **Journal of Applied Animal Nutrition**, v. 2, 2013.

COWIESON, A. J.; BEDFORD, M. R. The effect of phytase and carbohydrase on ileal amino acid digestibility in monogastric diets: complimentary mode of action? **World's Poultry Science Journal**, v. 65, n. 4, p. 609-624, 2009.

DE LIMA, G. J. M. M. *et al.* Implications of corn and soybean meal quality on swine production, **Annual meeting brazilian Society of Science**, 50., 2013, Campinas – SP., SBZ, 2013.

DOURADO, L. R. B. *et al.* Soybeans (*Glycine max*) and soybean products in poultry and swine nutrition. **Recent trends for enhancing the diversity and quality of soybean products**, p. 175-190, 2011.

GOEBEL, K. P.; STEIN, H. H. Ileal digestibility of amino acids in conventional and low-Kunitz soybean products fed to weanling pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 24, n. 1, p. 88-95, 2011.

GONZÁLEZ-VEGA, J. C. *et al.* Amino acid digestibility in heated soybean meal fed to growing pigs. **Journal of animal science**, v. 89, n. 11, p. 3617-3625, 2011.

HAMERSTRAND, G. E. Trypsin inhibitors in soy products: modification of the standard analytical procedure. **Cereal Chem.**, v. 58, p. 42-45, 1981.

HOFMANN, T. *et al.* Quantification of Maillard reaction products in animal feed. **European Food Research and Technology**, v. 246, p. 253-256, 2020.

IBÁÑEZ, M. A. *et al.* Chemical composition, protein quality and nutritive value of commercial soybean meals produced from beans from different countries: A meta-analytical study. **Animal Feed Science and Technology**, v. 267, p. 114531, 2020.

KIARIE, E. *et al.*, The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry. **Nutrition research reviews**, v. 26, n. 1, p. 71-88, 2013.

KIM, S. *et al.* Value of palm kernel co-products in swine diets. **Korean Journal of Agricultural Science**, v. 43, n. 5, p. 761-768, 2016.

KIM, Y. *et al.* Effects of dietary enzyme cocktail on growth performance, intestinal morphology, and nutrient digestibility of weaned pigs. **Korean Journal of Agricultural Science**, v. 44, n. 4, p. 513-518, 2017.

LIU, K. *et al.*, Soybean trypsin inhibitor assay: further improvement of the standard method approved and reapproved by American Oil Chemists' Society and American Association of Cereal Chemists International. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 96, n. 6, p. 635-645, 2019.

LIU, S. Y. *et al.* Protease supplementation of sorghum-based broiler diets enhances amino acid digestibility coefficients in four small intestinal sites and accelerates their rates of digestion. **Animal Feed Science and Technology**, v. 183, n. 3-4, p. 175-183, 2013.

MIN, Y. *et al.* Effects of protease supplementation on growth performance, blood constituents, and carcass characteristics of growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 61, n. 4, p. 234, 2019.

MOURE, A. *et al.* Functionality of oilseed protein products: A review. *Food research international*, v. 39, n. 9, p. 945-963, 2006.

MURUGESAN, G. R. *et al.*, Effects of protease, phytase and a *Bacillus* sp. direct-fed microbial on nutrient and energy digestibility, ileal brush border digestive enzyme activity and cecal short-chain fatty acid concentration in broiler chickens. **PloS one**, v. 9, n. 7, p. e101888, 2014.

OJHA, B. K. *et al.*, Enzymes in the animal feed industry. **Enzymes in food biotechnology**. Academic Press, p. 93-109. 2019.

PARK, S. *et al.* Dietary protease improves growth performance, nutrient digestibility, and intestinal morphology of weaned pigs. **Journal of animal science and technology**, v. 62, n. 1, p. 21, 2020.

PERONA, J. J.; CRAIK, C. S. Structural basis of substrate specificity in the serine proteases. **Protein Science**, v. 4, n. 3, p. 337-360, 1995.

RAVINDRAN, V. *et al.* Apparent ileal digestibility of amino acids in dietary ingredients for broiler chickens. **Animal Science**, v. 81, n. 1, p. 85-97, 2005.

ROOKE, J. A. *et al.* Growth performance and gut function of piglets weaned at four weeks of age and fed protease-treated soya-bean meal. **Animal feed science and technology**, v. 70, n. 3, p. 175-190, 1998.

RUIZ, N. New insights on the urease activity range for soybean meal: A worldwide opportunity for the poultry industry. In: **Arkansas Nutrition Conference Proceedings**. 2012.

RUIZ, N. *et al.* A review: 100 years of soybean meal. **ADM**: Chicago, IL, USA, 2020.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos** – 2ª Edição. Jaboticabal, SP: Funep, 2016.

SALAZAR-VILLANEA, S. *et al.* Effect of protease supplementation on apparent ileal crude protein and amino acid digestibility of over-processed soybean meals in broilers. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 13, n. 1, p. 1-8, 2022.

SAVAGE, W. D. *et al.* Biologically active components inactivation and protein insolubilization during heat processing of soybeans. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 1, p. 164-168, 1995.

SHIVAKUMAR, M. *et al.* Genetic variability and effect of heat treatment on trypsin inhibitor content in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill.]. **Legume Research-An International Journal**, v. 38, n. 1, p. 60-65, 2015.

SUEIRO, S. *et al.* A comparison of the ISO and AACC methods for determining the activity of trypsin inhibitors in soybean meal. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 92, n. 10, p. 1391-1397, 2015.

THORPE, J. *et al.* Vegetable protein meals and the effects of enzymes. **Enzymes in farm animal nutrition**, p. 125-143, 2001.

TORRES-PITARCH, A. *et al.* Systematic review and meta-analysis of the effect of feed enzymes on growth and nutrient digestibility in grow-finisher pigs: Effect of enzyme type and cereal source. **Animal Feed Science and Technology**, v. 251, p. 153-165, 2019.

TOOMER, O. T. *et al.* Current Agronomic Practices, Harvest & Post-Harvest Processing of Soybeans (*Glycine max*) A Review. **Agronomy**, v. 13, n. 2, p. 427, 2023.

USDA, FAS. United States department of agriculture. Foreign Agricultural Service. PS&D. <https://apps.fas.usda.gov/psdonline>, 2023

WANG, D. *et al.* Effects of keratinase supplementation of corn-soybean meal based diets on apparent ileal amino acid digestibility in growing pigs and serum amino acids, cytokines, immunoglobulin levels and loin muscle area in nursery pigs. **Archives of animal nutrition**, v. 65, n. 4, p. 290-302, 2011.

WANG, Y. *et al.* Optimization of processing conditions for solid-state fermented soybean meal and its effects on growth performance and nutrient digestibility of weanling pigs. **Livestock Science**, v. 170, p. 91-99, 2014.

WEDEKIND, K. J. *et al.* Efficacy of a mono-component protease is affected by trypsin inhibitor concentration in soybean meal. **Animal feed science and technology**, v. 265, p. 114502, 2020.

WU, J. *et al.* Allergens and intestinal damage induced by soybean antigen proteins in weaned piglets. **Italian Journal of Animal Science**, v. 15, n. 3, p. 437-445, 2016.

