

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM ZOOTECNIA

STEFANI NATANI DOS SANTOS ARNDT

**PROTEASE ALCALINA NA ALIMENTAÇÃO DE SUÍNOS
NA FASE DE CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO**

Marechal Cândido Rondon

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM ZOOTECNIA

STEFANI NATANI DOS SANTOS ARNDT

**PROTEASE ALCALINA NA ALIMENTAÇÃO DE SUÍNOS
NA FASE DE CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Campus de Marechal Cândido Rondon, como parte das exigências para obtenção do título de Mestra em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho
Coorientador: Prof. Dr. Jansler Luiz Genova

Marechal Cândido Rondon

2022

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Santos Arndt , Stefani Natani dos
Protease alcalina na alimentação de suínos na fase de crescimento e terminação / Stefani Natani dos Santos Arndt ; orientador Paulo Levi de Oliveira Carvalho; coorientador Janslier Luiz Genova. -- Marechal Cândido Rondon, 2022.
52 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2022.

1. Suínos. 2. Proteína bruta. 3. Protease . 4. Alcalina .
I. Oliveira Carvalho, Paulo Levi de, orient. II. Genova, Janslier Luiz , coorient. III. Título.

STEFANI NATÂNI DOS SANTOS ARNDT

Protease alcalina na alimentação de suínos na fase de crescimento e terminação

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de "Mestra em Zootecnia", Área de Concentração "Produção e Nutrição Animal", Linha de Pesquisa "Produção e Nutrição de Não-Ruminantes / Aquicultura", APROVADA pela seguinte Banca Examinadora:

Orientador / Presidente – Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - Campus de Mal. Cândido Rondon

Coorientador – Prof. Dr. Jansler Luiz Genova
Universidade Federal de Viçosa (UFV)

Membro – Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon

Membro – Prof. Dr. Alysson Saraiva
Universidade Federal de Viçosa (UFV)

Marechal Cândido Rondon, 19 de dezembro de 2022.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho**, declaro como **ORIENTADOR** que presidi os trabalhos de defesa à distância, de forma síncrona e por videoconferência, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Stefani Natani dos Santos Arndt**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, a apresentação e a arguição dos membros da Banca Examinadora, **formalizo como Orientador**, para fins de registro, por meio desta declaração, a decisão da Banca Examinadora de que a candidata foi considerada **APROVADA** na banca realizada em 19/12/2022, com o trabalho intitulado "**Protease alcalina na alimentação de suínos na fase de crescimento e terminação**".

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

A Candidata foi aprovada, entretanto precisará atender todas as sugestões dos membros para correção adequada da dissertação.

Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira - ORIENTADOR/PRESIDENTE

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) / Campus de Mal. Cândido Rondon
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ

GOVERNO DO ESTADO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE Mestrado REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Jansller Luiz Genova**, declaro que **participo à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Stefani Natani dos Santos Arndt**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como COORIENTADOR**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada **APROVADA** na banca realizada em 19/12/2022, com o trabalho intitulado "**Protease alcalina na alimentação de suínos na fase de crescimento e terminação**".

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Prof. Dr. Jansller Luiz Genova
UFV – Departamento de Zootecnia



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ

GOVERNO DO ESTADO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Stefani Natani dos Santos Arndt**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Interno**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada **APROVADA** na banca realizada em 19/12/2022, com o trabalho intitulado "**Protease alcalina na alimentação de suínos na fase de crescimento e terminação**".

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes

Unioeste / *Campus* de Mal. Cândido Rondon

Centro de Ciências Agrárias



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Alysson Saraiva**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Stefani Natani dos Santos Arndt**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada APROVADA na banca realizada em 19/12/2022, com o trabalho intitulado "**Protease alcalina na alimentação de suínos na fase de crescimento e terminação**".

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

gov.br

Documento assinado digitalmente
ALYSSON SARAIVA
Data: 28/02/2023 18:25:54-0900
Verifique em <https://verificador.it.br>

Prof. Dr. Alysson Saraiva
UFV - Departamento de Zootecnia

Modelo 1 - Para membros de Banca Examinadora de Programa de Pós-graduação da UNIOESTE

DEDICO

À minha família, por sempre acreditar em mim! O amor de vocês é o que me estimula a lutar e vencer todos os dias!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e por me provar diariamente o quão És grandioso e generoso, me dando forças e coragem para continuar.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade da realização do mestrado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho, agradeço a orientação, aos ensinamentos, a paciência, a confiança e a generosidade.

Ao professor Dr. Jansller Luiz Genova pela coorientação e disponibilidade nos esclarecimentos, ideias e sugestões.

A empresa Sauvet, pelo financiamento da pesquisa.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia pelos ensinamentos transmitidos e incremento na minha formação.

Ao CNPq- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa de estudos.

Aos colegas e amigos de mestrado, em especial a todos do grupo “GEPS” pela disposição e auxílio durante o experimento e análises.

A minha família, em especial aos meus pais, Elsio e Ildene, pelo apoio e incentivo em todas as minhas escolhas.

As minhas amigas e amigos, perto ou longe, em especial, Alessandra, que foi colega de experimento e dividiu essa luta comigo.

Aos demais amigos queridos, que mesmo com minha ausência e distância em alguns momentos, lembravam-se da nossa amizade me doando um pouquinho de carinho a cada mensagem recebida.

E a todos que de alguma forma, fizeram parte da minha vida e do meu crescimento pessoal e profissional.

Meu muito obrigado!

“A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso,
mas o que ele se torna com isso”.

John Ruskin

PROTEASE ALCALINA NA ALIMENTAÇÃO DE SUÍNOS NA FASE DE CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO

RESUMO

A dependência de ingredientes como o farelo de soja na alimentação de suínos influencia diretamente no custo de produção, intensificando estudos envolvendo o uso de aditivos alimentares como a enzima protease. O objetivo deste estudo foi avaliar a adição de protease alcalina em dietas, com e sem redução de proteína bruta (PB), para suínos em crescimento-terminação, sobre o desempenho zootécnico, digestibilidade aparente dos nutrientes, parâmetros sanguíneos e atributos de carcaça e carne. Um total de 40 suínos machos inteiros com peso corporal inicial de $26,28 \pm 1,24$ kg foram alocados em um delineamento experimental inteiramente casualizados, composto de cinco tratamentos: (1) CP: controle positivo, sem redução de PB e sem enzima, e (2) CP + 0,30: CP com adição de 0,30 kg de enzima/t de ração (3) CN: controle negativo, com redução de 2 e 1% do conteúdo de PB nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, sem enzima, (4) CN + 0,15: CN com adição de 0,15 kg de enzima/t de ração, (5) CN + 0,30: CN com adição de 0,30 kg de enzima/t de ração, com oito repetições, sendo o animal a unidade experimental. Os resultados indicaram que foram verificados efeito de tratamento sobre o consumo médio de ração diário (CRDM), ganho de peso corporal diário (GPCD) e eficiência alimentar (EA) para suínos na fase de crescimento II ($P < 0,0001$, $P = 0,0398$ e $P = 0,0007$). Por meio da análise de contrastes ortogonais, foi observado que os animais do CN tiveram ($P \leq 0,05$) maior EA em comparação aos que consumiram CN+0,15 e CN+0,30, embora o pior GPCD e menor CRDM foi verificado para os animais que receberam CN+0,30. Não foi verificado efeito ($P > 0,05$) de tratamento sobre as variáveis de desempenho zootécnico na fase de terminação, embora uma tendência ($P = 0,0729$) foi observada sobre o GPCD. Houve efeito ($P \leq 0,05$) sobre coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS), matéria seca digestível (MSD), coeficiente de digestibilidade aparente da matéria orgânica (CDAMO), matéria orgânica digestível (MOD) e proteína disponível (PD) na fase de crescimento II. As comparações entre médias de tratamentos testadas por contrastes ortogonais indicaram que animais do tratamento CN apresentaram redução nos CDA quando comparados aos CN+0,15 e CN+0,30. Na fase de terminação II, houve diferença ($P \leq 0,05$) sobre MSD, CDAMO, MOD, PD e coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta (CDAEB). Os resultados indicaram que animais do CN tiveram menores CDA quando comparados aos que receberam CN+0,15 e CN+0,30, exceto sobre a PD. Não houve efeito ($P > 0,05$) de tratamentos sobre os parâmetros sanguíneos na fase de crescimento II. Entretanto, na fase de terminação II, os suínos do grupo CP apresentaram ($P \leq 0,05$) um acréscimo de 27,65% na concentração de albumina em comparação aos com CP+0,30. Também, os animais do grupo CP tiveram ($P \leq 0,05$) aumento nas concentrações de PT e globulina em relação àqueles do grupo CN. Os suínos que consumiram o tratamento à base de CN e CP+0,30 apresentaram ($P \leq 0,05$) um aumento na luminosidade do músculo *longissimus thoracis* comparados aos CP, bem como foi verificada ($P = 0,015$) maior luminosidade no músculo de suínos do grupo CN em comparação ao grupo CP. Como conclusão, a redução de PB na dieta em 2% e 1%, crescimento e terminação respectivamente, mantendo-se a suplementação de aminoácidos até a valina, não altera desempenho, características sanguíneas e características de carcaça e carne. A adição da enzima protease melhora a digestibilidade.

Palavras-chave: atributos de carne, desempenho, digestibilidade, enzima, nutrição de suínos, parâmetros sanguíneos

ALKALINE PROTEASE IN SWINE FOOD IN THE GROWING AND FINISHING PHASE

ABSTRACT

The dependence on ingredients such as soybean meal in swine feed influences directly the cost of production, intensifying studies involving the use of feed additives as the protease enzyme. The objective of this study was to evaluate the addition of alkaline protease in diets, with and without reduction of crude protein (PB), for growing-finishing pigs, on zootechnical performance, apparent digestibility of nutrients, blood parameters and carcass and meat attributes. A total of 40 male pigs with initial body weight of 26.28 ± 1.24 kg were allocated in a completely randomized experimental design, consisting of five treatments: (1) CP: positive control, without PB reduction and without enzyme, and (2) CP + 0.30: CP with the addition of 0.30 kg of enzyme/t of feed (3) CN: negative control, with a reduction of 2 and 1% of the PB content in the growth and finishing phases, respectively, without enzyme, (4) CN + 0.15: CN with addition of 0.15 kg of enzyme/t of feed, (5) CN + 0.30: CN with addition of 0.30 kg of enzyme/t of feed, with eight repetitions, with the animal as the experimental unit. The results indicated that there was a treatment effect on average daily feed intake (CRDM), daily body weight gain (GPCD) and feed efficiency (EA) for pigs in growth phase II ($P < 0.0001$, $P = 0.0398$ and $P = 0.0007$). Through the analysis of orthogonal contrasts, it was observed that the CN animals had ($P \leq 0.05$) greater EA compared to those that consumed CN+0.15 and CN+0.30, although the worst GPCD and lowest CRDM was verified for the animals that received CN+0.30. There was no effect ($P > 0.05$) of treatment on the zootechnical performance variables in the finishing phase, although an inclination ($P = 0.0729$) was observed on the GPCD. There was an effect ($P \leq 0.05$) on apparent digestibility coefficient of dry matter (CDAMS), digestible dry matter (MSD), apparent digestibility coefficient of organic matter (CDAMO), digestible organic matter (MOD) and available protein (PD) in growing phase II. Comparisons among the average of treatments tested by orthogonal contrasts indicated that animals from the CN treatment showed a reduction in CDA when compared to CN+0.15 and CN+0.30. In finishing phase II, there was a difference ($P \leq 0.05$) on MSD, CDAMO, MOD, PD and digestibility coefficient apparent of gross energy (CDAEB). The results indicated that CN animals had lower CDA when compared to those that received CN+0.15 and CN+0.30, except for PD. There was no effect ($P > 0.05$) of treatments on blood parameters in growth phase II. However, in the finishing phase II, the pigs in the CP group showed ($P \leq 0.05$) an increase of 27.65% in albumin concentration compared to those with CP+0.30. Also, animals in the CP group had ($P \leq 0.05$) an increase in PT and globulin concentrations compared to those in the CN group. The pigs that consumed the treatment based on CN and CP+0.30 showed ($P \leq 0.05$) an increase in the luminosity of the *longissimus thoracis* muscle compared to the CP, as well as it was verified ($P = 0.015$) greater luminosity in the piglet muscle from the CN group compared to the CP group. In conclusion, the reduction of PB in the diet by 2% and 1%, growth and finishing respectively, maintaining the amino acid supplementation up to valine, does not modify performance, blood characteristics, carcass and meat characteristics. The addition of the protease enzyme improves digestibility.

Keywords: blood parameters, digestibility, enzyme, meat attributes, performance, swine nutrition

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Composição das dietas experimentais fornecidas aos suínos em crescimento e terminação _____	33
Tabela 2. Desempenho de suínos nas fases de crescimento e terminação alimentados com dietas adicionadas de protease alcalina_____	41
Tabela 3. Coeficientes de digestibilidade aparente e nutrientes digestíveis de suínos alimentados com dietas adicionadas de protease alcalina _____	43
Tabela 4. Parâmetros sanguíneos de suínos nas fases de crescimento e terminação alimentados com dietas adicionadas de protease alcalina_____	44
Tabela 5. Características de carcaça de suínos alimentados com dietas adicionadas de protease alcalina _____	45
Tabela 6. Qualidade de carne de suínos alimentados com dietas adicionadas de protease alcalina _____	46

SUMÁRIO

1 Introdução	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Evolução na produção de suínos	17
2.2 Tecnologia na alimentação animal	18
2.3 Proteína bruta	19
2.3.1 Aminoácidos	19
2.4 Enzimas exógenas	21
2.4.1 Protease	21
2.4.1.1 Protease alcalina	22
2.4.2 Uso da enzima na produção animal vs meio ambiente	23
3 Referências	25
PROTEASE ALCALINA NA ALIMENTAÇÃO DE SUÍNOS NA FASE DE CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO	30
4 Material e Métodos	32
4.1 Animais, delineamento experimental, alojamento e dietas experimentais	32
4.2 Características da enzima testada	34
4.3 Desempenho	34
4.4 Coleta de sangue e parâmetros sanguíneos analisados	35
4.5 Digestibilidade aparente dos nutrientes	35
4.6 Procedimentos de abate, características de carcaça e coleta de amostras	36
4.7 Qualidade de carne	37
4.8 Cálculos e análise estatística	39
5 Resultados	40
6 Discussão	47
7 Conclusões	52
8 Referências	53

1 Introdução

Um dos principais objetivos da suinocultura é maximizar a produtividade da carne suína. Conseqüentemente, exige-se, constantemente, um manejo pecuário e nutricional eficiente para aumentar a produtividade (LEE et al., 2020). Com isso a indústria suinícola tem investigado progressivamente alternativas com o propósito de melhorar o desempenho de suínos fornecendo uma dieta de alta digestibilidade e perfil ideal no conteúdo nutricional. Entretanto, a dependência de ingredientes como o farelo de soja na alimentação animal influencia diretamente no custo de produção, intensificando estudos envolvendo estratégias nutricionais alternativas (ADEOLA; COWIESON, 2011).

