

Agentes tróficos na dieta de leitões desmamados sobre a atividade das enzimas digestivas e o desempenho

Trophic agents in the diet of weaned pigs on the activity of the digestive enzymes and the performance

Fernanda Marcussi TUCCI¹; Maria Cristina THOMAZ²; João Martins PIZAURO JÚNIOR²; Melissa Izabel HANNAS³; Antônio João SCANDOLERA⁴; Fábio Enrique Lemos BUDIÑO⁵

¹MAPA, Brasília - DF, Brasil

²Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal - SP, Brasil

³Alltech do Brasil, Curitiba - PR, Brasil

⁴Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PR, Brasil

⁵Instituto de Zootecnia/APTA/SAA, Nova Odessa - SP, Brasil

Resumo

Foi avaliado o efeito da adição de glutamina, ácidos graxos poliinsaturados ou parede celular de levedura à dieta de leitões desmamados sobre a atividade das enzimas pancreáticas (lipase, amilase e tripsina) e da mucosa intestinal (dipeptidase, sacarase e maltase) e sobre o desempenho. Foram utilizados 45 leitões desmamados e distribuídos em delineamento em blocos casualizados, em esquema fatorial, com quatro dietas (T1 - dieta basal (DB); T2 - DB + 1% de glutamina; T3 - DB + 0,2% de parede celular de levedura; T4 - DB + 5% de óleo de peixe) e duas idades de abate (sete e 14 dias pós-desmame). O desempenho foi medido nas duas primeiras semanas pós-desmame. A adição de 1% de glutamina na dieta dos leitões aumentou a atividade específica e total da amilase, e atividade total da tripsina na segunda semana pós-desmame. Os demais aditivos não alteraram a atividade das enzimas digestivas nos leitões. Também foi observado aumento na atividade total da lipase, e atividade específica da tripsina e maltase em função da idade pós-desmame. De modo geral, as atividades das enzimas digestivas estiveram correlacionadas positivamente, com exceção da dipeptidase que não se correlacionou com nenhuma outra enzima. Foi observada correlação positiva entre ganho de peso e atividades da lipase e da amilase. Os aditivos incluídos na dieta não influenciaram o desempenho dos leitões no pós-desmame.

Palavras-chave: Ácidos graxos poliinsaturados. Enzimas pancreáticas. Enzimas de mucosa. Glutamina. Prebiótico

Abstract

It was evaluated the effect of the addition of glutamine, polyunsaturated fatty acids or cellular wall of yeast to the diet of weaned pigs on the activity of the pancreatic enzymes (lipase, amylase and trypsin) and the intestinal mucous membrane (dipeptidase, sucrase and maltase) and on the performance. Forty-five weaned pigs were used and distributed in a randomized block design, in factorial outline, with four diets (T1 - basal diet (BD); T2 - BR + 1% glutamine; T3 - BD + 0,2% cellular wall of yeast; T4 - BD + 5% fish oil) and two slaughter ages (seven and 14 days post weaning). The performance was measured in the first two weeks post-weaning. The addition of 1% glutamine in the diet of pigs increased the specific and total activity of the amylase, and total activity of the trypsin in the second week post weaning. The others supplements not change the activity of the digestive enzymes in the pigs. Also an increase was observed in the total activity of the lipase, and specific activity of the trypsin and maltase in function of the age post-weaning. In general, the activities of the digestive enzymes were correlated positively, except for the dipeptidase that was not correlated with any other enzyme. Positive correlation was observed between weight gain and activity of the lipase and of the amylase. The supplements included in the diet not influence the performance of weaned pigs.

Keywords: Polyunsaturated fatty acids. Pancreatic enzymes. Mucous membrane enzymes. Glutamine. Prebiotic.

Introdução

O consumo de ração dos leitões desmamados precocemente é geralmente muito reduzido e irregular, devido ao conjunto de agentes estressantes a que são submetidos durante o período da desmama, fazendo com que haja diminuição da motilidade do trato gas-

Correspondência para:

Prof. Dr. Fábio Enrique Lemos Budiño

PqC - IV Docente CPG - IZ

Instituto de Zootecnia - APTA/SAA

Nova Odessa - SP - Rua Heitor Pentead, 56

Fone: (19) 3466-9439

e-mail: fbudino@iz.sp.gov.br

Recebido: 11/06/2010

Aprovado: 10/08/2011

trointestinal, com conseqüente redução na taxa de esvaziamento e no consumo de alimento¹.