ZUO, J. *et al.* Effect of dietary supplementation with protease on growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, digestive enzymes and gene expression of weaned piglets. **Animal Nutrition**, v. 1, n. 4, p. 276-282, 2015

**ARTIGO**

**Digestibilidade proteica de farelos de soja em rações para suínos com ou sem adição de  
protease**

Artigo redigido conforme as Normas NBR 6022 (ABNT 2018)

## RESUMO

Objetivou-se avaliar a digestibilidade ileal aparente (DIA) e a digestibilidade ileal verdadeira (DIV) de proteína e aminoácidos de dois farelos de soja (FS): FS tostado e FS Hypro micronizado na dieta de suínos nas fases de crescimento e engorda, com e sem a adição de protease pelo método de cânula “T” simples. Foram utilizados 6 suínos machos castrados em um delineamento de quadrado latino, com 6 tratamentos, 6 períodos e 6 repetições por tratamento. Os tratamentos consistiram em: T1- Dieta isenta de proteína (DIP); T2- DIP + FS tostado; T3- DIP + FS Hypro micronizado; T4- DIP + Protease; T5- DIP + FS tostado + Protease; T6- DIP + FS Hypro micronizado + Protease). Os farelos de soja avaliados foram incluídos nas dietas em substituição ao amido ao nível de 35%. A protease protegida foi utilizada na inclusão de 50 g/ton. O uso da protease melhorou a DIA e DIV da proteína bruta e dos aminoácidos metionina + cisteína, triptofano, ácido aspártico, prolina ( $P<0,05$ ) e mostrou tendência a melhorar ( $P<0,10$ ) para a maioria dos aminoácidos: lisina; treonina, isoleucina, glicina, serina, valina, leucina, histidina, fenilalanina, ácido glutâmico e tirosina. Conclui-se que a utilização da protease melhorou a digestibilidade da proteína bruta e da maioria dos aminoácidos para suínos em fase de engorda, o que contribuiu para melhorar a eficiência de aproveitamento de ambos os farelos soja.

**Palavras-Chave:** Digestibilidade ileal verdadeira; Enzima; Suplementação; Processamento; Fatores antinutricionais.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the apparent ileal digestibility (AID) and standardized ileal digestibility (SID) of protein and amino acids of two soybean meals (SBM): toasted SBM and micronized SBM Hypro in the pig diet in the growth and finishing phases, with and without the addition of protease using the “T” cannula method. 6 castrated male pigs were used in a Latin square design, with 6 treatments, 6 periods and 6 replications per treatment. The treatments consisted of: T1: Protein-free diet (PFD); T2: PFD + Soybean meal toasted; T3: PFD + Hypro soybean meal micronized; T4: Protein-free diet (PFD) + Protease; T5: PFD + Toasted soybean meal + Protease; T6: PFD + Hypro soybean meal micronized + Protease. The evaluated soybean meals were included in the diets replacing starch at a level of 35%. Protease was used at 50 g/ton inclusion. The use of protease improved the SID of crude protein and the amino acids Methionine + Cysteine, Tryptophan, Aspartic Acid, Proline ( $P < 0.05$ ) and tended to improve ( $P < 0.10$ ) for most amino acids: Lysine; Threonine, Isoleucine, Glycine, Serine, Valine, Leucine, Histidine, Phenylalanine, Glutamic Acid and Tyrosine. It is concluded that the use of protease improved the digestibility of crude protein and majority amino acids for pigs in the final growth phase, which can contribute to significantly improving the efficiency of use of both soybean meals.

**Keywords:** Standardized ileal digestibility; Enzyme; Supplementation; Processing; Antinutritional factors.

## 1 INTRODUÇÃO

O farelo de soja é uma importante fonte proteica na alimentação animal, porém contém fatores antinutricionais, como inibidores de proteases que podem inativar enzimas necessárias para a digestão adequada das proteínas, prejudicando a saúde e desempenho dos animais (WANG, *et al.*, 2014). Neste contexto, vários processamentos térmicos são empregados como cozimento, tostagem, extrusão e micronização com o intuito de reduzir a atividade dos fatores antinutricionais, sobretudo dos inibidores de proteases e assim promover maior qualidade da matéria prima (TOOMER *et al.*, 2023). Contudo, a diversidade nos tipos de processamentos reflete em variada qualidade do produto oferecido no mercado (GONZÁLEZ-VEGA *et al.*, 2011).

As proteases exógenas são adicionadas às dietas dos suínos como suplementos para melhorar a digestibilidade dos nutrientes presentes nos alimentos, facilitando a hidrólise de proteínas que resistem a ação de enzimas endógenas (TORRES-PITARCH *et al.*, 2019), complementando o mecanismo de ação das proteases endógenas no processo digestivo, melhorando a digestibilidade dos nutrientes e conseqüentemente o desempenho de suínos nas diferentes fases de desenvolvimento (PARK *et al.*, 2020). Neste sentido, A suplementação de uma protease poderia melhorar a digestibilidade dos aminoácidos independente da qualidade do farelo de soja, resultando em dietas com maior qualidade e menor custo.

A avaliação da eficiência da fonte proteica da dieta associada ao uso de uma enzima protease consiste em quantificar a digestibilidade dos aminoácidos presentes na matéria prima, levando em consideração fatores endógenos e exógenos (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2016). Neste sentido, objetivou-se avaliar a digestibilidade ileal aparente e verdadeira de dois farelos de soja processadas de maneira distinta, com e sem a adição de protease, em rações para suínos durante as fases de crescimento e fase de engorda.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Comissão de ética no uso dos animais**

Todos os métodos de manejo animal foram aprovados pelo Comitê Institucional de Bem-Estar Animal e Ética/Proteção (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) sob o protocolo de nº 219/2022.

### **2.2 Instalações e animais utilizados**

O experimento foi realizado entre os meses de Janeiro e Maio de 2023 nas instalações do laboratório de metabolismo e digestibilidade de suínos do setor de Suinocultura (NEPSUI – Núcleo de Estudos em Produção de Suínos) no Instituto de Ciências Agrárias da UFMG, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil.

Foram utilizados seis suínos castrados de genética comercial (TN70\* Talent) com peso vivo inicial de 35 kg e peso final de 110 kg. Os animais foram utilizados em duas fases de crescimento, dos 35 aos 65 kg de peso vivo (1ª fase) e dos 75 aos 110 kg (2ª fase). Cada fase teve duração de seis semanas com sete dias de intervalo entre as fases.

### **2.3 Procedimentos cirúrgicos para implantação da cânula T**

Oito animais foram submetidos ao procedimento de implantação da cânula T no íleo terminal, considerando seis suínos para o estudo mais dois suínos de reserva, utilizando-se o procedimento cirúrgico descrito por Donkoh *et al.* (1994). A cirurgia foi realizada no Hospital Veterinário Universitário da Escola de Veterinária FUNORTE (Montes Claros, Minas Gerais). Para o processo cirúrgico, os suínos foram submetidos a jejum alimentar por 24 horas e água por seis horas para minimizar o risco de contaminação por digesta durante a cirurgia. Os animais foram anestesiados e toda a área da cirurgia totalmente desinfetada. O processo cirúrgico foi realizado com uso de tranquilizantes e sedativos, inicialmente utilizando 0,02 mg/kg de acepromazina, 0,2 mg/kg de morfina e 4,0 mg/kg de cetamina. Posteriormente foi utilizado para anestesia local lidocaína sem vaso infiltrativo em L invertido no flanco direito, e nele foi realizada a tricotomia. Para a anestesia geral foi utilizado propofol 1% endovenoso, dose máxima de 4 mg/kg, que foi aplicado lentamente por via intravenosa e assim o animal foi induzido. Foi utilizada anestesia inalatória de O<sub>2</sub> e isoflurano, sendo realizado monitoramento a cada 15 minutos de anestesia, seguido de avaliação após a cirurgia, bem como todos os parâmetros clínicos dos animais. Através de uma laparotomia por incisão do flanco direito, incisão da pele, oblíqua externa e interna, seguida da exposição do ceco e identificação da prega

ileocecal e através de enterotomia, nova incisão foi feita para fixá-la. Nylon 0 foi usado para fechar a incisão, realizando enterorravírus para fixação da cânula, usando Nylon 0 para todas as suturas.