O farelo de soja é a fonte de proteína base das dietas de suínos em crescimento-terminação (KIM et al., 2016). No entanto, além desse ingrediente conter limitações nutricionais, como o teor relativamente menor de certos aminoácidos essenciais (metionina e lisina) (FRIEDMAN; BRANDON, 2001), presença de fatores antinutricionais, que reduzem a utilização de compostos proteicos e a secreção de enzimas digestivas pancreáticas, aumentando a perda de secreções endógenas, que contribuem para uma piora na digestibilidade, trata-se de um ingrediente de alto custo e grande dependência por parte das indústrias de rações (JO et al., 2012).

Diante disso, tem sido investigadas alternativas que melhorem o valor nutricional dessa fonte proteica (TACTACAN et al., 2016; CHOE et al., 2017; MIN et al., 2019), além da utilização de fontes proteicas alternativas. Logo, esta última, quanto ao uso de ingredientes de fontes vegetais alternativas ao farelo de soja, tende a reduzir os custos com alimentação, porém, estas possuem quantidade significativa de nutrientes de baixa digestibilidade (JHA; BERROCOSO, 2015; KOO et al., 2017), desempenhando o uso de enzimas exógenas na alimentação animal (DELMASCHIO, 2018).

Destacam-se os efeitos positivos das proteases exógenas sobre a redução dos custos de produção, bem como a capacidade de aumentar a digestibilidade e disponibilidade dos nutrientes presentes nos ingredientes, melhora da saúde animal, além da mitigação considerável da contaminação ambiental pela redução da excreção de minerais contaminantes (ADEOLA; COWIESON, 2011; DELMASCHIO, 2018).

Dessa forma este estudo foi conduzido sob a hipótese de que a adição da enzima protease alcalina adicionada a dietas convencionais, com ou sem redução do conteúdo proteico,

promovesse maior digestibilidade aparente de nutrientes e, conseqüentemente, melhora no desempenho e atributos de carcaça e carne dos animais.

Portanto, o estudo foi conduzido como objetivo de avaliar os efeitos da adição de uma protease alcalina em dietas, com e sem redução de proteína bruta, para suínos nas fases de crescimento e terminação sobre o desempenho, digestibilidade aparente de nutrientes, parâmetros sanguíneos e atributos de carcaça e carne.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Evolução na produção de suínos

O Brasil passou a ganhar espaço no mercado suinícola a partir da década de 90, devido às tecnificações e sua inserção no mercado externo de exportação (EMBRAPA, 2017). Atualmente, o país é o quarto maior produtor e exportador de carne suína do mundo, exportando para mais de 70 países (MAPA, 2021).

As exportações mundiais de carnes mostram-se muito favoráveis para a próxima década, o USDA (2021) prevê acréscimo 23,5% nas exportações de carne suína. As projeções para a exportações de carnes brasileiras devem chegar a 10,4 milhões de toneladas, um aumento de 30% em relação estimado para 2021. Desse montante, a maior parte deve ser de carne suína, com aumento de 33,8% (MAPA, 2021).

Além dos avanços tecnológicos, o melhoramento genético, manejo sanitário e produção integrada, constituem importantes ferramentas para o desenvolvimento da cadeia em busca de um melhor patamar nacional (CORREIA et al., 2016). Atualmente, o principal sistema de produção de suínos no Brasil é o sistema intensivo em confinamento, que permite, graças ao melhoramento genético e o uso de tecnologias laboratoriais, a otimização da produção. Nesse sistema os animais reduziram espessura de toucinho, aumentaram a produção de carne, otimizaram a conversão alimentar, reduziram tempo de abate e melhoraram a qualidade de carcaça (CORREIA, 2016; EMBRAPA, 2017).

Apesar de não ser consumida por parte significativa da população mundial, por motivos religiosos, há projeções para a carne suína ocupar o segundo lugar no ranking de crescimento do consumo, com estimativas de aumento de uma taxa anual de 2,1%, aumento superior ao verificado, no mesmo período, para carne bovina 0,7% (MAPA, 2021). Fazendo

uma estimativa com a quantidade consumida, tem-se na década, 4,04 milhões de toneladas (IBGE, 2019; MAPA, 2021).

Segundo o IBGE (2012), a quantidade de granjas produtoras em 2006 era de 1,23 milhões. A última apuração feita pelo IBGE (2019) aponta um número atualizado de 1,48 milhões de propriedades. O aumento de granjas produtoras não foi significativamente grande nos últimos anos, atribuindo os recordes de produtividade aos investimentos em tecnologias, genética e, principalmente, na alimentação e nutrição animal.

2.2 Tecnologia na alimentação animal

O Brasil se destaca na produção de proteína animal, principalmente a de não ruminantes (ABPA, 2021), esse sucesso está sendo possível em virtude da organização do setor produtivo e devido às novas tecnologias que vem surgindo para tornar o ciclo de produção mais curto com um produto de qualidade.

Com o crescente aumento das exigências tornou-se necessário intensificar os meios de criação com o intuito de aumentar e aperfeiçoar cada vez mais a produção e o retorno econômico. Portanto, muitas barreiras estão sendo enfrentadas para reduzir o ciclo produtivo suínico e, com isso, algumas técnicas vêm sendo gradativamente mais utilizadas, como a adição de suplementos alimentares na dieta dos animais.

A formulação de rações é sempre um desafio para aqueles que trabalham com criação de qualquer espécie animal. Sendo necessário cumprir com as regulamentações de boas práticas de fabricação e otimização de custos, mas sem esquecer da eficiência da dieta. Para tanto, fazer o uso dos modernos compostos, advindos da biotecnologia, é primordial, pois podem, além de aumentar a produtividade, pode-se reduzir os custos de produção (ARAÚJO et al., 2007). Com isso o avanço do entendimento da nutrição e evolução dos diversos *softwares* de formulação, vem contribuindo para tornar o nutricionista muito mais assertivo nas formulações de dietas.

Com a grande evolução da produção suína brasileira e, por consequência, o aumento da produção de resíduos, bem como as exigências imposta pela União Europeia, quanto ao controle da excreção de poluentes, resulta-se na busca de novos conceitos relativos à nutrição animal. Dentre esses, destaca-se o conceito do uso da proteína ideal; da alimentação dos animais divididos em fases; e a suplementação nutricional (PESSÔA et al., 2012).

A Embrapa (2017) em uma avaliação dos custos totais de uma produção verificou que destes, em torno de 70 a 80% são oriundos da alimentação. Logo, existe uma demanda por parte

dos produtores e da agroindústria em reduzir ao máximo este gasto. Quando são utilizados, por exemplo, alimentos alternativos, na maioria dos casos, se consegue diminuir os custos com a alimentação, entretanto os índices zootécnicos ficam comprometidos, devido à piora da utilização da energia e/ou proteína destes ingredientes pelos animais, principalmente pela presença de fatores tidos como antinutricionais.

Surgindo como uma tentativa de reduzir esse comprometimento das dietas por parte dos fatores antinutricionais, alguns artifícios são utilizados, como a adição de antibióticos, probióticos, prebióticos, simbióticos e enzimas exógenas. Estes podem auxiliar de forma direta e/ou indireta o animal a utilizar mais eficientemente os nutrientes contidos nos ingredientes (SCHWARZ, 2002).

2.3 Proteína bruta

As proteínas são polímeros resultantes da desidratação de aminoácidos, e cada resíduo de aminoácido se liga ao seu vizinho por um tipo específico de ligação covalente. Elas diferem entre si por suas cadeias laterais, as quais variam em tamanho e carga elétrica e influenciam a solubilidade do aminoácido na água. As proteínas são constituintes dos mais variados tecidos animais como musculatura esquelética, órgãos de musculatura lisa, pele, pelos, enzimas e as mais variadas células com funções diversas (AROUCA et al., 2004).

Os custos com a alimentação animal oneram grande parte dos custos totais da produção. Destes, as fontes proteicas representam aproximadamente 1/4 do custo. Portanto a otimização da utilização da porção proteica da dieta é um dos fatores chaves para o sucesso e viabilidade econômica na produção de suínos.

O aproveitamento da fração proteica da dieta tem reflexo direto sobre a conversão alimentar, o ganho de peso e a qualidade da carcaça dos animais. O desenvolvimento da nutrição animal, através do melhor conhecimento do metabolismo proteico, e a produção de aminoácidos industriais, possibilitou a otimização das dietas visando atender aos requerimentos nutricionais em proteína e aminoácidos com o menor custo e o menor impacto negativo de poluição ambiental (MOREIRA et al., 2002).

2.3.1 Aminoácidos

De acordo com Emmert e Baker (1997), a proteína ideal pode ser definida como o balanceamento exato dos aminoácidos, sem deficiências, nem sobras, cujo objetivo é satisfazer as exigências absolutas de todos os aminoácidos para manutenção e para ganho máximo de proteína corporal, o que reduz o uso de aminoácidos como fonte de energia e diminui a excreção de nitrogênio.

No passado, as dietas eram formuladas visando maximizar o desempenho animal sem preocupações com excessos de nutrientes. As exigências eram estimadas em valores do conteúdo de proteína bruta (PB) da ração, isso, frequentemente, resultava em dietas com um desequilíbrio em relação às exigências reais dos animais, demandou-se então a reformulação das dietas visando à otimização da utilização da proteína pelo animal, relacionando fatores econômicos, ambientais e condições sanitárias (ARAÚJO; SOBREIRA, 2008). A partir de então, surgiu a necessidade de estimar as exigências dos animais baseadas em aminoácidos totais em vez do conteúdo de PB.

O excesso de proteína na ração, além de prejudicar o balanceamento entre os aminoácidos, gera um gasto adicional de energia para eliminar os aminoácidos excedentes, reduzindo a eficiência alimentar (HENRY et al., 1992). Esse balanço adequado de aminoácidos, além de outros fatores, promove a diminuição da excreção de nitrogênio nos dejetos, minimizando o impacto da poluição ambiental causada pela suinocultura.

Trabalhando com suplementação de aminoácidos sintéticos para suínos nas fases inicial, de crescimento e terminação, Kerr e Easter (1995) constataram que a redução de 4% do nível de proteína bruta, não influenciou o crescimento ou a eficiência alimentar dos suínos, desde que o balanço aminoacídico fosse respeitado. Esse resultado está consistente com os apresentados por Tuitoek et al. (1997) que, aplicando o conceito da proteína ideal, observaram que a redução de 3,6% do nível de PB da ração de suínos em crescimento não alterou o desempenho dos animais, desde que a exigência aminoacídica fosse atendida.

Em síntese, o nível de proteína bruta das rações pode ser reduzido, pela substituição do farelo de soja por aminoácidos sintéticos, sem afetar negativamente o desempenho animal. Entretanto, existem poucas informações disponíveis sobre quais aminoácidos, além dos normalmente suplementados, passam a ser limitantes em rações que possuem baixo nível proteico (PESSÔA et al., 2012; ROSTAGNO; BERNAL; TOLEDO, 2003).

2.4 Enzimas exógenas

As enzimas são proteínas globulares de estrutura terciária ou quaternária que possuem por função catalisar substâncias biológicas, estando envolvidas em todos os processos metabólicos do animal (CARVALHO, 2008). As proteases de origem bacteriana apresentam inúmeras aplicações, principalmente as da espécie do gênero *Bacillus*, pois possuem alta capacidade de produção de proteases alcalinas e alta atividade catalítica (JOO; CHANG, 2005).

No metabolismo dos animais monogástricos, as enzimas proporcionam hidrólise dos alimentos, desdobrando partículas maiores em porções menores para que sejam possivelmente absorvidas pelo intestino delgado (CARVALHO, 2008), sendo dependentes de algumas condições como: temperatura, pH, umidade (PENZ JÚNIOR, 2000), tipo de enzima, sua origem, atividade enzimática, nível de inclusão e especificidade pelo substrato, resistência às secreções digestivas, forma de processamento da dieta, ingredientes e/ou quantidade de substrato alvo na dieta e idade do animal (CHESSON, 1993).

De acordo com Rotter (1990), após a adição da enzima no alimento seco, esta será ativada somente no trato digestório, após a mistura com os fluidos digestivos e sob temperatura corporal adequada. Sendo que a ação máxima da enzima só ocorrerá no estômago e na porção inicial do intestino delgado (CABRAL, 2013).

Na alimentação de suínos, algumas enzimas exógenas são utilizadas como aditivos, objetivando a melhora da digestibilidade dos nutrientes das rações e reduzindo a variação na qualidade nutricional de determinados ingredientes (GOMES; CONY; STELLA, 2019). Portanto, o uso de enzimas, dentre elas a protease acarreta benefícios para a produção animal, com melhora na digestibilidade e no aproveitamento de nutrientes, devendo sua utilização ser restringida a características animais e da dieta.

2.4.1 Protease

As proteases são um grupo de enzimas com função catalítica, fazendo a quebra de ligações peptídicas das proteínas, diferindo das demais enzimas pela sua capacidade de hidrolisar ligações peptídicas diferentes, como no caso de proteínas pouco disponíveis, ou com fatores antinutricionais (CLASSEN, 1996), como inibidores de tripsina, lecitinas e proteínas alergênicas (THORPE et al., 2001).

Elas são classificadas em três grupos: proteases ácidas, que possuem atividade em pH variando de 2,0 a 5,0; as neutras, possuindo atividade ótima em pH entre 6,0 e 9,0; e as alcalinas, possuindo atividade entre pH 9,0 e 11,0 (ARAÚJO et al., 2007). Observa-se que as proteases alcalinas possuem por característica além da alta atividade em pH alcalino, alta especificidade ao substrato, resistência a altas temperaturas e capacidade de resistir a ambientes com baixa atividade de água (TAKAMI; AKIBA; HORIKISHI, 1990).

As dietas formuladas para animais monogástricos são compostas basicamente por ingredientes de origem vegetal, sendo o milho e o farelo de soja os mais utilizados (DELMASCHIO, 2018). No organismo, as enzimas exógenas complementam as enzimas endógenas (ZHANG et al., 2014), auxiliando nas atividades enzimáticas e otimizando a digestão e absorção dos nutrientes. Além disso, são as responsáveis por amenizar a ação negativa dos fatores antinutricionais presentes em vários ingredientes utilizados, sendo que as proteases proporcionam um aumento na digestibilidade através da hidrólise de proteínas protegidas da atividade digestória (CAMPESTRINI; SILVA; APPELT, 2005).

Sendo assim, o uso da protease melhora o aproveitamento dos aminoácidos e nitrogênio presentes nos alimentos destinados aos animais, ainda, o baixo aproveitamento das proteínas, acarreta maiores riscos de poluição pela alta excreção de nitrogênio, além de representar prejuízo econômico ao produtor por se tratar de um nutriente caro.

2.4.1.1 Protease alcalina

O uso de enzimas como agente de modificação de propriedades funcionais de proteínas tem se tornado bastante difundido na indústria de alimentos. As proteínas são fisiologicamente necessárias à sobrevivência de todos os seres vivos (RAO et al., 1998), sendo que elas podem ser obtidas de diferentes fontes, como plantas, animais e microrganismos.

Os microrganismos são responsáveis por grande parte da produção das proteases utilizadas industrialmente, que podem ser obtidas de bactérias, fungos e vírus, sendo as provenientes de bactérias as de maior emprego (RAO et al., 1998).

As proteases bacterianas apresentam inúmeras aplicações nas indústrias alimentícias e química, principalmente da espécie de *Bacillus* sp., que possuem alta capacidade de produção de proteínas alcalinas. Essas amplamente utilizadas nas indústrias e com alta atividade catalítica (JOO; CHANG, 2005). No seguimento das indústrias de alimentação, elas são grupo de enzimas

com maior aplicação, possuindo um papel fundamental na fabricação de cervejas, na manutenção de queijos, no amaciamento da carne, na produção de hidrolisados funcionais, e outros (RAO et al., 1998).