Nos primeiros cinco dias após a cirurgia, os animais foram medicados com antibióticos (FLOXICIN 10% - 10 dias 7,5 mg/kg de enrofloxacina) e antiinflamatórios (MAXICAN 2% - 5 dias 0,5 mg/kg meloxicam) como medida profilática. No período de recuperação pós-cirúrgica, passaram pela adaptação e aumento gradativo da alimentação, até o estabelecimento do consumo normal.

#### 2.4 Delineamento experimental e dietas avaliadas

Após a recuperação da cirurgia, os suínos foram alojados em baias metabólicas de 1,0 x 1,3 m equipadas com piso ripado, comedouro e bebedouro tipo chupeta. Os animais foram distribuídos em delineamento de quadrado latino, sendo 6 tratamentos x 1 animal x 6 períodos, como está demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Distribuição dos suínos por período experimental

Período	Animal					
	1	2	3	4	5	6
1	T5R1	T6R2	T4R3	T2R4	T1R5	T3R6
2	T6R1	T1R2	T5R3	T3R4	T2R5	T4R6
3	T1R1	T2R2	T6R3	T4R4	T3R5	T5R6
4	T2R1	T3R2	T1R3	T5R4	T4R5	T6R6
5	T3R1	T4R2	T2R3	T6R4	T5R5	T1R6
6	T4R1	T5R2	T3R3	T1R4	T6R5	T2R6

Na Tabela 2, consta a descrição dos tratamentos avaliados:

Tabela 2 - Disposição das dietas em seus respectivos tratamentos

Tratamentos	Sem protease suplementar	Tratamentos	+ Com protease suplementar*
T1	Dieta isenta de proteína (DIP)	T4	DIP
T2	DIP + FS tostado	T5	DIP + FS tostado
T3	DIP + FS micronizado	T6	DIP + FS micronizado

\*ProAct 360 (50g/ton)

Na Tabela 3 observa-se a composição das rações experimentais. Os tratamentos T1 e T4 foram utilizados para determinar a excreção endógena de proteínas e aminoácidos. As dietas experimentais continham 1% de celite utilizado como indicador para posterior avaliação através da análise para cinzas insolúveis em ácido.

Tabela 3 – Ingredientes utilizados nas rações experimentais

Ingredientes (kg)	Tratamento					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Amido de milho	82,926	47,926	47,926	82,876	47,876	47,876
Açúcar	8,000	8,000	8,000	8,000	8,000	8,000
Óleo de soja	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000
Fibrocell 3%	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000
Fosfato bicálcico	1,810	1,810	1,810	1,810	1,810	1,810
Calcário calcítico	0,714	0,714	0,714	0,714	0,714	0,714
Cloreto de sódio	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400
Premix Vitamínico OVN <sup>1</sup>	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Premix Mineral Oligo SUI <sup>2</sup>	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Celite 1%	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
ProAct 360 g/kg	0,000	0,000	0,000	0,050	0,050	0,050
Farelo de soja 48% Tostado	0,000	35,000	0,000	0,000	35,000	0,000
Farelo de soja HyPro 48% Micronizado	0,000	0,000	35,000	0,000	0,000	35,000
Total	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000

<sup>1</sup> Vitamina A (1.000 UI), Vitamina D3 (152 UI), Vitamina E (8 UI), Vitamina K (0,4 mg), Biotina (0,04 mg), Ácido fólico (0,36 mg), Niacina (4,8 mg), Ácido Pantotênico (2,4 mg), Vitamina B2 (0,8 mg), Vitamina B1 (0,32 mg), Vitamina B6 (0,48 mg) e Vitamina B12 (0,004 mg).

<sup>2</sup> Sulfato de cobre (1,95 g de cobre), Sulfato de ferro (15,0 g de ferro), Monóxido de manganês (7,50 g de manganês), Selênio de sódio (27,60 mg de selênio), Sulfato de zinco (Zinco 14,25 g), Iodo de cálcio (Iodo 1,50 mg)

Os farelos de soja utilizados substituíram o amido (peso por peso), e foram a única fonte de proteína nas dietas experimentais. A quantidade de ração foi calculada ao final de cada período de coleta, pela energia de manutenção x peso metabólico ( $\text{kg}^{0,75}$ ) x fator de produção (FP) (3 x manutenção; STEIN *et al.*, 2006) /densidade da dieta:

$$\text{Consumo médio diário kg/d} = 106 \text{ kcal EM} \times \text{PVkg}^{0,75} \times 3,0 \text{ (FP)} / 3360 \text{ kcal EM/kg}$$

O valor de 106 kcal é a energia de manutenção para suínos em crescimento de acordo com Noblet *et al.* (1999). O valor de 3360 kcal EM/kg foi o valor energético médio das dietas experimentais.

Os animais receberam a ração duas vezes ao dia, às 8 horas e às 16 horas, divididas em quantidades iguais. As rações foram fornecidas umedecidas na proporção de 1:1 para facilitar a ingestão e evitar o desperdício. A duração dos períodos experimentais foi de 6 dias, sendo que

no 6º dia era coletada digesta ileal por 24 horas, iniciando-se às 10 horas da manhã e estendendo-se até as 10 horas do dia seguinte.

## 2.5 Coletas

Para amostragem dos fluidos ileais, a tampa da cânula foi removida e um saco plástico de 225 ml preso ao corpo da cânula usando uma presilha de travamento automático (Figura 1). Os sacos eram coletados assim que preenchidos com digesta, ou pelo menos uma vez a cada 30 minutos. A digesta foi armazenada a -20 °C imediatamente após ser coletada para evitar a ação de microrganismos sobre os nutrientes presentes na digesta (GONZALEZ-VEGA *et al.*, 2011). Devido ao fato de que as cânulas permitem que apenas uma parte do fluxo de saída da digesta ileal seja coletada, um indicador indigerível (Celite®) foi incluído na dieta para correlacionar a quantidade de digesta coletada com a quantidade de ração correspondente.



Figura 1 – Saco plástico acoplado à cânula no momento da coleta de digesta ileal

Fonte: Arquivo pessoal.

No 7º dia, após o término da coleta, os animais foram alimentados com uma dieta de transição (mistura de 50% do tratamento anterior e 50% do próximo tratamento). No dia seguinte receberam nova dieta experimental, iniciando-se assim um novo período experimental. Ao final de cada fase de crescimento, os animais tiveram acesso a uma dieta controle formulada para atender à exigência na fase de desenvolvimento (Manual Topigs Norsvin) contendo 0,95% Lys SID/kg e 3360 kcal EM/kg por 7 dias. Após esse período, um novo ciclo experimental era iniciado

## 2.6 Equações para determinação dos coeficientes de digestibilidade

Para determinar os coeficientes de digestibilidade ileal, foram utilizadas as fórmulas sugeridas por Sakomura e Rostagno (2016) e Rostagno e Featherston (1977), sendo:

FI1 = Fator de indigestibilidade da dieta de teste

FI1 = (%cinza insolúvel em ácido (CIA) dieta teste/ %CIA digesta de teste)

Coeficiente de digestibilidade ileal aparente da proteína bruta (DIA PB)

DIA PB (%) = % PB na dieta – ((% PB na digesta x FI1) / % PB na dieta)) x 100

FI2 = Fator de indigestibilidade da dieta isenta de proteínas (DIP)

Coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira da proteína bruta (PB DIV)

PB DIV (%) = [(% PB na dieta – (% PB na digesta x FI1) – (% PB digesta x FI2)) / % PB na dieta] x 100

Coeficiente de digestibilidade ileal aparente de aminoácidos (AA DIA)

AA DIA (%) = [(mg AA/g dieta) – ((mg AA/g E1 x FI1) / mg AA / g dieta))] x 100

E1 = Digesta da dieta teste

E2 = Digesta da dieta isenta de proteínas

Coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira de aminoácidos (AA DIV)

AA DIV (%) = [(mg AA/g dieta – (mg AA/g E1 x FI1) – (mg AA/g E2 x FI2)) / mg AA/g dieta] x 100

## 2.7 Análises laboratoriais

Amostras dos farelos de soja, rações experimentais e digestas ileal foram analisadas quanto ao teor de aminoácidos de acordo com os métodos descritos por White *et al.* (1986), Hagen *et al.*, (1989) e Lucas e Sotelo (1980). Os teores de matéria seca, proteína bruta, fibra bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e matéria mineral foram determinados segundo métodos analíticos descritos no Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2017). Já o extrato etéreo foi analisado conforme metodologia da AOCS (2017). Energia bruta foi mensurada em bomba calorimétrica (IKA, modelo 5000). Além disso, as amostras de farelos de soja foram analisadas quanto a proteína solúvel em KOH (AOAC, 2007) e atividade de inibidores de tripsina (AOCS, 2017). Todas as amostras de digesta ileal também foram analisadas para resíduo solúvel em HCL de acordo com o método número 48 descrito no Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2017; TABELAS 4 e 5).

Tabela 4 – Composição analisada dos farelos de soja

Variáveis	Farelo de Soja	
	FST <sup>1</sup>	FSHM <sup>2</sup>
Matéria seca %	91,120	89,940
Proteína bruta %	48,090	48,770
Extrato etéreo %	0,900	1,110
Fibra bruta %	3,410	3,220
FDN %	13,500	11,930
FDA %	5,800	5,280
Energia bruta cal/g	4214,000	4465,000
Matéria mineral %	6,770	6,710
KOH %	70,350	73,590
AlTrips.mg/g	1,160	1,470
Aminoácidos %		
Metionina	0,610	0,580
Cisteína	0,790	0,790
Metionina + Cisteína	1,400	1,370
Lisina	3,200	3,200
Treonina	2,320	2,270
Triptofano	0,640	0,630
Arginina	3,620	3,540
Isoleucina	2,200	2,220
Leucina	3,870	3,870
Valina	2,210	2,230
Histidina	1,310	1,360
Fenilalanina	2,640	2,630
Glicina	2,280	2,290
Serina	2,820	2,840
Prolina	2,480	2,480
Alanina	2,360	2,280
Ácido aspártico	5,330	5,070
Ácido Glutâmico	9,420	9,340
Tirosina	1,710	1,680

<sup>1</sup> Farelo de soja tostado; <sup>2</sup> Farelo de soja hypro micronizado

Tabela 5 – Composição das rações experimentais

Ingredientes (kg)	Tratamento <sup>1</sup>					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
<b>Composição analisada</b>						
Matéria seca %	88,27	89,03	89,20	88,54	89,09	89,11
Cinzas %	3,680	5,820	5,770	3,910	5,670	5,850
Proteína bruta %	0,940	17,960	16,850	0,000	18,270	16,950
Extrato Etéreo %	1,700	1,510	1,870	2,120	1,740	2,820
Fibra bruta %	2,410	3,790	3,570	2,870	3,450	2,870
FDN %	3,340	11,340	10,320	4,140	11,120	10,430
FDA %	3,940	6,810	4,720	2,600	5,190	4,880
Amido %	69,660	42,510	42,140	69,660	42,510	42,140
Açúcares %	3,700	7,080	6,590	3,700	7,080	6,590
EB (kcal/kg)	3372	3786	3371	3239	3556	3548
<b>Composição calculada (%)</b>						
ED, crescimento (kcal/kg) <sup>2</sup>	3035	3407	3034	2915	3200	3193
EM crescimento (kcal/kg) <sup>2</sup>	2883	3237	2882	2769	3040	3034
EN (líquida), crescimento (kcal/kg) <sup>2</sup>	2133	2395	2133	2049	2250	2245
Cálcio (%)	0,769	0,889	0,885	0,769	0,889	0,885
Fósforo (%)	0,333	0,554	0,549	0,333	0,554	0,549
P digestível (%)	0,215	0,321	0,319	0,215	0,321	0,319

<sup>1</sup>T1: Dieta isenta de proteína (DIP); T2: DIP + FST; T3: DIP + FSHM, T4: DIP + ProAct 360; T5: T2 + ProAct 360; T6: T3 + ProAct 360.

<sup>2</sup>Os valores de ED, EM e EN foram obtidos utilizando a relação de 0,90; 0,85 e 0,63 respectivamente para EB, seguindo o modelo do programa EVAPIG® (Inrae, 2020).

Tabela 6 – Composição aminoacídica das rações experimentais

Aminoácidos	Tratamento					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
<b>Composição analisada (%)</b>						
Lys dig	0,027	1,113	0,970	0,018	1,006	0,908
Thr dig	0,000	0,791	0,705	0,000	0,731	0,645
Met dig	0,000	0,228	0,200	0,000	0,191	0,182
Cys dig	0,033	0,208	0,166	0,025	0,174	0,149
Met+Cys dig	0,035	0,440	0,370	0,026	0,370	0,334
Trp dig	0,113	0,209	0,226	0,052	0,218	0,235
Ile dig	0,000	0,801	0,694	0,000	0,730	0,668
Val dig	0,017	0,792	0,696	0,009	0,731	0,661
Leu dig	0,098	1,433	1,246	0,071	1,308	1,193
Phe dig	0,009	0,954	0,828	0,000	0,873	0,765
Tyr dig	0,000	0,589	0,497	0,000	0,524	0,469
Phe+Tyr dig	0,009	1,547	1,329	0,000	1,401	1,238
His dig	0,036	0,432	0,405	0,036	0,405	0,369
Arg dig	0,019	1,316	1,194	0,000	1,260	1,128
Ala dig	0,077	0,834	0,705	0,069	0,748	0,662
Asp dig	0,099	1,899	1,584	0,072	1,656	1,386
Glu dig	0,125	3,453	2,937	0,080	3,133	2,750
Gly dig	0,000	0,754	0,656	0,000	0,689	0,615
Ser dig	0,000	0,994	0,854	0,000	0,915	0,801
Pro dig	0,009	0,908	0,783	0,000	0,828	0,730

## 2.8 Análises estatísticas

O delineamento estatístico utilizado no experimento foi o delineamento em quadrados latinos. Para verificar o efeito dos diferentes tratamentos, foi realizada a análise estatística dos dados comparando a fonte de farelo de soja e a inclusão ou não de enzima na dieta dentro de cada fase de crescimento. Os dados foram analisados estatisticamente usando um procedimento SAS Proc MIXED (SAS Inst. Inc., Cary, NC). O animal foi considerado a unidade experimental. Os 6 tratamentos (fonte de farelo de soja; inclusão de enzima e DIP) foram comparados usando a ANCOVA; onde animal, período e fase foram os principais efeitos. As médias foram comparadas pelo teste de Student - Newman - Keuls, considerando o valor alfa de 0,05 para determinar o nível de significância entre os tratamentos, e um valor alfa entre <0,10 e >0,05 como tendência.