As proteases bacterianas alcalinas são caracterizadas pela sua alta atividade em pH alcalino pela sua alta especificidade ao substrato, pela sua resistência a altas temperaturas e pela sua capacidade em resistir à ambientes com baixa atividade de água (TAKAMI; AKIBA; HORIKISHI, 1990). Este grupo de enzimas tem sua maior produção numa faixa de pH 6,0 a 13,0 (TARI; GENCKAL; TOKALTI, 2006).

Diversas enzimas necessitam da presença de íons metálicos, importantes cofatores que são substâncias não proteicas que tomam parte das reações enzimáticas e são regeneradas para serem utilizadas em relações futuras (CAMPBEL et al., 2001).

Algumas proteases, como as proteases alcalinas, requerem íons metálicos divalentes como o Ca^{2+} , Mg^{2+} e Mn^{2+} ou a combinação desses cátions para obtenção de uma maior atividade (KUMAR et al., 1999). Acredita-se que esses cátions protegem a enzima contra desnaturação em função da temperatura, mantendo atividade em altas temperaturas (SATOSHI; NORIAKI, 2005).

Desta forma, as proteases alcalinas atuam em meio alcalino e são produzidas a partir de bactérias do gênero *Bacillus*, necessitando de íons metálicos nas reações para que ocorra uma maior atividade enzimática.

2.4.2 Uso da enzima na produção animal vs meio ambiente

A utilização de enzimas exógenas na alimentação de suínos vem sendo estudada objetivando aumentar o aproveitamento dos alimentos, reduzindo a excreção de nitrogênio nas fezes dos animais. Isso ocorre por consequência da melhora na digestibilidade das fontes proteicas das dietas (TACTACAN et al., 2016) e contribuindo para redução da poluição ambiental (CABRAL, 2013), a partir de estratégias que considerem a redução do nível de PB da ração, aumentem o nível de aminoácidos sintéticos (CARLSON, 2001), reduzindo a eliminação de substâncias poluentes como nitrogênio e fósforo (BERTECHINI, 2012), sem prejuízos no desempenho animal.

Portanto, o desempenho animal, a eficiência alimentar e a composição da dieta estão relacionadas à digestibilidade dos nutrientes e esses fatores afetam diretamente a composição e o volume dos dejetos produzidos (PENZ JÚNIOR; KESSLER; BRUGALLI, 1999).

Nesse sentido, Henry et al. (1992) sugeriram que para cada melhoria de 0,1 na conversão alimentar, a excreção de nitrogênio é reduzida em 3% e, de acordo com estudo realizado por Ferket (1996), a suplementação com enzimas do grupo das proteases reduziu em 40% a excreção de nitrogênio e enxofre, melhorando a digestibilidade dos aminoácidos e diminuindo a poluição por nitrogênio.

Assim, com a melhora na digestibilidade dos nutrientes e melhor aproveitamento destes, o uso de enzimas exógenas acarreta a diminuição da excreção de nitrogênio nas fezes e diminuindo o impacto ambiental causado por esse tipo de produção animal.

3 Referências

- ABPA. **Relatório anual 2021**. Disponível em: <http://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA_Relatorio_Anual_2021_web.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2021.
- 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.
- ARAÚJO, J.A.; SILVA, J.H.V.; AMÂNCIO, A.L.L.; LIMA, M.R.; LIMA, C.B. Uso de Aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinária Brasileira**. v.1, n.3, p.69-77, 2007.
- ARAÚJO, W.A.G.; SOBREIRA, G.F. Proteína ideal como estratégia nutricional na alimentação de suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.5, n.2, p.537-545, 2008.
- AROUCA, C.L.C.; FONTES, D.O.; FERREIRA, W.M.; SILVA, M.A.; PEREIRA, F.A. Exigências de lisina, com base no conceito de proteína ideal, para suínos machos castrados, de 95 a 122kg, selecionados para deposição de carne magra. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.6, p.773-781, 2004.
- BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras. Editora UFLA, 2ed. 2012. 373p.
- CABRAL, N. de O. **Complexo enzimático na valorização nutricional de dietas para Suínos em crescimento e terminação**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias: Campos dos Goytacazes, 2013.
- CAMPBELL, J.M., BORG, B.S., POLO, J., TORRALLARDONA, D.; CONDE, R. Impact of spray-dried plasma (Appetein) and colistin in weanling pigs challenged with Escherichia coli. In: **Proceedings of 28th Allen D. Lemam Swine Conference** (Minneapolis, U.S.A.), 2001. 7p.
- CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M.; APPELT, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, Viçosa, v. 2, n. 6, p. 259-272, 2005.
- CARLSON, M. Amino acid manipulation and phytase utilization impact on nitrogen and phosphorus excretion. **Production Information for Missori Pork Producers**, p.1-5, 2001.
- CARVALHO, E.; LIMA, J.A.; FIALHO, E.T.; ZANGERONIMO, M.G.; CANTARELLI, V. Utilização de complexo enzimático em rações para leitões na creche. **Boletim de Indústria Animal**, v.65, n.1, p.21-26, 2008.
- CHESSON, A. Feed enzymes. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.45, n.1, p.65-79, Dec. 1993.
- CHOE, J.; KIM, K.S.; KIM, H.B.; PARK, S.; KIM, J.; KIM, S.; SONG, M. Effect of protease on growth performance and carcass characteristics of growing-finishing pigs. **South African Journal of Animal Science**, v.47, n.5, p.697-703, 2017.

- CLASSEN, H.L. Cereal grain starch and exogenous enzymes in poultry diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.62, n.1, p.21- 27, 1996.
- CORREIA, A.C.M.; CORREIA, J.M.; MOTTA, A.C.M. et al. **Evolução da suinocultura industrial últimos 20 anos: Dados de mercado e índices zootécnicos**. Anais do VII CONCCEPAR, Centro Universitário Integrado de Campo Mourão. Campo Mourão-PR, 2016.
- DELMASCHIO, I. B. Enzimas na alimentação de animais monogástricos - revisão de literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária-Unorp**, São José do Rio Preto, v.2, n.1, p.6-20, 2018.
- EMBRAPA. **Demandas atuais e futuras da cadeia produtiva de suínos**. 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1355242/0/CIAS++Agropensa++Demandas+atuais+e+futuras+da+cadeia+produtiva+de+su%C3%ADnos.pdf>>. Acesso em: 14 ago. 2020.
- EMMERT, J.L.; BAKER, D.H. Use of the ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in broiler diets. **Journal of Applied Poultry Research**, v.6, p.462-470, 1997.
- FERKET, P. Enzymes offer way to reduce waste, improve performance. **Feedstuffs**, 1996. 22p.
- FRIEDMAN, M.; BRANDON, D.L. Nutritional and health benefits of soy proteins. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.49, n.3, p.1069-1086, 2001.
- GOMES, B.K.; CONY, B.S. de L. STELLA, L. Enzimas exógenas na alimentação de suínos. **Nutritime Revista Eletrônica**, on-line, Viçosa, v.16, n.3, p.8477-8487, 2019.
- HENRY, Y.; SEVE, B.; COLLÉAUX, Y.; GANIER, P.; SALIGAUT, C.; JÉGO, P. Interactive effects of dietary level soft rypthophan and protein on voluntary feed in takean growth performance in pigs, in relationto plasma free amino acids and hypothalamic serotonin. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1873-1887, 1992.
- IBGE. **Censo agropecuário**, 2012. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=281073>>. Acesso em: 17 ago. 2020.
- IBGE. **Censo agropecuário**, 2019. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=73096>>. Acesso em: 17 ago. 2020.
- IBGE. **Rebanho Suíno (2012)**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/suinos/br>>. Acesso em: 19 ago. 2020.
- JHA, R.; BERROCOSO, J. D. Review: Dietary fiber utilization and its effects on physiological functions and gut health of swine. **Animal**, v.9, n.9, p.1441–1452, 2015.
- JO, J.K.; INGALE, S.L.; KIM, J.S.; KIM, Y.W.; KIM, K.H.; LOHAKARE, J.D.; CHAE, B.J. Effects of exogenous enzyme supplementation to corn-and soybean meal-based or complex

- diets on growth performance, nutrient digestibility, and blood metabolites in growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.90, n.9, p.3041-3048, 2012.
- JOO, H.S.; CHANG, C.S. Production of an oxidan and SDS-stable alkaline protease from an alkaliophilic *Bacillus clausii* I- 52 by submerged fermentation: feasibility as a laundry detergent additive, **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v.38, p.176-183, 2005.
- KERR, B.J.; EASTER, R.A. Effect of feeding reduced protein, amino acid-supplemented diets on nitrogen and energy balance in grower pigs. **Journal Animal Science**, v.73, n.10, p.3000-3008, 1995.
- KIM, S., KIM, B., KIM, Y., JUNG, S., KIM, Y., PARK, J., OH, S. Value of palm kernel co-products in swine diets. **Korean Journal of Agricultural Science**, v.43, n.5, p.761-768, 2016.
- KOO, B.; KIM, J.W.; LANGE, C.F.M.; HOSSAIN, M.M.; NYACHOTI, C.M. Effects of diet complexity and multicarbohydrase supplementation on growth performance, nutrient digestibility, blood profile, intestinal morphology, and fecal score in newly weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v.95, n.9, p.4060, 2017.
- KUMAR, C.G.; TAKAGI, H. Microbial alkaline proteases: from a bioindustrial view point. **Biotechnology Advances**, New York, v.17, p.561-594, 1999.
- LEE, J. J.; CHOE, J.; KANG, J.; CHO, J.H.; SANGWOO PARK, S.; PEREZ-MALDONADO, R.; CHO, J. Y.; PARK, I.H; KIM, H. B.; AND SONG, M. 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.
- MAPA. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2020/21 a 2030/31**. 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/projecoes-do-agronegocio/projecoes-do-agronegocio-2020-2021-a-2030-2031.pdf/view>>. Acesso em: 15 ago. 2020.
- MIN, Y.; CHOI, Y.; KIM, Y.; JEONG, Y.; KIM, D.; KIM, J.; SONG, M. 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, 2019b.
- MOREIRA, I.; GASPAROTTO, L.F.; FURLAN, A.C.; PATRÍCIO, V.M.I.; OLIVEIRA, G.C. Exigência de Lisina para Machos Castrados de Dois Grupos Genéticos de Suínos na Fase de Terminação, com Base no Conceito de Proteína Ideal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.96-103, 2002.
- PENZ JUNIOR, A.M.; KESSLER, A.M.; BRUGALLI, I. Novos conceitos de energia para aves In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES, Campinas, 1999. **Anais**. Campinas, 1999.
- PENZ JUNIOR, A.M. Influência da nutrição na preservação do meio ambiente. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE SUINOCULTURA, 5., 2000. São Paulo, SP. **Anais...**, 2000. p.53-69.

- PESSÔA, G.B.S.; TAVERNARI, F.C.; VIEIRA R.A.; ALBINO, L.F.T. Novos conceitos em nutrição de aves. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.3, p.755-774, 2012.
- RAO, M.B.; TANKSALE, A.M.; GHATGE, M.S.; DESHPANDE, V.V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v.62, n.3, p.597-635, 1998.
- ROSTAGNO, H.S.; BERNAL, L.E.P.; TOLEDO, R.S. Dietas vegetais de pollos de engorde de alta produtividade. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 18, 2003, Santa Cruz, Bolívia. **Anais...** Santa Cruz, Bolívia, 2003. p.397-410.
- ROTTER, B.A. The future of crude enzyme supplements in pig nutrition. **Pig News Information, Wallingford**, v.11, n.1, p.15-17, 1990.
- SATOSHI, U.; NORIAKI, I. Partial purification and characterization of pro-phospholipase A2 activating from gill membranes of the red sea bream, *crysophrys major*. **Coporative Biochemistry and Physiology**, Part B, New York, v.41, p.121-127, 2005.
- SCHWARZ, K.K. **Substituição de antimicrobianos por probióticos e prebióticos na alimentação de frangos de corte**. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná. 2002. 46p.
- TACTACAN, G.B.; CHO, S.Y.; CHO, J.H.; KIM, I.H. Performance responses, nutrient digestibility, blood characteristics, and measures of gastrointestinal health in weanling pigs fed protease enzyme. **Asian-Australas Journal Animal Science**. v.29, n.7, p.998–1003. 2016.
- TAKAMI, H.; AKIBA, T.; HORIKISHI, K. Production of extremely thermostable alkaline protease from *Bacillus* sp. **Applied Microbiology Biotechnology Heidelberg**, GE, v.34, p.157-162, 1990.
- TARI, C.; GENCKAL, H.; TOKATLI, F. Optimization of a growth medium using a statistical approach for the production of an alkaline protease from a newly isolated *Bacillus* sp. L21. **Process Biochemistry**, v.41, n.3, p.659-665, 2006.
- THORPE, J.; BEAL, J.D. Vegetable protein meals and the effects of enzymes. **Enzymes in farm animal nutrition**, p.125-143, 2001.
- TUITOEK, K.; YOUNG, L.G.; DE LANGE, C.F. M., KERR, B.J. The effect of reducing excess dietary amino acids on growing-finishing pig performance: an evaluation of the ideal protein concept. **Journal Animal Science**, v.75, n.6, p.1575-1583, 1997.
- USDA. 2021. FSIS Anual Report 2021. Disponível em: <<https://www.fsis.usda.gov/science-data/journal-publications>>. Acesso em: 13 mar. 2021.
- ZHANG, G.G.; YANG, Z.B; WANG, Y.; YANG, W.R; ZHOU H. J. Effects of dietary supplementation of multi-enzyme on growth performance, nutrient digestibility, small

intestinal digestive enzyme activities, and large intestinal selected microbiota in weanling pigs. **Journal of Animal Science** v.92, p.2063–2069, 2014.