### 3 RESULTADOS

Durante a primeira fase do experimento, dois animais apresentaram problemas relacionados a recuperação da cirurgia e adaptação da cânula, sendo substituídos por outros dois suínos reservas. Os demais animais permaneceram saudáveis durante todo o período experimental. O peso vivo médio dos animais no início da fase 1 era  $39,65 \pm 4,69$  kg e ao final da mesma fase era  $62,40 \pm 7,70$  kg. Já para fase final, o peso vivo médio inicial dos animais era  $73,00 \pm 7,97$  kg e ao final  $104,89 \pm 11,10$  kg. As temperaturas e umidade relativa máxima e mínima no interior das instalações, durante a condução do ensaio na primeira fase foram de  $29,6 \pm 1,5$  °C e  $21,5 \pm 1,0$  °C e umidade de  $79 \pm 1,8\%$  e  $68 \pm 3,4\%$  e na segunda fase  $27,9 \pm 1,3$  °C e  $21,5 \pm 1,0$  °C e  $79 \pm 3,4\%$  e  $67 \pm 7,0\%$  respectivamente, comprovando que os animais estavam em conforto térmico.

Os coeficientes de digestibilidade aparentes e verdadeiros não foram influenciados ( $P > 0,10$ ) pelas fontes de farelo de soja em nenhuma das fases estudadas (TABELAS 7, 8, 9 e 10). Na fase 1, o uso da protease não influenciou ( $P > 0,10$ ) a digestibilidade aparente e verdadeira dos aminoácidos (TABELAS 7 e 8). Já na fase 2, os coeficientes de digestibilidade aparente e verdadeira foram influenciados pelos tratamentos em que se utilizou protease (TABELAS 9 e 10). O uso da protease melhorou ( $P < 0,05$ ) a digestibilidade aparente da proteína bruta e dos aminoácidos metionina + cisteína, triptofano e tenderam a melhorar ( $P < 0,10$ ) a digestibilidade do ácido glutâmico. Houve uma melhora na digestibilidade verdadeira ( $P < 0,05$ ) da proteína bruta e dos aminoácidos metionina + cisteína, triptofano, ácido aspártico, prolina e tendência ( $P < 0,10$ ) para lisina, treonina, valina, isoleucina, leucina, histidina, fenilalanina, glicina, serina, ácido glutâmico e tirosina.

Em resumo, a utilização da protease na segunda fase deste estudo, aumentou os coeficientes de digestibilidade ileal dos aminoácidos essenciais lisina, treonina, isoleucina, leucina, valina, histidina, fenilalanina e triptofano em 4,7%; 4,7%; 3,9%, 4,0%; 5,0%; 4,3%; 3,5% e 13,3% respectivamente. Os coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos não essenciais glicina, serina, prolina, ácido aspártico, ácido glutâmico, tirosina e metionina + cisteína também foram aumentados com a suplementação da protease em 8,2%; 4,1%; 6,0%; 11,9%; 3,5%; 3,7% e 4,1% respectivamente. Além disso, o aumento na digestibilidade dos aminoácidos de cadeia ramificada e da proteína bruta representou 4,3% e 6,0% respectivamente. Estes resultados demonstram o efeito positivo na digestibilidade aparente e verdadeira da proteína bruta e aminoácidos para animais na fase final de crescimento, promovida pela suplementação de protease.

Tabela 7 – Coeficientes de digestibilidade aparente da fase 1 (35 a 65 kg de peso vivo)

Variável	Sem enzima		Média	Com Enzima		Média	RSD	CV (%)	P-valor		
	FS Tostado	FS Micronizado		FS Tostado	FS Micronizado				Enzima	Soja	Rep
Proteína Bruta	76,040	79,445	77,743	84,813	83,121	83,967	11,052	13,67	0,187	0,852	0,724
Lisina	78,571	80,329	79,450	85,549	82,658	84,104	10,887	13,31	0,311	0,900	0,719
Metionina	83,151	86,704	84,928	90,130	85,955	88,043	11,892	13,75	0,530	0,950	0,756
Cisteína	78,228	77,696	77,962	84,749	81,213	82,981	12,714	15,80	0,348	0,700	0,757
Metionina + Cisteína	85,129	86,114	85,622	89,200	86,880	88,040	9,779	11,26	0,553	0,869	0,800
Treonina	78,571	80,329	79,450	85,549	82,658	84,104	10,887	13,31	0,311	0,900	0,719
Arginina	90,071	91,165	90,618	92,275	92,048	92,162	5,144	5,63	0,473	0,839	0,602
Isoleucina	77,124	79,588	78,356	84,917	82,208	83,563	11,377	14,05	0,279	0,979	0,619
Leucina	78,569	77,482	78,026	85,486	82,763	84,125	11,085	13,67	0,197	0,679	0,484
Valina	72,111	75,319	73,715	81,902	78,308	80,105	13,818	17,97	0,274	0,973	0,697
Histidina	77,548	81,138	79,343	84,543	83,093	83,818	10,139	12,43	0,296	0,799	0,677
Fenilalanina	80,360	82,338	81,349	86,879	84,005	85,442	9,813	11,77	0,322	0,912	0,712
Glicina	59,306	61,428	60,367	71,498	69,494	70,496	19,108	29,20	0,213	0,994	0,666
Serina	80,968	80,417	80,693	86,329	83,216	84,773	9,478	11,46	0,307	0,642	0,813
Prolina	75,019	75,851	75,435	81,243	79,289	80,266	11,655	14,97	0,325	0,908	0,731
Alanina	69,818	72,650	71,234	80,870	75,591	78,231	15,182	20,32	0,276	0,846	0,706
Ác. Aspártico	79,635	80,230	79,933	84,016	79,997	82,007	10,333	12,76	0,630	0,690	0,727
Ác. Glutâmico	83,816	84,878	84,347	88,097	86,541	87,319	8,243	9,60	0,390	0,942	0,611
Triptofano	60,095	68,346	64,221	66,606	75,461	71,034	16,296	24,10	0,321	0,217	0,562
Tirosina	81,551	83,423	82,487	85,935	84,400	85,168	9,353	11,16	0,493	0,965	0,658

CV: Coeficiente de variação; RSD: Erro médio quadrático da raiz

Tabela 8 – Coeficientes de digestibilidade verdadeira da fase 1 (35 a 65 kg de peso vivo)

Váriável	Sem enzima			Com Enzima			RSD	CV (%)	P-valor		
	FS Tostado	FS Micronizado	Média	FS Tostado	FS Micronizado	Média			Enzima	Soja	Rep
Proteína Bruta	81,118	84,523	82,821	90,781	89,121	89,951	10,988	12,72	0,132	0,848	0,727
Lisina	84,984	87,697	86,341	88,247	85,685	86,966	12,735	14,70	0,906	0,989	0,499
Metionina	92,159	96,961	94,560	93,183	89,155	91,169	15,668	16,87	0,603	0,953	0,788
Cisteína	83,636	84,468	84,052	88,178	85,427	86,803	13,202	15,45	0,617	0,861	0,561
Metionina + Cisteína	88,168	90,098	89,133	92,010	89,866	90,938	9,788	10,87	0,658	0,979	0,619
Treonina	84,984	87,697	86,341	88,247	85,685	86,966	12,735	14,70	0,906	0,989	0,499
Arginina	93,381	94,820	94,101	93,856	93,813	93,835	5,144	5,63	0,473	0,839	0,602
Isoleucina	83,199	86,611	84,905	87,796	85,347	86,572	13,177	15,37	0,761	0,930	0,611
Leucina	84,413	85,388	84,901	88,139	85,675	86,907	12,175	14,17	0,692	0,883	0,538
Valina	79,766	84,043	81,905	85,733	82,556	84,145	15,747	18,97	0,732	0,933	0,608
Histidina	84,356	88,414	86,385	87,872	86,697	87,285	11,386	13,11	0,849	0,761	0,395
Fenilalanina	85,725	88,531	87,128	89,305	86,727	88,016	11,434	13,06	0,852	0,981	0,602
Glicina	69,493	73,165	71,329	78,572	77,859	78,216	20,072	26,84	0,413	0,859	0,493
Serina	86,229	86,557	86,393	89,474	86,793	88,134	10,407	11,93	0,688	0,785	0,524
Prolina	81,044	82,849	81,947	87,623	86,179	86,901	11,985	14,20	0,979	0,971	0,591
Alanina	78,956	83,480	81,218	85,346	80,652	82,999	17,806	21,69	0,810	0,991	0,646
Ác. Aspártico	84,433	85,993	85,213	86,150	82,626	84,388	11,164	13,17	0,859	0,832	0,402
Ác. Glutâmico	87,478	89,192	88,335	89,698	88,385	89,042	9,076	10,23	0,851	0,958	0,418
Triptofano	70,347	77,828	74,088	72,912	81,697	77,305	16,200	21,40	0,633	0,237	0,459
Tirosina	87,188	90,117	88,653	88,667	87,566	88,117	11,125	12,59	0,908	0,843	0,561

CV: Coeficiente de variação; RSD: Erro médio quadrático da raiz

Tabela 9 – Coeficientes de digestibilidade aparente da fase 2 (75 a 110 kg de peso vivo)

Variável	Sem enzima			Com Enzima			RSD	CV (%)	P-valor		
	FS Tostado	FS Micronizado	Média	FS Tostado	FS Micronizado	Média			Enzima	Soja	Rep
Proteína Bruta	75,026	80,631	77,829	85,682	81,840	83,761	6,205	7,68	0,032	0,732	0,909
Lisina	76,097	80,388	78,243	85,152	80,126	82,639	6,606	8,21	0,123	0,893	0,843
Metionina	87,903	89,247	88,575	89,828	89,785	89,807	3,193	3,58	0,359	0,624	0,028
Cisteína	80,859	83,137	81,998	87,506	82,667	85,087	5,275	6,31	0,171	0,561	0,901
Metionina + Cisteína	83,387	87,867	85,627	90,267	88,826	89,547	4,425	5,05	0,045	0,413	0,717
Treonina	76,097	80,388	78,243	85,152	80,126	82,639	6,606	8,21	0,123	0,893	0,843
Arginina	89,648	91,303	90,476	93,274	91,139	92,207	3,048	3,34	0,183	0,850	0,940
Isoleucina	78,103	82,205	80,154	85,526	81,632	83,579	5,406	6,60	0,140	0,963	0,825
Leucina	79,278	82,754	81,016	86,508	82,890	84,699	5,226	6,31	0,104	0,974	0,850
Valina	73,774	78,414	76,094	82,964	78,069	80,517	6,501	8,30	0,115	0,962	0,830
Histidina	78,746	83,848	81,297	87,135	83,135	85,135	5,855	7,04	0,128	0,821	0,978
Fenilalanina	81,464	85,007	83,236	88,262	84,479	86,371	4,745	5,60	0,125	0,951	0,875
Glicina	58,337	62,706	60,522	71,867	62,618	67,243	10,624	16,63	0,141	0,582	0,847
Serina	79,960	83,582	81,771	87,713	83,027	85,370	5,614	6,72	0,136	0,819	0,973
Prolina	73,368	77,668	75,518	81,920	77,891	79,906	6,574	8,46	0,122	0,960	0,935
Alanina	71,244	74,968	73,106	80,358	74,523	77,441	7,293	9,69	0,165	0,728	0,537
Ácido Aspártico	74,879	77,831	76,355	84,330	76,753	80,542	7,568	9,65	0,194	0,465	0,885
Ácido Glutâmico	82,508	85,417	83,963	89,115	85,600	87,358	4,710	5,50	0,097	0,877	0,890
Triptofano	48,109	61,710	54,910	69,617	64,428	67,023	11,497	18,86	0,020	0,383	0,985
Tirosina	79,513	82,664	81,089	86,067	82,373	84,220	5,125	6,20	0,154	0,898	0,971

CV: Coeficiente de variação; RSD: Erro médio quadrático da raiz

Tabela 10 – Coeficientes de digestibilidade verdadeira da fase 2 (75 a 110 kg de peso vivo)

Variável	Sem enzima			Com Enzima			RSD	CV (%)	P-valor		
	FS Tostado	FS Micronizado	Média	FS Tostado	FS Micronizado	Média			Enzima	Soja	Rep
Proteína Bruta	80,506	86,111	83,309	91,267	87,424	89,346	6,300	7,30	0,032	0,736	0,863
Lisina	78,489	83,137	80,813	87,849	83,115	85,482	6,522	7,84	0,099	0,987	0,900
Metionina	90,093	91,742	90,918	92,559	92,653	92,606	3,288	3,02	0,189	0,490	0,032
Cisteína	84,045	87,128	85,587	91,386	87,195	89,291	5,232	5,98	0,102	0,799	0,949
Metionina + Cisteína	86,131	90,659	88,395	93,112	91,833	92,473	4,280	4,73	0,033	0,366	0,760
Treonina	78,489	83,137	80,813	87,849	83,115	85,482	6,522	7,84	0,099	0,987	0,900
Arginina	91,241	93,062	92,152	95,076	93,152	94,114	2,976	3,20	0,126	0,967	0,819
Isoleucina	80,333	84,783	82,558	88,237	84,597	86,417	5,374	6,36	0,098	0,856	0,921
Leucina	81,468	85,278	83,373	89,046	85,675	87,361	5,203	6,10	0,079	0,919	0,906
Valina	76,944	82,028	79,486	86,725	82,226	84,476	6,473	7,90	0,077	0,913	0,914
Histidina	81,397	86,681	84,039	90,224	86,526	88,375	5,811	6,74	0,086	0,743	0,981
Fenilalanina	83,348	87,181	85,265	90,465	86,993	88,729	4,698	5,40	0,090	0,926	0,924
Glicina	64,645	69,975	67,310	79,712	71,406	75,559	10,542	14,76	0,073	0,734	0,827
Serina	82,158	86,147	84,153	90,372	86,067	88,220	5,555	6,44	0,092	0,945	0,969
Prolina	80,182	85,581	82,882	90,341	87,445	88,893	6,849	7,97	0,047	0,661	0,933
Alanina	74,921	79,325	77,123	84,775	79,514	82,145	7,209	9,05	0,107	0,886	0,747
Ácido Aspártico	76,636	79,942	78,289	93,103	87,237	90,170	7,481	8,88	0,001	0,681	0,926
Ácido Glutâmico	83,839	86,986	85,413	90,614	87,308	88,961	4,679	5,37	0,082	0,967	0,913
Triptofano	56,738	69,691	63,215	79,505	73,586	76,546	11,730	16,79	0,013	0,473	0,918
Tirosina	82,075	85,706	83,891	89,259	85,942	87,601	5,017	5,85	0,089	0,940	0,994