PROTEASE ALCALINA NA ALIMENTAÇÃO DE SUÍNOS NA FASE DE CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO

RESUMO

As proteínas são constituintes dos mais variados tecidos animais como musculatura esquelética, órgãos de musculatura lisa, pele, pelos, enzimas e as mais variadas células com funções diversas. O aproveitamento da fração proteica da dieta tem reflexo direto sobre a conversão alimentar, o ganho de peso e a qualidade da carcaça dos animais, intensificando estudos envolvendo o uso de aditivos alimentares como a enzima protease. Dessa forma, objetivo deste estudo foi avaliar a adição de protease alcalina em dietas, com e sem redução de proteína bruta (PB), para suínos em crescimento-terminação sobre o desempenho zootécnico, digestibilidade aparente dos nutrientes, parâmetros sanguíneos e atributos de carcaça e carne. Um total de 40 suínos machos inteiros com peso corporal inicial de $26,28 \pm 1,24$ kg foram alocados em um delineamento experimental inteiramente casualizados, composto de cinco tratamentos: (1) CP: controle positivo, sem redução de PB e sem enzima, (2) CP + 0,30: CP com adição de 0,30 kg de enzima/t de ração, (3) CN: controle negativo, com redução de 2 e 1% do conteúdo de PB nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, sem enzima, (4) CN + 0,15: CN com adição de 0,15 kg de enzima/t de ração, (5) CN + 0,30: CN com adição de 0,30 kg de enzima/t de ração, com oito repetições, sendo o animal a unidade experimental. Os resultados indicaram que foram verificados efeito de tratamento sobre o consumo médio de ração diário (CRDM), ganho de peso corporal diário (GPCD) e eficiência alimentar (EA) para suínos na fase de crescimento II ($P < 0,0001$, $P = 0,0398$ e $P = 0,0007$). Por meio da análise de contrastes ortogonais, foi observado que os animais do CN tiveram ($P \leq 0,05$) maior EA em comparação aos que consumiram CN+0,15 e CN+0,30, embora o pior GPCD e menor CRDM foi verificado para os animais que receberam CN+0,30. Não foi verificado efeito ($P > 0,05$) de tratamento sobre as variáveis de desempenho zootécnico na fase de terminação, embora uma tendência ($P = 0,0729$) foi observada sobre o GPCD. Houve efeito ($P \leq 0,05$) sobre coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS), matéria seca digestível (MSD), coeficiente de digestibilidade aparente da matéria orgânica (CDAMO), matéria orgânica digestível (MOD) e proteína disponível (PD) na fase de crescimento II. As comparações entre médias de tratamentos testadas por contrastes ortogonais indicaram que animais do tratamento CN apresentaram redução nos CDA quando comparados aos CN+0,15 e CN+0,30. Na fase de terminação II, houve diferença ($P \leq 0,05$) sobre MSD, CDAMO, MOD, PD e coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta (CDAEB). Os resultados indicaram que animais do CN tiveram menores CDA quando comparados aos que receberam CN+0,15 e CN+0,30, exceto sobre a PD. Não houve efeito ($P > 0,05$) de tratamentos sobre os parâmetros sanguíneos na fase de crescimento II. Entretanto, na fase de terminação II, os suínos do grupo CP apresentaram ($P \leq 0,05$) um acréscimo de 27,65% na concentração de albumina em comparação aos com CP+0,30. Também, os animais do grupo CP tiveram ($P \leq 0,05$) aumento nas concentrações de PT e globulina em relação àqueles do grupo CN. Os suínos que consumiram o tratamento à base de CN e CP+0,30 apresentaram ($P \leq 0,05$) um aumento na luminosidade do músculo *longissimus thoracis* comparando-se com os CP, bem como foi verificada ($P = 0,015$) maior luminosidade no músculo de suínos do grupo CN em comparação ao grupo CP. Como conclusão a redução de PB na dieta em 2% e 1%, crescimento e terminação respectivamente, mantendo-se a suplementação de aminoácidos até a valina, não altera desempenho, características sanguíneas e características de carcaça e carne. A adição da enzima protease melhora a digestibilidade.

Palavras-chave: **Palavras-chave:** desempenho, digestibilidade, enzima, nutrição animal

ALKALINE PROTEASE IN SWINE FOOD IN THE GROWING AND FINISHING PHASE

ABSTRACT

Proteins are constituents of the most varied animal tissues such as skeletal muscle, smooth muscle organs, skin, hair, enzymes and the most varied cells with diverse functions. The use of the protein fraction of the diet has a direct impact on feed conversion, weight gain and animal carcass quality, intensifying studies involving the use of food additives such as the protease enzyme. Thus, the objective of this study was to evaluate the addition of alkaline protease in diets, with and without reduction of crude protein (PB), for growing-finishing pigs, on zootechnical performance, apparent digestibility of nutrients, blood parameters and carcass and meat attributes. A total of 40 male pigs with initial body weight of 26.28 ± 1.24 kg were allocated in a completely randomized experimental design, consisting of five treatments: (1) CP: positive control, without PB reduction and without enzyme, and (2) CP + 0.30: CP with the addition of 0.30 kg of enzyme/t of feed (3) CN: negative control, with a reduction of 2 and 1% of the PB content in the growth and finishing phases, respectively, without enzyme, (4) CN + 0.15: CN with addition of 0.15 kg of enzyme/t of feed, (5) CN + 0.30: CN with addition of 0.30 kg of enzyme/t of feed, with eight repetitions, with the animal as the experimental unit. The results indicated that there was a treatment effect on average daily feed intake (CRDM), daily body weight gain (GPCD) and feed efficiency (EA) for pigs in growth phase II ($P < 0.0001$, $P = 0.0398$ and $P = 0.0007$). Through the analysis of orthogonal contrasts, it was observed that the CN animals had ($P \leq 0.05$) greater EA compared to those that consumed CN+0.15 and CN+0.30, although the worst GPCD and lowest CRDM was verified for the animals that received CN+0.30. There was no effect ($P > 0.05$) of treatment on the zootechnical performance variables in the finishing phase, although an inclination ($P = 0.0729$) was observed on the GPCD. There was an effect ($P \leq 0.05$) on apparent digestibility coefficient of dry matter (CDAMS), digestible dry matter (MSD), apparent digestibility coefficient of organic matter (CDAMO), digestible organic matter (MOD) and available protein (PD) in growing phase II. Comparisons among the average of treatments tested by orthogonal contrasts indicated that animals from the CN treatment showed a reduction in CDA when compared to CN+0.15 and CN+0.30. In finishing phase II, there was a difference ($P \leq 0.05$) on MSD, CDAMO, MOD, PD and digestibility coefficient apparent of gross energy (CDAEB). The results indicated that CN animals had lower CDA when compared to those that received CN+0.15 and CN+0.30, except for PD. There was no effect ($P > 0.05$) of treatments on blood parameters in growth phase II. However, in the finishing phase II, the pigs in the CP group showed ($P \leq 0.05$) an increase of 27.65% in albumin concentration compared to those with CP+0.30. Also, animals in the CP group had ($P \leq 0.05$) an increase in PT and globulin concentrations compared to those in the CN group. The pigs that consumed the treatment based on CN and CP+0.30 showed ($P \leq 0.05$) an increase in the luminosity of the *longissimus thoracis* muscle compared to the CP, as well as it was verified ($P = 0.015$) greater luminosity in the piglet muscle from the CN group compared to the CP group. In conclusion, the reduction of PB in the diet by 2% and 1%, growth and finishing respectively, maintaining the amino acid supplementation up to valine, does not modify performance, blood characteristics, carcass and meat characteristics. The addition of the protease enzyme improves digestibility.

Keywords: animal nutrition, digestibility, enzyme, digestibility, performance

4 Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Setor de Suinocultura da Fazenda Experimental Professor Antônio Carlos dos Santos Pessoa da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), no município de Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo CEUAP- Comitê de ética no uso de animais de produção (nº 09-2020).

4.1 Animais, delineamento experimental, alojamento e dietas experimentais

Um total de 40 suínos machos não castrados, híbridos comerciais de alto potencial genético (Landrace × Large White, Agroceres[♂] e DanBred[♀]), com peso inicial de $26,28 \pm 1,24$ kg foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizados, em cinco dietas e oito repetições, com um animal por unidade experimental. A baia foi considerada como a unidade experimental.

Os animais foram alojados em instalação de alvenaria, coberta com telhas de cerâmica, ventilação natural disposta por cortinas laterais e sistema de lanternim, com 40 baias de piso compacto ($2,70 \text{ m}^2$), equipadas com divisórias compactas (alvenaria) e vazadas (metálicas), providas de comedouros adaptados tipo calha e bebedouros do tipo chupeta, fixos e suspensos.

As dietas (Tabela 1), fornecidas na forma farelada, foram formuladas a base milho e farelo de soja e suplementadas com aminoácidos industriais, minerais e vitaminas para atenderem às recomendações nutricionais propostas por Rostagno et al. (2017) nas diferentes fases, exceto para os conteúdos de proteína bruta (PB) nas dietas com redução da concentração deste nutriente. As dietas foram assim constituídas: CP: controle positivo (sem redução de PB e sem adição de enzima) e CP + 0,300 (CP, sem redução de PB, com adição de 0,300 kg de enzima/t), CN: controle negativo (com redução de 2 e 1% de PB nas fases de crescimento-terminação, respectivamente, sem adição de enzima), CN + 0,150 (CN, com redução de 2 e 1% de PB nas fases de crescimento-terminação, respectivamente, e adição de 0,150 kg de enzima/t) CN + 0,300 (CN, com redução de 2 e 1% de PB nas fases de crescimento-terminação, respectivamente, e adição de 0,300 kg de enzima/t).

Tabela 1. Composição das dietas experimentais fornecidas aos suínos em crescimento e terminação

Ingredientes (kg)	Crescimento I		Crescimento II		Terminação I		Terminação II	
	CN	CP	CN	CP	CN	CP	CN	CP
Milho moído - 7,59% de PB	72,98	66,81	78,18	72,4	81,78	78,89	93,99	91,10
Farelo de soja - 46,07% de PB	20,13	26,61	15,88	21,98	13,13	16,18	1,77	4,82
Óleo de soja	2,17	2,50	1,81	2,11	1,57	1,72	0,86	1,02
Fosfato bicálcico	1,71	1,66	1,35	1,30	1,13	1,11	0,85	0,82
Calcário calcítico	0,71	0,68	0,69	0,67	0,62	0,61	0,56	0,55
Sal comum	0,45	0,45	0,42	0,41	0,39	0,39	0,37	0,37
Sulfato de lisina - 54.6%	0,96	0,68	0,85	0,57	0,72	0,58	0,86	0,73
DL-metionina – 99%	0,24	0,19	0,21	0,15	0,16	0,13	0,14	0,11
L-treonina – 98%	0,28	0,20	0,26	0,17	0,21	0,16	0,24	0,19
L-triptofano – 98%	0,07	0,04	0,08	0,05	0,07	0,05	0,08	0,07
L-valina – 98%	0,16	0,05	0,16	0,05	0,11	0,05	0,15	0,10
Premix mineral ¹	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Premix vitamínico ²	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Doximax 75 – doxiciclina 75%	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Maximulin 80 – tiamulina 80%	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Composição nutricional calculada ³ e analisada ⁴								
Energia metabolizável (Kcal/kg) ³	3,348	3,348	3,348	3,348	3,348	3,348	3,348	3,348
Energia metabolizável (Kcal/kg) ⁴	3,384	3,398	3,384	3,398	3,353	3,367	3,353	3,367
Proteína bruta (%) ³	16,41	18,41	14,44	16,44	13,20	14,20	8,96	9,96
Proteína bruta (%) ⁴	16,46	18,49	14,40	16,36	13,13	14,18	8,92	9,96
Cálcio total (%) ³	0,77	0,77	0,66	0,66	0,57	0,57	0,44	0,44
Cálcio total (%) ⁴	0,84	0,85	0,76	0,77	0,69	0,67	0,56	0,53
Fósforo digestível (%) ³	0,38	0,38	0,33	0,33	0,28	0,28	0,22	0,22
Fósforo digestível (%) ⁴	0,45	0,48	0,40	0,44	0,38	0,40	0,27	0,30
Lisina digestível (%)	1,16	1,16	1,03	1,03	0,90	0,90	0,70	0,70
Metionina + cisteína digestível (%)	0,68	0,68	0,61	0,61	0,54	0,54	0,42	0,42
Treonina digestível (%)	0,75	0,75	0,67	0,67	0,58	0,58	0,45	0,45
Triptofano digestível (%)	0,23	0,23	0,21	0,21	0,18	0,18	0,14	0,14
Valina digestível (%)	0,79	0,79	0,71	0,71	0,62	0,62	0,48	0,48

CN: controle negativo, com redução de 2 e 1% do conteúdo de proteína bruta (PB) nas fases de crescimento-terminação, respectivamente, com ou sem adição de enzima, CP: controle positivo, sem redução de PB, com ou sem adição de enzima. ¹Níveis de garantia por kg de dieta: sulfato de Mn – 36028 mg, óxido de Zn - 90000 mg, sulfato de Fe - 70044 mg, sulfato de Cu - 14023 mg, I - 1000 mg, selenito de sódio - 0,045 mg; ²Níveis de garantia por kg de dieta: Vit. A - 1200 UI, Vit. D3 - 2400 UI, Vit. E - 40000 UI, Vit K3- 3600 mg, tiamina (B1) - 1602 mg, riboflavina (B2) - 7600 mg, piridoxina (B6) - 1602 mg, cianocobalamina (B12) - 28000 mcg, niacina (B3) - 40000 mg, ácido pantotênico (B5) - 26000 mg, ácido fólico (B9) - 1000 mg, selênio - 1200 mg, BHT - 258 mg; ³Valores nutricionais propostos por Rostagno et al. (2017).

O experimento foi dividido em quatro fases: crescimento I: suínos machos, não castrados, dos 25 aos 50 kg, crescimento II: suínos machos, não castrados, dos 50 aos 70 kg, Terminação I: suínos machos não castrados, dos 70 aos 100 kg e terminação II: suínos machos castrados, dos 100 aos 120 kg.

Para as fases de crescimento I e II e terminação I foram seguidas as recomendações nutricionais para suínos machos não castrados de alto potencial genético com desempenho médio-superior, e para terminação II suínos machos castrados de alto potencial genético com desempenho médio-superior, segundo Rostagno et al. (2017). Isso porque os animais foram submetidos ao processo de imunocastração, onde aos 40 dias de alojamento todos receberam a primeira dose da vacina Vivax (Zoetis) e a segunda dose foi aplicada ao 65º dia, conforme recomendação do fabricante.

4.2 Características da enzima testada

A enzima exógena utilizada (protease alcalina EC Code: 3.4.21.14) foi obtida da bactéria *Bacillus licheniformis*, com uma atividade catalítica de 200.000 unidade (U)/g, em que uma U de atividade da protease é definida como a quantidade de enzima que libera 1 µg de tirosina/min a partir do substrato caseína a uma temperatura de 40°C e pH 10,5 nas condições do teste. O pH de trabalho da enzima é de 6,0 a 12,0 (pH ideal de 11,0) e a temperatura de trabalho de 30°C a 65°C (ideal 55°C).

4.3 Desempenho

Os animais receberam as dietas e água à vontade durante todo o ensaio experimental. Ao início e ao final de cada fase, os animais, a dieta fornecida e as sobras foram pesadas. Esses dados brutos foram utilizados para calcular o peso corporal inicial (PCI, kg), peso corporal final (PCF, kg), consumo de ração diário médio (CRDM, kg), ganho de peso corporal diário (GPCD, kg) e a eficiência alimentar (EA, kg/kg) de cada unidade experimental. A dieta fornecida e sobras foram pesadas com o auxílio de uma balança digital (Modelo UL-50, Marca DIGITRON, Curitiba, Brasil) e os animais foram pesados com uma balança digital metálica com duas barras (Modelo ULB-3000, Marca IWM bivolt, Curitiba, Brasil).

4.4 Coleta de sangue e parâmetros sanguíneos analisados

Ao final das fases de crescimento e terminação II, todos os animais foram submetidos à coleta de sangue, após 15 dias do início do fornecimento das dietas experimentais de cada fase. Os animais foram submetidos a jejum alimentar por oito horas, com a alimentação retirada no período da manhã e coleta de sangue realizada no período da tarde (16h00).

As amostras de sangue foram obtidas por meio da punção da veia cava cranial, conforme técnicas descritas pela Embrapa (1997). O sangue foi colhido por meio de seringas de 20 ml e agulhas de calibre 1,20×40 mm. Após a coleta, o sangue foi acondicionado em três tubos de vidro, um contendo anticoagulante heparina, um fluoreto de potássio e outro sem anticoagulante, sendo armazenados em uma caixa térmica com gelo (4°C). Posteriormente, o sangue foi encaminhado ao Laboratório de processamento da Unioeste, onde as amostras sanguíneas foram centrifugadas (centrífuga analógica 80-2B, Centrilab, São Paulo, Brasil) à 3.000g por um período de 10 minutos. Em seguida, aproximadamente 3 ml do sobrenadante presente em cada tubo foi transferido para tubos de polietileno tipo eppendorf identificados anteriormente, armazenados em freezer sob temperatura de -5°C.

Os parâmetros sanguíneos analisados foram ureia (análise em soro, tubo sem anticoagulante; método enzimático-colorimétrico, Cat. 427), albumina (análise em soro, tubo sem anticoagulante; método colorimétrico - verde de bromocresol, Cat. 419), glicose (análise em soro, tubo com fluoreto; método enzimático-colorimétrico, Cat. 434), creatinina quinase (análise em soro, tubo com heparina; CK, método cinético UV, Cat. 458), proteínas totais (análise em soro, tubo sem anticoagulante; PT, método colorimétrico-biureto, Cat. 418), cálcio (análise em soro, tubo com heparina; método colorimétrico-cresolftaleína, Cat. 448) e globulinas (PT:albumina). Todas as análises foram realizadas no laboratório de análises sanguíneas da Unioeste em até 15 dias após a coleta e determinadas por espectrofotometria (modelo Bel SPECTRO S05, marca Bel Engineering, Monza, Itália), usando *kits* comerciais específicos da marca Gold Analisa.

4.5 Digestibilidade aparente dos nutrientes

A coleta de fezes para a análise de digestibilidade parcial foi conduzida ao final das fases de crescimento e terminação II. Um total de 1% de cinza insolúvel em ácido (CIA,

celite™) foi adicionado nas rações experimentais como indicador. As rações para cada tratamento foram homogeneizadas durante 10 minutos em um misturador tipo Y de acordo com as recomendações descritas por Sakomura e Rostagno (2016). Para cada fase, houve três dias de adaptação dos animais às dietas experimentais acrescidas com indicador celite™ e um dia para a coleta parcial de fezes, conforme metodologia adaptada de Kavanagh et al. (2001).

Foram registrados a quantidade no início e ao final do fornecimento das rações contendo o indicador, bem como o consumo total por unidade experimental. As fezes foram coletadas por 12 horas ininterruptas no último dia de fornecimento da ração contendo celite™, após serem excretadas a fim de evitar contaminação. Posteriormente as fezes coletadas foram alocadas em sacos plásticos devidamente identificados, homogeneizadas, e armazenadas em freezer a -20°C até seu processamento. No processamento as fezes foram descongeladas, homogeneizadas, retiradas alíquotas em duplicatas de 140 g cada e pré-secas em estufa de ventilação forçada (Tecnalbrand, SF-325 NM model; Piracicaba, SP, Brazil) a 55°C por um período de 72 horas, conforme determinações contidas em Silva e Queiroz (2009). Após a secagem das fezes foram moídas em moinho do tipo bola (Solab, modelo SL-38; São Paulo, Brasil).

Os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM) e proteína bruta (PB) foram determinados seguindo as metodologias propostas por Silva e Queiroz (2009). A determinação da CIA foi adaptada da metodologia descrita por Van Keulen e Young (1977).

Com base nos resultados brutos obtidos em análise laboratorial foram calculadas a porcentagem de recuperação da CIA e os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de matéria seca (CDAMS), matéria orgânica (CDAMO), proteína bruta (CDAPB) e os nutrientes digestíveis (ND), de acordo com Sakomura e Rostagno (2016).

4.6 Procedimentos de abate, características de carcaça e coleta de amostras

No final do período experimental (88 dias), após jejum alimentar de oito horas, os animais foram enviados para o abate em frigorífico comercial (Frimesa, Medianeira, PR). O embarque no setor de suinocultura, o transporte e o desembarque no frigorífico tiveram duração de aproximadamente quatro horas. Os animais permaneceram em descanso no frigorífico por oito horas antes de serem abatidos. O abate foi realizado em conformidade ao Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Resolução Normativa nº 37, de 15 de fevereiro de

2018), que estabelece os procedimentos de insensibilização para o abate humanitário de animais. Todos os suínos foram previamente submetidos à insensibilização elétrica seguido por sangria, escalda, depilação e evisceração. Após a evisceração, as carcaças foram serradas longitudinalmente ao meio e as duas meias carcaças foram pesadas.

As características quantitativas das carcaças como a espessura de toucinho (ET, mm), a profundidade de lombo (PL, mm), a área de olho de lombo (AOL, cm), o peso de carcaça (PCAR, kg) e a quantidade de carne magra (CM % e Kg) foram mensurados por meio da pistola de tipificação de carcaças suínas, introduzida através da camada de gordura e através dos músculos, até a cavidade corpórea na carcaça ainda quente, a 6 cm da linha dorsal mediana da carcaça, entre a última e a penúltima costela (Hennessy GP4/BP4, Campinas, SP, Brasil).

As carcaças foram refrigeradas por quatro horas em câmara fria (-2°C). Em seguida, as mensurações realizadas na meia carcaça direita foram o comprimento da carcaça, tomado do bordo cranial da sínfese pubiana ao bordocranio-ventral do atlas, com o auxílio de uma fita métrica. Então, seccionando-se a carcaça entre a última vértebra torácica com a primeira lombar, retirou-se, no sentido caudal-cranial, uma amostra de aproximadamente 15 cm do músculo *Longissimus thoracis* para as demais análises em laboratório.

4.7 Qualidade de carne

Para avaliação qualitativa da carcaça foram feitas mantas de 2,5 cm obtidas da amostra de 15 cm de espessura do *longissimus thoracis* na região entre a 8^a e 10^a vértebras para mensuração de gordura intramuscular (marmoreio), perda de água por gotejamento (PAG), descongelamento (PAD) e cocção (PAC), de acordo com Bridi e Silva (2006).

A cor do músculo *l. thoracis* foi mensurada 24 horas após abate, conforme descrito por Bridi e Silva (2006). Na superfície do músculo foram realizadas seis medições de luminosidade, utilizando um colorímetro portátil (CR-400 Konica Minolta's, São Paulo, SP, Brasil) com abertura de 8 mm, iluminação da área (Iluminante C D65) e ângulo de visão de 0°. A refletância da luz foi medida para L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul) expressos no sistema de cor CIELAB.

Para mensuração da variável de escore de marmoreio do músculo *longissimus thoracis* foi usada a tabela de pontuação da *Pork Quality Standards* com escala de dez pontos para marmoreio (1 = desprovida de marmoreio; 10 = abundante marmoreio), como descrito no NPPC

(1999), sendo que apenas um observador, a fim de padronizar, estabeleceu uma pontuação para cada amostra, e posteriormente realizado uma média para cada tratamento.

A avaliação da PAG as amostras foram pesadas (Maxon Mx 111, Brasil) posicionadas em redes plásticas dentro de potes identificados e acondicionadas em refrigeração a 4°C por 48 horas, e então pesadas novamente.

A PAD e PAC se deu pesando (Maxon Mx 111, Brasil) cada amostra, acondicionando-a em sacos plásticos identificados e congelando-as em Freezer (-18°C) (Consul CHB531, Brasil) até análise. O descongelamento das amostras foi realizado durante 24 horas em temperatura de 4°C, tomando-se cuidado para que as amostras não ficassem empilhadas ou pressionando uma à outra. Para a pesagem cada amostra foi levemente enxugada e então pesada. Antes das amostras serem submetidas à cocção, permaneceram 30 minutos em temperatura ambiente. Posteriormente, foi utilizada uma assadeira tipo Grill (Multi grill- Britania 1000w, Brasil) forrada com papel alumínio, evitando que as amostras ficassem marcadas, furado o papel em pontos estratégicos a fim de evitar o acúmulo de água, e aquecida até 170°C. Usou-se sempre o mesmo número de amostras e um representante de cada tratamento por fornada.

As amostras foram assadas sem a adição de qualquer condimento, até que a temperatura interna atingisse 40 °C, então, na sequência, as amostras foram viradas e mantidas no forno até que alcançassem a temperatura interna de 71 °C. Retirou-se as amostras do forno e colocou-as sobre a bancada até que estas atingissem a temperatura ambiente. Na sequência, as amostras foram embaladas e acondicionadas por mais 24 horas a 4°C, e só então, novamente pesadas.

As amostras cozidas do músculo *I. thoracis* foram utilizadas para determinação da força de cisalhamento (g/cm²). Em cada amostra foram retiradas longitudinalmente no sentido das fibras musculares, seis sub amostras no formato cilíndrico (diâmetro de 1,27 mm), conforme recomendações de Bridi e Silva (2006). As análises foram realizadas em texturômetro (Stable Micro Sytem TA-XT/plus, Reino Unido), acoplado com uma *probe Warner-Bratzler shear force* e o *software* (Texture Expert Exponent – Stable Micro Systems, Vienna Court, Reino Unido) no laboratório de carnes da Universidade Federal do Paraná (Medianeira, PR, Brasil).

A mensuração da AOL foi realizada com uma amostra de 2,5 cm do *Longissimus thoracis*, utilizando uma impressora scanner de modelo multifuncional HP (Officejet 4500 Desktop - G510a, São Paulo, Brasil), com auxílio de uma caixa preta para bloquear a iluminação

e obter a imagem digitalizada e um objeto com área conhecida (25 m²). A leitura foi realizada no *Software* (image J 1.53e – Java), conforme recomendado por Bridi e Silva (2006).

4.8 Cálculos e análise estatística

Os CDA de nutrientes foram calculados em função da equação:

$$CDA = 100 - \left\{ \left(\frac{(\% \text{marcador na ração})}{(\% \text{marcador nas fezes})} \times \frac{(\% \text{nutriente na ração})}{(\% \text{nutriente nas fezes})} \right) \times 100 \right\}$$

A PAG (%) foi calculada em função da equação:

$$PAG = 100 - \left(\frac{\text{Peso final da amostra} \times 100}{\text{Peso inicial da amostra}} \right)$$

A PAD (%) foi calculada em função da equação:

$$PAD (\%) = \left(\frac{\text{Peso da amostra congelada} - \text{Peso da amostra descongelada}}{\text{Peso da amostra congelada}} \right) \times 100$$

A PAC (%) foi calculada em função da equação:

$$PAC (\%) = \left(\frac{\text{Peso da amostra} - \text{peso da amostra assada}}{\text{Peso da amostra descongelada}} \right) \times 100$$

As equações para os cálculos de cor de músculo foram feitos com as equações:

$$\text{Croma} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$\text{Tonalidade (h)} = \tan^{-1} \left(\frac{a^*}{b^*} \right)$$

Em que: a* e b* que representam a saturação (croma ou pureza) e a tonalidade (cor ou hue), respectivamente.

Antes de avaliar o resultado da análise de covariância (ANCOVA) e de variância (ANOVA), foi procedida a análise dos resíduos padronizados. Valores maiores ou iguais a três desvios-padrão foram considerados como *outliers*. A normalidade dos erros experimentais para as diversas variáveis foi avaliada previamente utilizando o teste de Shapiro-Wilk.

O modelo estatístico utilizado foi: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta (X_{ij} - \bar{X}_{...}) + \varepsilon_{ij}$, em que Y_{ij} = observação média da variável dependente em cada parcela, medida na i -ésima classe de tratamento e na j -ésima repetição; μ = efeito da média geral; T_i = efeito fixo das classes de tratamento, para $i = (1, 2, 3, 4 \text{ e } 5)$; β = coeficiente de regressão de Y sobre X ; X_{ij} = observação média da covariável peso corporal inicial em cada parcela, medida na i -ésima classe de tratamento e na j -ésima repetição; $\bar{X}_{...}$ = média geral para a covariável X ; ε_{ij} = erro aleatório da parcela associado a cada observação Y_{ij} . Para as demais variáveis, o modelo estatístico utilizado foi o mencionado anteriormente, sem incluir o efeito de covariável.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se dos procedimentos do *software* estatístico *SAS University Edition* (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). Todos os dados foram apresentados como médias com erro padrão da média agrupado. Os efeitos das classes dos tratamentos sobre as variáveis dependentes foram verificados pela ANCOVA ou ANOVA. Quando significativos ($P \leq 0,05$), as comparações entre médias de tratamentos foram realizadas de acordo com a análise de contrastes ortogonais.

Os contrastes estabelecidos foram: A vs B, A vs C, A vs D, D vs E e CN vs CP. Onde $A = CN$; $B = CN + 0,150$; $C = CN + 0,300$; $D = CP$; $E = CP + 0,300$; e CN vs CP = Grupo de dieta A, B, C vs grupo de dieta D e E.

5 Resultados

Foram verificados efeitos das dietas sobre o CRDM, GPCD e a EA para suínos na fase de crescimento II ($P < 0,0001$, $P = 0,039$ e $P = 0,0007$, respectivamente) (Tabela 2). Por meio da análise de contrastes ortogonais, foi observado que os animais do CN tiveram ($P \leq 0,05$) maior EA do que os que consumiram as dietas CN+0,150 e CN+0,300. Os suínos alimentados com a dieta CN+0,300 apresentaram menor GPCD e CRDM. Ainda, os suínos do CP apresentaram ($P \leq 0,05$) maior EA e menor CRDM, em comparação aos animais do CP+0,300.

Não foi verificado efeito ($P > 0,05$) das dietas sobre as variáveis de desempenho nas fases de crescimento I e nas de terminação, embora houve uma tendência ($P = 0,072$) foi observada sobre o GPCD em suínos na fase de terminação II (Tabela 2).

Tabela 2. Desempenho de suínos nas fases de crescimento e terminação alimentados com dietas adicionadas de protease alcalina

Variáveis ¹	Dietas ²					EPM ³	P ⁴	Contrastes P-value ⁵				
	CN	CN + 0,150	CN + 0,300	CP	CP + 0,300			A vs B	A vs C	A vs D	D vs E	CN vs CP
Crescimento I												
PCI (kg)	26,28	26,28	26,27	26,28	26,28	0,20	-	-	-	-	-	-
PCF (kg)	50,75	51,13	49,88	51,88	52,25	0,39	0,178	0,720	0,403	0,281	0,708	0,046
CRDM (kg)	1,61	1,68	1,55	1,60	1,69	0,02	0,247	0,325	0,382	0,845	0,199	0,763
GPCD (kg)	0,94	0,96	0,91	0,98	1,00	0,01	0,176	0,722	0,400	0,282	0,704	0,045
EA (kg:kg)	0,59	0,57	0,59	0,62	0,59	0,01	0,111	0,241	0,922	0,112	0,143	0,025
Crescimento II												
PCF (kg)	72,21	70,64	68,25	71,44	72,29	0,54	0,062	0,314	0,013	0,595	0,593	0,192
CRDM (kg)	2,40	2,59	2,22	2,25	2,44	0,03	0,001	0,015	0,019	0,050	0,013	0,075
GPCD (kg)	1,17	1,12	1,02	1,09	1,08	0,02	0,039	0,229	0,003	0,071	0,814	0,518
EA (kg:kg)	0,49	0,43	0,46	0,48	0,44	0,01	0,001	0,001	0,036	0,609	0,005	0,369
Terminação I												
PCF (kg)	104,81	103,94	101,14	102,69	103,57	7,87	0,787	0,745	0,236	0,432	0,766	0,813
CRDM (kg)	2,85	2,87	2,70	2,65	2,70	0,05	0,433	0,882	0,359	0,195	0,790	0,167
GPCD (kg)	1,34	1,31	1,30	1,25	1,25	0,02	0,655	0,648	0,583	0,200	0,984	0,169
EA (kg:kg)	0,47	0,45	0,48	0,47	0,46	0,01	0,518	0,243	0,571	0,971	0,675	0,981
Terminação II												
PCF (kg)	121,75	121,71	116,79	122,00	122,31	1,15	0,608	0,871	0,199	0,991	0,883	0,421
CRDM (kg)	2,76	3,01	2,95	3,05	2,95	0,06	0,579	0,206	0,282	0,130	0,637	0,382
GPCD (kg)	0,89	0,97	0,91	1,06	1,06	0,03	0,072	0,301	0,732	0,031	0,909	0,011
EA (kg:kg)	0,33	0,33	0,31	0,35	0,36	0,01	0,108	0,973	0,455	0,270	0,513	0,024
Período total												
PCF (kg)	121,75	121,09	116,63	121,75	122,31	1,07	0,428	0,840	0,130	0,998	0,862	0,344
CRDM (kg)	2,36	2,47	2,29	2,35	2,40	0,03	0,441	0,259	0,474	0,895	0,600	0,884
GPCD (kg)	1,09	1,08	1,03	1,09	1,09	0,01	0,428	0,839	0,131	0,999	0,865	0,343
EA (kg:kg)	0,46	0,44	0,45	0,46	0,46	0,01	0,131	0,027	0,219	0,989	0,516	0,149

¹PCI = peso corporal inicial, PCF = peso corporal final, CRDM = consumo de ração diário médio, GPCD = ganho de peso corporal diário, EA = eficiência alimentar.