CV: Coeficiente de variação; RSD: Erro médio quadrático da raiz

#### 4 DISCUSSÃO

A digestibilidade dos aminoácidos presentes no farelo de soja pode ser influenciada por diversos fatores, dentre eles a qualidade da matéria prima no que diz respeito a sua composição química (WEDEKIND *et al.*, 2020). Ao avaliar esta qualidade, alguns parâmetros podem ser utilizados, como a concentração de inibidores de tripsina, que pode indicar falhas no processamento do farelo de soja. Ruiz (2009) relatou piora na integridade intestinal de frangos de corte alimentados com 20% de FS com concentração de inibidores de tripsina próxima aos 3,0 mg g<sup>-1</sup>. Chen *et al.* (2020) observaram que a utilização de FS com concentração de inibidores de tripsina em 3,46 mg g<sup>-1</sup> diminuiu a digestibilidade ileal verdadeira de todos os aminoácidos em comparação a FS com concentração de inibidores de tripsina até 2,24 mg g<sup>-1</sup>. A solubilidade em KOH é um importante parâmetro que indica superprocessamento do farelo de soja. Segundo Butolo (2010), o farelo de soja adequadamente processado apresenta solubilidade de até 80%, já o produto superprocessado, apresenta solubilidade próxima aos 90%. No presente estudo, tais parâmetros foram considerados aceitáveis e bem semelhantes para ambos os farelos de soja (FS tostado: 1,16 mg g<sup>-1</sup> IT; 70,35% solubilidade em KOH. FS micronizado: 1,47 mg g<sup>-1</sup> IT; 73,59% solubilidade em KOH; TABELA 4). Neste sentido, podemos inferir que os farelos de soja utilizados, foram processamentos adequadamente. Portanto possuem alta qualidade, o que pode explicar a não influência dos farelos de soja na digestibilidade da proteína bruta e aminoácidos nas duas fases avaliadas.

Na fase 1, a utilização da protease não influenciou a digestibilidade dos aminoácidos, fato que também pode ser explicado, em partes, pela qualidade dos farelos de soja utilizados, uma vez que a eficácia de uma enzima protease é influenciada pela digestibilidade inerente dos aminoácidos. Cowieson e Roos (2013) observaram que a digestibilidade dos aminoácidos das dietas experimentais sem inclusão de enzima tem relação direta com a eficácia da suplementação de uma protease exógena, ou seja, quando a digestibilidade inerente dos aminoácidos é inferior a 70%, há uma eficácia na utilização da enzima em 90% dos casos, melhorando a digestibilidade dos aminoácidos em até de 10%. Ainda de acordo com os mesmos autores, quando a digestibilidade inerente dos aminoácidos na dieta controle foi superior a 80%, houve uma melhoria na digestibilidade mediada pela protease de aproximadamente apenas 2%. No presente estudo, a digestibilidade inerente da maioria dos aminoácidos foi alta, acima de 80%, o que pode justificar ausência de diferenças estatísticas quando houve a inclusão para a primeira fase de crescimento dos suínos. A recuperação pós-implantação da cânula pode ser outro fator de influência uma vez que alguns animais apresentaram um menor consumo de ração

durante os três primeiros períodos experimentais. Moter e Stein (2004) observaram que a digestibilidade dos nutrientes pode ser influenciada pelo consumo de ração, neste sentido, o baixo consumo relatado neste estudo pode ter afetado a ação da protease na primeira fase.

Uma segunda provável explicação para a ausência de benefícios da enzima na primeira fase do experimento, baseia-se no possível desequilíbrio na secreção enzimática pelo pâncreas causado pela mudança no perfil da dieta teste comparado com a dieta utilizada na fase de creche, uma vez que a atividade da protease suplementada pode ser regulada negativamente pelo metabolismo enzimático endógeno (GUGGENBUHL *et al.*, 2012), o que poderia explicar a diferença entre os resultados encontrados na primeira e na segunda fase. Os benefícios da suplementação com protease para leitões desmamados são facilmente encontrados na literatura (GUGGENBUHL *et al.*, 2012; PARK *et al.*, 2020), provavelmente pelo fato de que leitões mais jovens geralmente têm uma atividade enzimática digestiva mais baixa em comparação com os leitões em crescimento ou terminação (HEDEMANN e JENSEN, 2004). Isso faz com que a eficácia de utilização de uma protease para esses animais seja mais evidenciada já que seus sistemas digestivos ainda estão em desenvolvimento e não produzem quantidades adequadas de enzimas para digerir completamente todos os nutrientes da dieta. Por outro lado, no presente estudo, foi observada uma influência da protease na digestibilidade de aminoácidos para animais na fase final de crescimento, concordando com os achados de Lee *et al.* (2020) que relataram melhora no desempenho de crescimento e na digestibilidade da proteína para suínos em crescimento e terminação suplementados com protease, o que supõe que a utilização de protease pode complementar a ação das enzimas digestivas endógenas, melhorando assim a eficiência da digestão, além de neutralizar fatores antinutricionais, como inibidores de tripsina e lectinas, presentes nas dietas dos animais, melhorando ainda mais a digestibilidade e a eficiência de utilização dos nutrientes.

Os resultados encontrados na segunda fase do presente estudo, corroboram aqueles encontrados por Guggenbuhl *et al.* (2012), que avaliaram os efeitos da suplementação de uma protease ácida estável na digestibilidade ileal de aminoácidos para leitões em fase de creche (dos 43 aos 57 dias de idade). E relataram aumento na digestibilidade dos aminoácidos essenciais lisina, treonina, isoleucina, valina, histidina, fenilalanina e arginina em 4,0%; 7,4%; 7,8%; 8,8%; 6,8%; 4,5% e 3,7% respectivamente. A suplementação de protease também aumentou a digestibilidade dos aminoácidos não essenciais ácido aspártico + asparagina, ácido glutâmico + glutamina e tirosina em 6,4%; 6,3% e 5,4% respectivamente. Os coeficientes de digestibilidade dos aminoácidos de cadeia ramificada e da proteína bruta foram aumentados em 6,9% e 5,8% respectivamente (GUGGENBUHL *et al.*, 2012). As diferenças entre os resultados