²CN: controle negativo, com redução de 2 e 1% do conteúdo de proteína bruta (PB) nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, sem adição de enzima, CN + 0,150: CN, com redução de 2 e 1% de PB nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, e adição de 0,150 kg de enzima/t de dieta, CN + 0,300: CN, com redução de 2 e 1% de PB nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, e adição de 0,300 kg de enzima/t de dieta, CP: controle positivo, sem redução de PB e sem adição de enzima, e CP + 0,300: CP, sem redução de PB, com adição de 0,300 kg de enzima/t de dieta. ³Erro padrão da média agrupado; ⁴Nível de significância; ⁵Nível de significância dos contrastes: A = CN, B = CN + 0,150, C = CN + 0,300, D = CP, E = CP + 0,300, CN vs CP: Grupo de dieta A, B, C vs grupo de dieta D e E.

Houve efeito ($P \leq 0,05$) sobre CDAMS, MSD, CDAMO, MOD e PD na fase de crescimento II (Tabela 3). As comparações entre médias de tratamentos testadas por contrastes ortogonais indicaram que animais do tratamento CN apresentaram menor nos CDA e ND quando comparados aos que receberam CN+0,150 e CN+0,3, sugerindo o efeito positivo da protease alcalina testada quando adicionada aos tratamentos CN. Em adição, os suínos que consumiram o tratamento à base de CP tiveram um incremento médio de 17,63% na PD em comparação aos do CN.

Na fase de terminação II, houve diferença ($P \leq 0,05$) sobre MSD, CDAMO, MOD, PD e CDAEB (Tabela 3). Os resultados indicaram que animais do CN tiveram menores CDA e quando comparados aos que receberam CN+0,150 e CN+0,3, exceto sobre a PD. Ademais, os suínos alimentados à base de CP tiveram um incremento médio de 17,50% na PD em comparação aos do CN.

Não houve efeito ($P > 0,05$) de tratamentos sobre os parâmetros sanguíneos na fase de crescimento II (Tabela 4). Entretanto, na fase de terminação II, os suínos do grupo CP +0,300 apresentaram ($P \leq 0,05$) um decréscimo de 27,65% na concentração de albumina em comparação aos com CP. Também, os animais do grupo CP tiveram ($P \leq 0,05$) aumento nas concentrações de PT e globulina em relação àqueles do grupo CN.

Para as características de carcaça (Tabela 5) não foram observadas diferenças ($P \geq 0,05$) para as dietas testadas. Uma diferença foi obtida ($P \leq 0,05$) sobre as variáveis cor e luminosidade do *longissimus thoracis* (Tabela 6). Os suínos que consumiram o tratamento à base de CN e CP+0,300 apresentaram ($P \leq 0,05$) maior luminosidade do *l. thoracis* do que os com CP. Em adição, houve um aumento ($P = 0,006$) na cor do *l. thoracis* em animais alimentados à base de CP quando comparados aos do tratamento CP+0,300.

Tabela 3. Coeficientes de digestibilidade aparente e nutrientes digestíveis de suínos alimentados com dietas adicionadas de protease alcalina

Variáveis (%) ¹	Tratamentos experimentais ²					EPM ³	P ⁴	Contrastes P-value ⁵				
	CN	CN + 0,150	CN + 0,300	CP	CP + 0,300			A vs B	A vs C	A vs D	D vs E	CN vs CP
Crescimento II												
CDAMS	86,97	90,55	89,81	88,57	88,80	0,38	0,029	0,003	0,014	0,157	0,832	0,528
MSD	86,44	90,15	89,36	88,10	88,50	0,39	0,027	0,002	0,014	0,150	0,720	0,583
CDAMO	88,49	91,80	91,24	90,14	90,56	0,37	0,039	0,004	0,014	0,129	0,697	0,748
MOD	73,82	76,76	76,05	75,12	75,72	0,31	0,026	0,002	0,016	0,152	0,497	0,704
CDAPB	85,48	88,53	87,94	88,27	87,32	0,46	0,221	0,037	0,089	0,056	0,506	0,504
PD	12,31	12,76	12,72	14,48	14,31	0,16	0,001	0,048	0,071	0,001	0,434	0,001
PEPB	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,471	0,108	0,586	0,586	0,586	0,586
CDAEB	87,66	88,54	89,28	88,78	88,75	0,39	0,780	0,496	0,209	0,385	0,984	0,747
Terminação II												
CDAMS	87,40	88,47	89,58	88,69	88,73	0,43	0,640	0,447	0,125	0,360	0,977	0,816
MSD	86,52	90,15	89,36	88,10	88,50	0,39	0,034	0,003	0,017	0,173	0,723	0,564
CDAMO	88,16	91,68	91,04	90,07	90,39	0,38	0,035	0,003	0,013	0,092	0,777	0,873
MOD	73,96	76,76	76,05	75,12	75,72	0,31	0,046	0,004	0,027	0,212	0,508	0,654
CDAPB	78,34	78,56	81,68	82,55	81,19	0,83	0,390	0,933	0,210	0,116	0,607	0,149
PD	7,03	7,02	7,34	8,26	8,11	0,11	0,001	0,976	0,215	0,001	0,554	0,001
PEPB	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,749	0,237	0,691	1,000	0,691	0,552
CDAEB	86,8	90,02	89,23	87,87	88,29	0,35	0,029	0,003	0,021	0,293	0,678	0,325

¹CDAMS = coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca, MSD = matéria seca digestível, CDAMO = coeficiente de digestibilidade aparente da matéria orgânica, MOD = matéria orgânica digestível, CDAPB = coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta, PD = proteína digestível, PEPB = perda endógena de proteína bruta, CDAEB = coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta; ²CN: controle negativo, com redução de 2 e 1% do conteúdo de proteína bruta (PB) nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, sem adição de enzima, CN + 0,150: CN, com redução de 2 e 1% de PB nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, e adição de 0,150 kg de enzima/t de dieta, CN + 0,300: CN, com redução de 2 e 1% de PB nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, e adição de 0,300 kg de enzima/t de dieta, CP: controle positivo, sem redução de PB e sem adição de enzima, e CP + 0,300: CP, sem redução de PB, com adição de 0,300 kg de enzima/t de dieta. ³Erro padrão da média agrupado; ⁴Nível de significância; ⁵Nível de significância dos contrastes: A = CN; B = CN + 0,150; C = CN + 0,300; D = CP; E = CP + 0,300, CN vs CP: Grupo de dieta A, B, C vs grupo de dieta D e E.

Tabela 4. Parâmetros sanguíneos de suínos nas fases de crescimento e terminação alimentados com dietas adicionadas de protease alcalina

Variáveis	Dietas ¹					EPM ²	P ³	Contrastes P-value ⁴				
	CN	CN + 0,150	CN + 0,300	CP	CP + 0,300			A vs B	A vs C	A vs D	D vs E	CN vs CP
Crescimento II												
Glicose (mg/dL)	82,39	69,33	93,66	83,2	88,44	2,86	0,080	0,134	0,194	0,925	0,542	0,582
Ureia (mg/dL)	15,70	13,61	11,19	16,24	16,53	0,88	0,275	0,453	0,110	0,844	0,917	0,130
Albumina (g/dL)	3,17	3,29	3,33	3,22	3,21	0,06	0,954	0,591	0,487	0,816	0,938	0,759
Proteína total (g/dL)	4,83	5,47	5,23	5,17	5,56	0,14	0,501	0,155	0,372	0,453	0,371	0,683
Creatina quinase (U/L)	755,2	596,5	1040,9	848,7	736,5	734,9	0,450	0,495	0,239	0,687	0,629	0,930
Cálcio (mg/dL)	8,57	7,30	8,32	7,29	7,72	0,41	0,815	0,345	0,852	0,343	0,749	0,483
Globulina (g/dL)	1,92	2,18	1,90	1,94	2,36	0,14	0,814	0,591	0,476	0,304	0,081	0,024
Terminação II												
Glicose (mg/dL)	84,77	81,77	81,53	83,97	84,76	1,82	0,966	0,630	0,604	0,898	0,896	0,704
Ureia (mg/dL)	16,51	14,01	16,92	15,58	15,94	0,67	0,709	0,255	0,852	0,672	0,871	0,941
Albumina (g/dL)	3,33	3,33	3,71	3,37	2,64	0,12	0,050	0,954	0,268	0,902	0,045	0,166
Proteína total (g/dL)	5,58	5,23	6,44	6,29	6,83	0,18	0,016	0,468	0,092	0,162	0,279	0,035
Creatina quinase (U/L)	1087,2	851,7	1088,5	1026,4	964,9	639,5	0,769	0,266	0,995	0,772	0,770	0,982
Cálcio (mg/dL)	6,71	7,13	7,65	8,23	7,29	0,27	0,482	0,621	0,293	0,085	0,283	0,202
Globulina (g/dL)	2,26	1,89	2,73	2,97	4,19	0,24	0,018	0,590	0,476	0,303	0,080	0,023

¹CN: controle negativo, com redução de 2 e 1% do conteúdo de proteína bruta (PB) nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, sem adição de enzima, CN + 0,150: CN, com redução de 2 e 1% de PB nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, e adição de 0,150 kg de enzima/t de dieta, CN + 0,300: CN, com redução de 2 e 1% de PB nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, e adição de 0,300 kg de enzima/t de dieta, CP: controle positivo, sem redução de PB e sem adição de enzima, e CP + 0,300: CP, sem redução de PB, com adição de 0,300 kg de enzima/t de dieta; ²Erro padrão da média agrupado; ³Nível de significância; ⁴Nível de significância dos contrastes: A = CN, B = CN + 0,150, C = CN + 0,300, D = CP, E = CP + 0,300, CN vs CP: Grupo de dieta A, B, C vs grupo de dieta D e E.

Tabela 5. Características de carcaça de suínos alimentados com dietas adicionadas de protease alcalina

Variáveis ¹	Dietas ²					EPM ³	P ⁴	Contrastes P-value ⁵				
	CN	CN + 0,150	CN + 0,300	CP	CP + 0,300			A vs B	A vs C	A vs D	D vs E	CN vs CP
ET (mm)	15,94	15,83	16,54	16,66	17,00	0,72	0,988	0,963	0,799	0,761	0,903	0,698
AOL (cm ²)	52,30	55,70	52,99	53,95	57,35	0,69	0,147	0,100	0,732	0,395	0,128	0,307
PCAR (kg)	80,65	88,07	85,53	83,50	84,18	0,95	0,121	0,012	0,084	0,285	0,820	0,588
CCAR (cm)	96,76	97,18	95,43	98,64	96,48	0,65	0,593	0,828	0,493	0,314	0,307	0,274
CM (%)	57,40	57,78	57,16	56,88	56,53	0,49	0,960	0,801	0,881	0,746	0,851	0,557
CM (kg)	46,28	50,77	50,16	47,60	47,75	0,80	0,286	0,054	0,110	0,577	0,957	0,413

¹ET= Espessura de toucinho usando uma pistola de tipificação, AOL = área de olho de lombo escaneada, PCAR= Peso de carcaça, CCAR= Comprimento de carcaça, CM = quantidade de carne magra. ²CN: controle negativo, com redução de 2 e 1% do conteúdo de proteína bruta (PB) nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, sem adição de enzima, CN + 0,150: CN, com redução de 2 e 1% de PB nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, e adição de 0,150 kg de enzima/t de dieta, CN + 0,300: CN, com redução de 2 e 1% de PB nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, e adição de 0,300 kg de enzima/t de dieta, CP: controle positivo, sem redução de PB e sem adição de enzima, e CP + 0,300: CP, sem redução de PB, com adição de 0,300 kg de enzima/t de dieta; ³Erro padrão da média agrupado; ⁴Nível de significância; ⁵Nível de significância dos contrastes: A = CN, B = CN + 0,150, C = CN + 0,300, D = CP, E = CP + 0,300, CN vs CP: Grupo de dieta A, B, C vs grupo de dieta D e E.

Tabela 6. Qualidade de carne de suínos alimentados com dietas adicionadas de protease alcalina

Variáveis ¹	Dietas ²					EPM ³	P ⁴	Contrastes P-value ⁵				
	CN	CN + 0,150	CN + 0,300	CP	CP + 0,300			A vs B	A vs C	A vs D	D vs E	CN vs CP
Luminosidade	43,06	42,48	44,16	40,12	43,02	0,44	0,035	0,636	0,367	0,017	0,035	0,015
Croma	9,62	8,51	9,69	8,23	8,80	0,25	0,200	0,139	0,927	0,057	0,481	0,098
Tonalidade	0,72	0,67	0,71	0,72	0,70	0,01	0,318	0,051	0,730	0,835	0,649	0,535
PAG (g)	6,09	6,34	7,32	4,65	6,29	0,53	0,635	0,883	0,465	0,370	0,369	0,230
PAD (g)	5,40	5,63	5,55	4,47	6,12	0,37	0,735	0,842	0,899	0,407	0,197	0,527
PAC (g)	19,07	18,31	18,87	17,56	20,33	0,62	0,765	0,705	0,921	0,431	0,206	0,843
FC (g/cm ²)	5001,7	5117,8	4516,6	4568,3	5111,3	141,30	0,515	0,792	0,276	0,309	0,261	0,668
Escore de marmoreio	3,25	2,83	3,17	2,71	2,20	0,14	0,158	0,316	0,840	0,182	0,255	0,063
Umidade (%)	73,33	73,70	72,62	74,01	73,52	0,16	0,079	0,437	0,134	0,134	0,334	0,054
Matéria mineral (%)	1,31	1,28	1,29	1,25	1,25	0,02	0,704	0,578	0,719	0,203	0,901	0,202
Proteína bruta (%)	21,14	20,17	20,62	20,59	20,52	0,12	0,111	0,009	0,146	0,107	0,864	0,743
Extrato etéreo (%)	3,14	2,72	3,35	2,91	3,30	0,20	0,877	0,514	0,757	0,704	0,580	0,943
Relação PB:EE	7,84	9,00	6,46	7,30	7,59	0,51	0,664	0,471	0,392	0,710	0,853	0,722

¹Temp24h = temperatura do músculo *Longissimus thoracis* 24 horas post-mortem, PAG = perda de água por gotejamento, PAD = perda de água por descongelamento, PAC = perda de água por cocção; ²CN: controle negativo, com redução de 2 e 1% do conteúdo de proteína bruta (PB) nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, sem adição de enzima, CN + 0,150: CN, com redução de 2 e 1% de PB nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, e adição de 0,150 kg de enzima/t de dieta, CN + 0,300: CN, com redução de 2 e 1% de PB nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, e adição de 0,300 kg de enzima/t de dieta, CP: controle positivo, sem redução de PB e sem adição de enzima, e CP + 0,300: CP, sem redução de PB, com adição de 0,300 kg de enzima/t de dieta; ³Erro padrão da média; ⁴Nível de significância; ⁵Nível de significância dos contrastes: A = CN, B = CN + 0,150, C = CN + 0,300, D = CP, E = CP + 0,300, CN vs CP: Grupo de dieta A, B, C vs D e E.