observados nos dois estudos são principalmente em relação aos aminoácidos de cadeia ramificada e a treonina, onde a digestibilidade destes aminoácidos foi mais influenciada pela protease no estudo de Guggenbuhl *et al.* (2012). Uma possível explicação, seria a idade dos animais avaliados, uma vez que a digestibilidade dos aminoácidos aumenta conforme a idade e consequentemente a resposta à suplementação de protease diminui (HUANG *et al.*, 2005). Outra diferença importante, foi em relação a digestibilidade ileal do triptofano, que em nosso estudo apresentou uma resposta à suplementação da protease maior que 10%. Tal fato pode ser explicado a partir da digestibilidade inerente deste aminoácido, que foi consideravelmente baixa, portanto, a magnitude de resposta à protease é maior (COWIESON E ROOS, 2013). Estes dados, são importantes para uma compreensão geral da eficácia da utilização de uma protease não apenas em leitões jovens, mas também para animais em fase final de crescimento e terminação. Li *et al.* (2010) em três experimentos simultâneos *in vitro* e *in vivo*, avaliando a suplementação de uma mistura de enzimas (amilase, protease e xilanase) para suínos em crescimento, relataram uma melhora na digestibilidade aparente da proteína bruta, concordando parcialmente com nossos achados. Kim *et al.* (2021), avaliando a suplementação de protease associada a uma redução na proteína bruta em dietas para leitões desde o desmame até a fase de terminação, também observaram melhorias na digestibilidade total dos nutrientes. Alguns resultados controversos também estão descritos na literatura (KIARIE *et al.*, 2020 , ZUO *et al.*, 2015), o que evidencia que a eficácia da suplementação de uma protease depende de outros fatores como fase de crescimento em que o animal se encontra e o processamento da fonte de proteína utilizada nas dietas.

## 5 CONCLUSÃO

A suplementação de protease é eficaz em aumentar a digestibilidade da proteína bruta e da maioria dos aminoácidos das dietas que utilizam farelo de soja como fonte proteica para suínos em fase final de crescimento, melhorando a eficiência de utilização dos nutrientes.

## REFERÊNCIAS

- COMPENDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, Sindirações. Campinas – SP. CBNA, 2017.
- BUTOLO, J. E. Qualidade de Ingredientes na Alimentação Animal, Campinas – SP. CBNA, 2010
- CHEN, J. *et al.* Trypsin inhibitor and urease activity of soybean meal products from different countries and impact of trypsin inhibitor on ileal amino acid digestibility in pig. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 97, n. 10, p. 1151-1163, 2020.
- COWIESON, A. J.; ROOS, F. F. Bioefficacy of a mono-component protease in the diets of pigs and poultry: a meta-analysis of effect on ileal amino acid digestibility. *Journal of Applied Animal Nutrition*, v. 2, p. 13, 2013.
- DONKOH, A. *et al.*, Comparison of the slaughter method and simple T-piece cannulation of the terminal ileum for determining ileal amino acid digestibility in meat and bone meal for the growing pig. *Animal Feed Science and Technology*, v. 49, n. 1-2, p. 43-56, 1994.
- GONZÁLEZ-VEGA, J. C. *et al.* Amino acid digestibility in heated soybean meal fed to growing pigs. *Journal of animal science*, v. 89, n. 11, p. 3617-3625, 2011.
- GUGGENBUHL, P. *et al.*, of dietary supplementation with a protease on the apparent ileal digestibility of the weaned piglet. *Journal of animal science*, v. 90, n. 4, p. 152-154, 2012.
- HAGEN, S. R. *et al.*, Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of amino acids in food. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, v. 72, n. 6, p. 912-916, 1989.
- HEDEMANN, M. S; JENSEN, B. B. Variations in enzyme activity in stomach and pancreatic tissue and digesta in piglets around weaning. *Archives of Animal Nutrition*, v. 58, n. 1, p. 47-59, 2004.
- HUANG, K. H. *et al.* Influence of age on the apparent ileal amino acid digestibility of feed ingredients for broiler chickens. *British poultry science*, v. 46, n. 2, p. 236-245, 2005.
- KIARIE, E. G. *et al.* Digestibility of amino acids, energy, and minerals in roasted full-fat soybean and expelled-extruded soybean meal fed to growing pigs without or with multienzyme supplement containing fiber-degrading enzymes, protease, and phytase. *Journal of Animal Science*, v. 98, n. 6, p. skaa174, 2020.
- KIM, Y. J. *et al.* Effect of low protein diets added with protease on growth performance, nutrient digestibility of weaned piglets and growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science and Technology*, v. 63, n. 3, p. 491, 2021.
- LEE, J. J. *et al.* Dietary protease improves growth rate and protein digestibility of growing-finishing pigs. *Journal of animal science and technology*, v. 62, n. 3, p. 313, 2020.
- LI, Y. *et al.*, Corn extrusion and enzyme addition improves digestibility of corn/soy based diets by pigs: In vitro and in vivo studies. *Animal feed science and technology*, v. 158, n. 3-4, p. 146-154, 2010.
- LUCAS, B.; SOTELO, A. Effect of different alkalies, temperature, and hydrolysis times on tryptophan determination of pure proteins and of foods. *Analytical biochemistry*, v. 109, n. 1, p. 192-197, 1980.

MOTER, V.; STEIN, H. H. Effect of feed intake on endogenous losses and amino acid and energy digestibility by growing pigs. *Journal of animal science*, v. 82, n. 12, p. 3518-3525, 2004.

NOBLET, J. *et al.* Metabolic utilization of energy and maintenance requirements in growing pigs: effects of sex and genotype. *Journal of Animal Science*, v. 77, n. 5, p. 1208-1216, 1999.

PARK, S. *et al.*, Dietary protease improves growth performance, nutrient digestibility, and intestinal morphology of weaned pigs. *Journal of animal science and technology*, v. 62, n. 1, p. 21, 2020.

ROSTAGNO, H. S.; FEATHERSTON, W. R. Estudos e métodos para a determinação de disponibilidade de aminoácidos em pintos [farelo de soja e gergelim]. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia (Brasil)*, v. 6, p. 64-76, 1977.

RUIZ, N. Quality of Soybean Meal and Full-fat Soybeans for Monogastrics and How to Test for It. In: *Proceedings of the... Mid-Atlantic Nutrition Conference*. 2009.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. *Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos - 2 Edição*. Jaboticabal, SP: Funep, 2016.

SOARES, F. M. *et al.*, *Manual para normalização de artigos científicos: atualizado de acordo com as NBR 6022/2018 e NBR 6023/2018: segunda edição*. CaMaik, 2020.

TOOMER, O. T. *et al.* Current Agronomic Practices, Harvest & Post-Harvest Processing of Soybeans (*Glycine max*) A Review. *Agronomy*, v. 13, n. 2, p. 427, 2023.

TORRES-PITARCH, A. *et al.* Systematic review and meta-analysis of the effect of feed enzymes on growth and nutrient digestibility in grow-finisher pigs: Effect of enzyme type and cereal source. *Animal Feed Science and Technology*, v. 251, p. 153-165, 2019.

WANG, Y. *et al.* Optimization of processing conditions for solid-state fermented soybean meal and its effects on growth performance and nutrient digestibility of weanling pigs. *Livestock Science*, v. 170, p. 91-99, 2014.

WEDEKIND, K. J. *et al.* Efficacy of a mono-component protease is affected by trypsin inhibitor concentration in soybean meal. *Animal feed science and technology*, v. 265, p. 114502, 2020.

WHITE, J. A. *et al.* An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, v. 8, p. 170-177, 1986.

ZUO, J. *et al.* Effect of dietary supplementation with protease on growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, digestive enzymes and gene expression of weaned piglets. *Animal Nutrition*, v. 1, n. 4, p. 276-282, 2015.