6 Discussão

Constantemente, buscam-se alternativas que permitam reduzir o teor de PB da dieta, sem comprometer o desempenho animal (VIEIRA; STEFANELLO; CEMIN et al., 2016). Como ocorreu no presente estudo, em que as dietas com redução de PB, independente da adição ou não da enzima, não prejudicaram o desempenho dos animais desses grupos. Assim como os achados de Zuo et al. (2015), Tactacan et al. (2016) e Upadhaya, Yun e Kim (2016), que testaram enzimas exógenas como a suplementação de protease isolada, conseguiram promover efeitos benéficos para o desempenho em dietas com redução da PB.

O fato dos 2% e 1% de redução da PB não comprometerem o desempenho na fase de crescimento é explicado pelo balanço proteico positivo em casos em que há redução do conteúdo de PB, ou seja, há redução na excreção de N, com isso, conseqüentemente, o consumo e aproveitamento de N disponível é maior, e mais proteínas são aproveitadas para suportar o desempenho (MAESTÁ et al., 2008; TERZIS et al., 2010; MONTEIRO et al., 2018; PARK et al., 2020). Além disso, o fornecimento das exigências lipídicas e a suplementação de aminoácidos essenciais, proporciona uma eficaz oxidação de aminoácidos no músculo e conversão hepática de aminoácidos glicogênicos em glicose, não prejudicando a disponibilidade dos aminoácidos precursores para a síntese proteica (MAESTÁ et al., 2008; PEREZ PALENCIA; SAMUEL; LEVESQUE, 2021), o que sustenta o crescimento dos animais do tratamento CN.

A adição de protease nas dietas de suínos é uma forma de melhorar a utilização de proteínas. O principal mecanismo da protease dietética é aumentar a hidrólise de proteínas no intestino delgado (OLUKOSI et al., 2015), resultando na liberação de aminoácidos e peptídeos para utilização e absorção pelos suínos (PAYLING et al., 2017). Porém, os fatores nutricionais e os componentes proteicos presentes em dietas podem afetar negativamente a ação da protease e prejudicar as respostas de desempenho (ZUO et al., 2015; ZAWORSKA-ZAKRZEWSKA et al., 2022), o que explica os resultados zootécnicos na fase de crescimento II para as dietas contendo protease alcalina.

Todavia, Chen et al. (2017) relataram resultados favoráveis de desempenho quando adicionada a enzima protease em dietas para suínos em crescimento. Tal fato pode ser relacionado com a qualidade nutricional da fonte proteica testada (sorgo vs farelo de soja). Além disso, os autores supracitados relataram aumento no CRDM para o tratamento contendo sorgo + enzima em comparação aos demais tratamentos, assim como Zaworska-Zakrewska et al. (2022). Este maior CRDM foi observado também no presente estudo, em que os animais na

fase de crescimento II do grupo CN mostraram uma tendência a maior consumo que o grupo CP, relacionado isso à busca do animal para suprir suas exigências nutricionais quando uma dieta deficiente ou ingredientes de menor qualidade são fornecidos (CHOE et al., 2017).

No estudo atual, os animais que receberam o tratamento à base da enzima protease tiveram maior digestibilidade aparente dos nutrientes, como relatado anteriormente (JI et al., 2008; UPADHAYA; YUN; KIM, 2016; ZAWORSKA-ZAKREWSKA et al., 2022), apesar de que este resultado não refletiu em um aumento na disponibilidade de proteína para deposição muscular como reportado também por Selle et al., 2006, mas suportou o desempenho zootécnico na fase de terminação em suínos recebendo protease alcalina na dieta com redução do teor proteico. Esses resultados também estão de acordo aos relatados por Lei et al. (2017).

Outro ponto levantado no estudo de Zuo et al. (2015), que uma maior suplementação de protease na dieta pode melhorar o desenvolvimento dos intestinos e a digestibilidade de proteínas e aumentar a atividade de enzimas como pepsina, amilase e tripsina quando suínos são alimentados com fontes de proteína de baixa digestibilidade. Essa maior digestibilidade dos nutrientes é causada pelo lento desenvolvimento da função digestiva durante o crescimento dos suínos, função esta já madura ou desenvolvida nas fases de finalização, portanto, a eficácia da protease pode estar relacionada, além do seu tipo e nível, com os estágios de crescimento e dieta dos suínos (ZUO et al., 2015).

Porém, a suplementação de enzimas exógenas em dietas pode complementar o sistema digestório degradando nutrientes que são resistentes a enzimas digestivas endógenas (O'DOHERTY; FORDE, 1999; O'SHEA et al., 2014) ou neutralizar fatores antinutricionais como inibidores de enzimas para melhora na digestibilidade dos nutrientes (ZUO et al., 2015). Alguns autores também verificaram que os efeitos negativos dos fatores antinutricionais são evidenciados por danos nas estruturas intestinais e na área de superfície absorptiva e alteração do tempo de trânsito pelo trato gastrointestinal e secreção insuficiente de proteases endógenas (KAMEL et al., 2015). Como resultado, nitrogênio e outros nutrientes não são digeridos.

Entretanto, a variação no intervalo de substratos disponíveis implica na eficácia de uma protease específica (ACAMOVIC, 2001), argumento validado por Min et al. (2019a), em que, ao não encontrarem efeitos benéficos no desempenho com a suplementação de protease, relacionaram à qualidade da dieta basal. Assim como Norgaarda et al. (2019), que ao comparar duas fontes proteicas com maior e menor teor de inibidores proteicos, encontraram melhores CDA para ade pior qualidade. Conseqüentemente, os diferentes perfis nutricionais dos ingredientes usados na formulação podem resultar em um valor de protease inconsistente,

tornando a escolha de uma enzima proteica minuciosa, uma vez que isso dependerá de quais ingredientes estão contidos nos tratamentos (LEE; BEDFORD; WALK, 2018).

Corroborando com tais achados, Cowieson e Roos (2013) relataram que uma porção substancial (47%) da variabilidade no efeito da protease exógena na digestibilidade é explicada pela digestibilidade inerente na dieta controle. Ou seja, quando a digestibilidade inerente na dieta controle foi inferior a 70%, a adição de protease melhorou a digestibilidade em 90% dos casos, com uma melhora média de cerca de 10%. Porém, quando a digestibilidade inerente na dieta controle foi superior a 90%, houve uma melhora na digestibilidade mediada por protease em cerca de 2%.

Upadhaya, Yun e Kim (2016) e Ji et al. (2008) relataram CDAMS e CDAEB maior para o grupo alimentado com a dieta contendo protease, correspondendo ao encontrado no presente estudo, em que os tratamentos CN + protease mostraram maiores CDAMS e CDAEB que o tratamento CN nas fases de crescimento e terminação II, respectivamente.

A melhoria da digestibilidade aparente da dieta suplementada com a enzima é devido à quebra efetiva da molécula de proteína em peptídeos mais utilizáveis permitindo maior aproveitamento do conteúdo nutricional da dieta e da PB fornecida, embora maior PD foi verificada em animais que receberam o tratamento CP. Esse fato é associado à redução de 2% e 1% no teor de PB nas dietas CN para as fases de crescimento e terminação, respectivamente.

Esses achados também são relatados por Cowieson et al. (2016), que sugeriram que esses efeitos são muito substanciais para serem explicados apenas por aumentos na digestibilidade da proteína e, provavelmente, envolvem aumentos na digestibilidade do amido e/ou gordura.

De fato, Cowieson et al. (2016) observaram que a adição de protease a uma dieta à base de trigo e soja resultou em uma redução significativa na concentração de taurina na digesta jejunal, o que é indicativo de uma redução na secreção de bile. Portanto, é possível que a protease exógena melhore a digestibilidade da gordura, interrompendo a matriz de nutrientes da ração e reduza a síntese de ácidos biliares, a secreção e a concentração intestinal de taurina que, por sua vez, promove o desenvolvimento intestinal.

Outro ponto importante a se ressaltar, observado por Cowieson e Ross (2016), é que a aplicação de protease resultou na regulação positiva de claudina 1 e em várias proteínas transportadoras de aminoácidos no jejuno de frangos de corte aos 21 dias, um efeito sugestivo de aumento na integridade das junções impermeáveis no intestino e na capacidade de absorção per si. Esse mecanismo de melhora ainda não está claro, mas pode estar relacionado a melhor disponibilidade de lisina e PB pelo efeito da protease e a bioconversão destas em formas

hidroxiladas para a síntese de colágeno. Outras evidências de apoio do papel da protease exógena na morfologia intestinal são apresentadas por Wang, Guo e Shih (2008) e Zuo et al. (2015), que observaram aumentos significativos na altura das vilosidades e diminuição na profundidade das criptas quando uma protease exógena foi adicionada a dietas à base de milho e soja para leitões recém-desmamados (Zuo et al., 2015).

Há discrepantes resultados sobre os benefícios da suplementação de protease e nem sempre a maior digestibilidade aparente de nutrientes é acompanhada por uma melhora no desempenho de produção (O'SHEA et al., 2014; PEREZ PALENCIA; SAMUEL; LEVESQUE, 2021), o que foi relatado no presente estudo. Essa variação está associada ao tipo de protease utilizada, à dose, ingredientes da ração e interações com outras enzimas (LEE; BEDFORD; WALK, 2018; TORRES-PITARCH et al., 2019). Cowieson e Ross (2016) destacaram a importância da vigilância rotineira da qualidade da matéria-prima para maximizar a consistência e o valor das enzimas exógenas. Além disso, essas observações trazem à tona fatores de relevância que podem alterar a digestibilidade dos aminoácidos (e assim, conseqüentemente, a eficácia da protease exógena no desempenho) diretamente, por exemplo, condicionamento hidrotérmico, granulometria, aditivos zootécnicos alternativos ou fatores indiretos, como espécie, idade do animal, regime de iluminação, densidade de estocagem e estado sanitário.

Em razão do sangue estar amplamente difundido pelo corpo do animal, qualquer distúrbio que ocorra causará alterações no perfil sanguíneo (KOHN; DINNEEN; RUSSEK-COHEN, 2005). Os resultados indicaram que os animais não apresentaram danos renais ou lesões musculares de acordo com os tratamentos, baseado nas concentrações de CK (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008). As alterações encontradas no presente estudo para o perfil sanguíneo foram dentro da normalidade para suínos em fase de crescimento-terminação (EMBRAPA, 1997; KLEM et al., 2010).

As proteínas totais, albumina e globulinas foram analisadas para a determinação de alterações nutricionais como do conteúdo de PB, metabólicas, doenças hepáticas e de perdas proteicas (MESSER, 1995; KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008), esses achados revelaram que animais que consumiram o tratamento CN tiveram uma redução na concentração de PT, o que afetaria negativamente a produção de albumina e de globulina no fígado (FISCHER; MILLER; LEWIS, 2000); entretanto, essa redução de PT refletiu somente em uma menor concentração de globulina nos animais alimentados com CN.

Wang, Lindemann e Estienne (2020) relataram que, ao aumentarem em 3% o nível de PB nas dietas para suínos jovens, as concentrações de albumina sérica foram aumentadas, bem

como uma tendência para maior concentração de PT. No presente estudo, a redução de 1% do teor de PB na dieta afetou negativamente em uma menor concentração de PT e globulinas em animais do grupo CN. Tal achado pode indicar quadros de desidratação ou provável lesão no fígado (KERR, 2003; MIRANDA; ANTUNES, 2011), e deficiência na alimentação (FISCHER; MILLER; LEWIS, 2000; WANG; LINDEMANN; ESTIENE, 2020), já que dietas com menor teor de PB causam diminuição dos níveis proteicos no sangue (DIAS-GONZÁLES; SILVA, 2008).

Em relação aos valores de concentração de albumina reduzidos em animais que receberam CP+0,300, de acordo com Rotter et al. (1994) e Chen et al. (2008), há uma correlação negativa entre a concentração de albumina e globulinas, ou seja, um aumento na concentração de globulinas devido a funções imunes inibe a síntese de albumina no fígado, como mecanismo compensatório para manter constante o nível proteico total. Por outro lado, em quadros de disfunção hepática, a concentração de albumina é menor do que a de globulina (DIAZ-GONZÁLES; SILVA, 2008). Essa relação foi observada em animais do grupo CP, em que concentrações de albumina alteradas refletiram em uma relevante alteração na concentração de globulina.

Em um estudo anterior (DIAZ-GONZÁLES; SILVA, 2008), níveis de albumina reduzidos, juntamente com uma menor concentração de ureia sugeriram deficiência proteica. Embora os valores de concentração de ureia permaneceram inalterados no estudo atual, a ureia foi analisada como um indicador sensível e imediato da ingestão de proteína (DIAZ-GONZÁLES; SILVA, 2008), bem como poderia indicar danos renais (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008). Em discrepância, a enzima protease adicionada em dietas melhorou a utilização proteica devido a menor concentração de ureia sanguínea (SHAHIR et al., 2016; MIN et al., 2019b).

A mioglobina é a proteína que confere a cor característica da carne e a quantidade de mioglobina presente na carne de suínos é afetada, principalmente, pelo grupo muscular avaliado e pela composição nutricional da dieta (BERTOL, 2019). O presente estudo revelou uma alteração da L^* do músculo *longissimus thoracis* devido à enzima protease em animais do tratamento CP. Em relação a L^* , os valores médios para o músculo *l. thoracis* em suínos foram relatados entre 49,05 e 51,31 (SILVEIRA, 1997; BREWER et al., 2001; BERTOL, 2019). Desse modo, os suínos alimentados com o tratamento CP apresentaram valor de L^* inferior aos do CP+ 0,300, que refletiu também em uma carne mais escura.

A diferença dos teores de mioglobina entre os distintos músculos de um mesmo suíno é atribuída ao tipo de fibra muscular presente na musculatura, o que reflete em coloração

diferente entre os músculos. Entretanto, é importante ressaltar que a cor pode variar dentro do mesmo músculo em um pequeno espaço de avaliação, devido a quantidade de mioglobina de um músculo variar em um espaço de um centímetro de distância (LAWRIE; LEDWARD, 2006).

No mais, estudos anteriores não relataram resultados da protease em dietas para suínos sobre os atributos de carcaça e carne (O'SHEA, 2014; CHOE et al., 2017; PEREZ PALENCIA; SAMUEL; LEVESQUE, 2021). Entretanto, a eficácia das proteases em dietas para suínos tem sido associada também em como a enzima é aplicada na dieta (GHAZI; ROOKE; GALBRAITH, 2003), e se o produto é incubado à fonte proteica ou apenas adicionado à dieta com sua ativação somente após a ingestão (PAN et al., 2016). Consequentemente, mais estudos precisam ser realizados para verificar a influência da enzima protease sobre a coloração do músculo *longissimus thoracis* de suínos.

Quando analisados em conjunto, a suplementação de protease pode ter um efeito reduzido em suínos em fase de crescimento e terminação, porque o sistema digestório é mais desenvolvido nestas fases (ZUO et al., 2015) e a maior digestibilidade da PB e aminoácidos pode nem sempre refletir em alterações favoráveis nas demais variáveis, como observado no presente estudo. Consequentemente, os efeitos positivos da enzima protease em dietas para suínos sobre as medidas de resultados pode ser afetados negativamente por fatores dietéticos, metabólicos e fisiológicos (O'SHEA et al., 2014; ZUO et al., 2015; TACTACAN et al., 2016; UPADHAYA; YUN; KIM, 2016; LEE; BEDFORD; WALK, 2018; PEREZ PALENCIA; SAMUEL; LEVESQUE, 2021).

Outro ponto importante é que diferenças na eficácia entre várias proteases exógenas são demonstradas em várias ocasiões e não são fáceis de explicar devido ao detalhe limitado das proteases utilizadas, como informações sobre os organismos de origem, características da proteína, atividade enzimática etc., além de pH e temperatura ideal (COWIESON; ROSS, 2016).

7 Conclusões

A redução de PB na dieta em 2% e 1% (crescimento e terminação, respectivamente), mantendo-se a suplementação de aminoácidos até a valina, não altera desempenho, características sanguíneas e características de carcaça e carne. A adição da enzima protease melhora a digestibilidade para suínos em crescimento e terminação.

8 Referências

- ACAMOVIC, T. Commercial application of enzyme technology for poultry production. **World's Poultry Science Journal**, v.57, n.3, p.225-242, 2001.
- BERTOL, T.M. **Estratégias Nutricionais para melhoria da qualidade da carne suína**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2019. 300p.
- BREWER, M.S.; ZHU, L.G.; BIDNER, B.; MESSINGER, D.J., MCKEITH, F.K. Measuring pork color: effects of bloom time, muscle, pH and relationship to instrumental parameters. **Meat Science**, v.57, n.2, p.169-176, 2001.
- BRIDI, A.M.; SILVA, C.A. **Métodos de avaliação de carcaça e da carne suína**. 1.ed. Londrina: Midiograf, 2006. 120p.
- CHEN, F.; MA, Y.; XUE, C.; MA, J.; XIE, Q.; WANG, G.; BI, Y.; CAO, Y. The combination of deoxynivalenol and zearalenone at permitted feed concentrations causes serious physiological effects in young pigs. **Journal of Veterinary Science**, v.9, n.1, p.39-44, 2008.
- CHEN, H.; ZHANG, S.; PARK, I.; KIM, S.W. Impacts of energy feeds and supplemental protease on growth performance, nutrient digestibility, and gut health of pigs from 18 to 45 kg body weight. **Animal Nutrition Journal**, v.3, n.4, p.359-365, 2017.
- CHOE, J.; KIM, K.S.; KIM, H.B.; PARK, S.; KIM, J.; KIM, S.; SONG, M. Effect of protease on growth performance and carcass characteristics of growing-finishing pigs. **South African Journal of Animal Science**, v.47, n.5, p.697-703, 2017.
- 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, 2014.
- COWIESON, A. J.; ZAEFARIAN, F.; KNAP, I.; RAVINDRAN, V. Interactive effects of dietary protein concentration, a mono-component exogenous protease and ascorbic acid on broiler performance, nutritional status and gut health. **Animal Production Science**, v. 57, n. 6, p. 1058-1068, 2016.
- 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.
- DIAZ GONZÁLEZ, F.H.; SILVA, S.C. **Patologia clínica veterinária: texto introdutório**. 1.ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. 342p.
- EMBRAPA. Colheita e processamento de amostras de sangue em suínos para fins de diagnóstico. 1997. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/433735/colheita-e-processamento-de-amostras-de-sangue-em-suinos-para-fins-de-diagnostico>>. Acesso em: 10 mar. 2022.
- FISCHER, R.; MILLER, P.S.; LEWIS, A.J. The use of plasma urea as an indicator of protein status in growing-finishing pigs. **Nebraska Swine Reports**, v.112, p.29-30, 2000.

- GHAZI, S.; ROOKE, J. A.; GALBRAITH, H. Improvement of the nutritive value of soybean meal by protease and α -galactosidase treatment in broiler cockerels and broiler chicks. **British Poultry Science**, v.44, n.3, p.410-418, 2003.
- Jl, F.; CASPER, D. P.; BROWN, P. K.; SPANGLER, D. A.; HAYDON, K. D.; PETTIGREW, J. E. Effects of dietary supplementation of an enzyme blend on the ileal and fecal digestibility of nutrients in growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.86, n.7, p.1533-1543, 2008.
- KAMEL, N.F.; RAGAA, M.; EL-BANNA, R.A.; MOHAMED, F.F. EFFECTS of a monocomponent protease on performance parameters and protein digestibility in broiler chickens. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 6, p. 216-225, 2015.
- KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (Ed.). Clinical biochemistry of domestic animals. 6.ed. New York: **Academic Press**, 2008. 873p.
- KAVANAGH, S.; LYNCH, P.B.; O'MARA, F.; CAFFREY, P.J. A comparison of total collection and marker technique for the measurement of apparent digestibility of diets for growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.89, n.1-2, p.49-58, 2001.
- KERR, M. **Exames laboratoriais em Medicina Veterinária–Bioquímica Clínica e Hematologia**. 2.ed. Roca: São Paulo, 2003. 582p.
- KLEM, T.B.; BLEKEN, E.; MORBERG, H.; THORESEN, S.I.; FRAMSTAD, T. Hematologic and biochemical reference intervals for Norwegian crossbreed grower pigs. **Veterinary Clinical Pathology**, v.39, n.2, p.221-226, 2010.
- KOHN, R. A.; DINNEEN, M. M.; RUSSEK-COHEN, E. Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficiency of nitrogen utilization in cattle, sheep, goats, horses, pigs, and rats. **Journal of Animal Science**, v.83, n.4, p.879-889, 2005.
- LAWRIE, R.; LEDWARD, D.A. Lawrie's Meat Science. 7.ed. **Boca Raton**, New York: Washington, 2006. 371p.
- LEE, S.A.; BEDFORD, M.R.; WALK, C.L. Meta-analysis: explicit value of mono-component proteases in monogastric diets. **Poultry Science**, v.97, n.6, p.2078-2085, 2018.
- LEE, J. J.; CHOE, J.; KANG, J.; CHO, J.H.; SANGWOO PARK, S.; PEREZ-MALDONADO, R.; CHO, J. Y.; PARK, I.H; KIM, H. B.; AND SONG, M. 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.
- LEI, X.J.; CHEONG, J.Y.; PARK, J.H.; KIM, I.H. Supplementation of protease, alone and in combination with fructooligosaccharide to low protein diet for finishing pigs. **Animal Science Journal**, v.88, n.12, p.1987-1993, 2017.
- MAESTÁ, N.; CYRINO, E.S.; ANGELELI, A.Y.O.; BURINI, R.C. Effect of the dietary protein intake on the muscular gain, nitrogen balance and ^{15}N -glycine kinetics of athletes in resistance training. **Brazilian Journal of Sports Medicine**, v.14, p.215-220, 2008.

- MESSER, N.T. The use of laboratory tests in equine practice. **Veterinary clinics of North America: equine practice**, v.11, n.3, p.345-350, 1995.
- MIRANDA, N.C.; ANTUNES, R.C. Bioquímica sanguínea de duas linhagens suínas. **Horizonte Científico**, v.5, n.1, p.1-12, 2011.
- MIN, Y.; CHOI, Y.; CHOE, J.; KIM, Y.; JEONG, Y.; KIM, D.; SONG, M. Effects of dietary mixture of protease and probiotics on growth performance, blood constituents, and carcass characteristics of growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 61, n. 5, p. 272, 2019a.
- MIN, Y.; CHOI, Y.; KIM, Y.; JEONG, Y.; KIM, D.; KIM, J.; SONG, M. 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, 2019b.
- MONTEIRO, A.N.T.R.; HUEPA, L.M.D.; CASTILHA, L.D.; POZZA, P.C. Protein synthesis in pigs: how do females, non-castrated and castrated males respond to this process? **Pub Vet**, v.12, n.1, p.139, 2018.
- NORGAARD, J.V., MALLA, N., DIONISIO, G., MADSEN, C.K., PETTERSSON, D., LÆRKE, H.N., ... & BRINCH-PEDERSEN, H. Exogenous xylanase or protease for pigs fed barley cultivars with high or low enzyme inhibitors. **Animal feed science and technology**, v. 248, p. 59-66, 2019.
- NPPC. **Pork Quality Standards**. 3.ed. National Pork Production Council, Des Moines, IA. 1999.
- O'DOHERTY, J.V.; FORDE, S. The effect of protease and α -galactosidase supplementation on the nutritive value of peas for growing and finishing pigs. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, p.217-226, 1999.
- O'SHEA, C.J.; MC ALPINE, P.O.; SOLAN, P.; CURRAN, T.; VARLEY, P.F.; WALSH, A.M.; DOHERTY, J.V.O. The effect of protease and xylanase enzymes on growth performance, nutrient digestibility, and manure odour in grower-finisher pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.189, p.88-97, 2014.
- OLUKOSI, O.A.; BEESON, L.A.; ENGLYST, K.; ROMERO, L.F. Effects of exogenous proteases without or with carbohydrases on nutrient digestibility and disappearance of non-starch polysaccharides in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 94, n. 11, p. 2662-2669, 2015.
- PAN, L.; ZHAO, P.F.; YANG, Z.Y.; LONG, S.F.; WANG, H.L.; TIAN, Q.Y.; PIAO, X.S. Effects of coated compound proteases on apparent total tract digestibility of nutrients and apparent ileal digestibility of amino acids for pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.29, n.12, p.1761, 2016.
- PARK, S.; LEE, J.J.; YANG, B.M.; CHO, J.H.; KIM, S.; KANG, J.; SONG, M. 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.

- PAYLING, L.; KIM, I.H.; WALSH, M.C.; KIARIE, E. Effects of a multistrain *Bacillus* spp. direct-fed microbial and protease combination at different doses on apparent ileal and total tract digestibility of nutrients in growing pigs fed corn–soybean meal–based diets—A combined analysis of two studies. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. suppl_2, p. 141-141, 2017.
- PEREZ PALENCIA, J.Y.; SAMUEL, R.S.; LEVESQUE, C.L. Supplementation of protease to low amino acid diets containing superdose level of phytase for wean-to-finish pigs: effects on performance, postweaning intestinal health and carcass characteristics. **Translational Animal Science**, v.5, n.2, 2021.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N.K.; PERAZZO, F.G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M.L.; RODRIGUES, P.B.; OLIVEIRA, R.F.D.; BARRETO, S.L.D.T.; BRITO, A.O. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4ª ed. Viçosa, MG: UFV, 2017. 488 p.
- ROTTER, B.A.; THOMPSON, B.K.; LESSARD, M.; TRENHOLM, H.L.; TRYPHONAS, H. Influence of low-level exposure to *Fusarium* mycotoxins on selected immunological and hematological parameters in young swine. **Toxicological Sciences**, v.23, n.1, p.117-124, 1994.
- SAKOMURA N.K.; ROSTAGNO H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. 2ed. Jaboticabal: Funep, 2016. 262 p.
- SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W.L.; SCOTT, T. Influence of dietary phytate and exogenous phytase on amino acid digestibility in poultry: a review. **The Journal of Poultry Science**, v.43, n.2, p.89-103, 2006.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3ed. Viçosa: UFV, 2009. 235p.
- SILVEIRA, E.T.F. **Técnicas de abate e seus efeitos na qualidade da carne suína**. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 1997. 226f.
- SHAHIR, M. H.; RAHIMI, R.; TAHERI, H. R.; HEIDARINIYA, A.; BARADARAN, N.; ASADI K.Z. Effect of protein source and protease addition on performance, blood metabolites and nutrient digestibility of turkeys fed on low-protein diets from 28 to 55 d post hatch. **British Poultry Science**, v.57, n.3, p.390-396, 2016.
- TACTACAN, G.B.; CHO, S.Y.; CHO, J.H.; KIM, I.H. Performance responses, nutrient digestibility, blood characteristics, and measures of gastrointestinal health in weanling pigs fed protease enzyme. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.29, n.7, p.998, 2016.
- TERZIS, G.; SPENGOS, K.; MASCHER, H.; GEORGIADIS, G.; MANTA, P.; BLOMSTRAND, E. The degree of p70^{S6k} and S6 phosphorylation in human skeletal muscle in response to resistance exercise depends on the training volume. **European journal of Applied Physiology**, v.110, n.4, p.835-843, 2010.

- TORRES-PITARCH, A.; MANZANILLA, E. G.; GARDINER, G.E.; O'DOHERTY, J.V.; LAWLOR, P.G. 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.
- UPADHAYA, S.D.; YUN, H M.; KIM, I.H. Influence of low or high density corn and soybean meal-based diets and protease supplementation on growth performance, apparent digestibility, blood characteristics and noxious gas emission of finishing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.216, p.281-287, 2016.
- VAN KEULEN, J.Y.B.A.; YOUNG, B.A. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. **Journal of Animal Science**, v.44, n.2, p.282-287, 1977.
- VIEIRA, S.L.; STEFANELLO, C.; CEMIN, H.S. Lowering the dietary protein levels by the use of synthetic amino acids and the use of a mono component protease. **Animal Feed Science and Technology**, v.221, p.262-266, 2016.
- ZAWORSKA-ZAKRZEWSKA, Anita et al. The Effects of Protease Supplementation and Faba Bean Extrusion on Growth, Gastrointestinal Tract Physiology and Selected Blood Indices of Weaned Pigs. **Animals**, v. 12, n. 5, p. 563, 2022.
- ZUO, J.; LING, B.; LONG, L.; LI, T.; LAHAYE, L.; YANG, C.; FENG, D. Effect of dietary protease supplementation on growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, digestive enzymes and gene expression of weaned piglets. **Animal Nutrition**. v.1, p.276-282, 2015.
- WANG, Haiying; GUO, Yuming; SHIH, Jason CH. Effects of dietary supplementation of keratinase on growth performance, nitrogen retention and intestinal morphology of broiler chickens fed diets with soybean and cottonseed meals. **Animal feed science and technology**, v. 140, n. 3-4, p. 376-384, 2008.
- WANG, D.; LINDEMANN, M.D.; ESTIENNE, M.J. Effect of folic acid supplementation and dietary protein level on growth performance, serum chemistry and immune response in weanling piglets fed differing concentrations of aflatoxin. **Toxins**, v.12, n.10, p.651, 2020.