A ingestão de alimento parece ser um fator de grande importância no desenvolvimento digestivo dos leitões recém-desmamados, superando os efeitos da composição da dieta, idade ao desmame e fornecimento ou não de alimento antes do desmame². Como a produção enzimática é proporcional à quantidade de substrato no trato intestinal, o aumento na ingestão de alimento nesta fase aumenta a quantidade de enzima sintetizada e secretada pelo pâncreas³.

Vários estudos têm demonstrado os efeitos da idade, da composição da dieta e do desmame sobre o desenvolvimento da capacidade digestiva e atividade enzimática em leitões⁴. Tem-se observado aumento na atividade total da quimiotripsina, tripsina, amilase e lipase com o avanço da idade, porém o desmame causa diminuição na atividade destas enzimas⁵.

O tipo de ácido graxo utilizado na dieta dos animais pode interferir na produção das enzimas pancreáticas. Simões-Nunes⁶ observou que leitões desmamados que receberam dieta contendo 21% de óleo de girassol (insaturado) tiveram maior atividade da lipase pancreática do que leitões que receberam dieta com mesmo nível de gordura animal.

Dentre os aditivos que vem sendo utilizados em dietas de leitões encontram-se a glutamina e os prebióticos. A glutamina, além de combustível energético para os enterócitos e as células imunes, é precursora de nucleotídeos, moléculas importantes no desenvolvimento e reparo das células imunes e intestinais, interferindo positivamente na recuperação das vilosidades de leitões na primeira semana pós-desmame^{7,8}. Abreu et al.⁸ observaram que a inclusão de glutamina em ração com soja micronizada, leite desnatado e lactose, melhorou o ganho de peso de leitões em 20%, no período de 21 a 42 dias de idade.

Já o uso de prebióticos pode modificar a microbiota intestinal por meio do fornecimento de nutrientes a bactérias desejáveis ou evitando a colonização por

bactérias patogênicas, resultando em menor incidência de infecções e melhor integridade da mucosa intestinal, tornando-a apta a exercer de maneira mais eficiente suas funções⁹.

Nesse contexto, realizou-se este estudo com o objetivo de avaliar a inclusão de glutamina, ácidos graxos poliinsaturados ou parede celular de levedura (prebiótico) na dieta de leitões desmamados sobre a atividade das enzimas digestivas e o desempenho.

Material e Método

Foram utilizados 45 leitões, desmamados aos 21 dias de idade, com peso médio de $6,17 \pm 0,55$ kg, os quais foram alojados individualmente em gaiolas metálicas suspensas e mantidos em temperatura termoneutra ($26,5 \pm 1,1$ °C). Os animais receberam ração e água à vontade. As dietas experimentais foram: T1 - dieta basal (DB); T2 - DB + 1% de glutamina; T3 - DB + 0,2% de parede celular de levedura; T4 - DB + 5% de óleo de peixe.

A dieta basal foi formulada para atender ou exceder os níveis nutricionais sugeridos pelo NRC¹⁰ e está apresentada na tabela 1. Os aditivos testados (glutamina e prebiótico) foram incluídos em substituição ao inerte (caulim), com exceção do óleo de peixe que foi incluído em substituição ao óleo de soja. A energia metabolizável do óleo de peixe é ligeiramente inferior à do óleo de soja, resultando em uma diferença de 20 kcal de energia /kg de ração, porém os níveis de lipídeos da dieta foram mantidos iguais.

No dia do desmame foram abatidos cinco leitões (controle) e nos dias sete e 14 pós-desmame foram abatidos cinco leitões de cada tratamento. Antes de serem abatidos, os animais passaram por um período de jejum alimentar de 20 horas, sem restrição de água. Logo após o abate, o pâncreas e um segmento da parte média do intestino delgado, de cada animal, foram colhidos e congelados imediatamente em nitrogênio líquido para posterior análise.

Tabela 1 – Composição centesimal e nutricional da dieta basal

Ingredientes	%
Milho	41,99
Farelo de soja 45%	19,00
Leite em pó desnatado	26,00
Açúcar	2,00
Sal	0,50
Calcário calcítico	0,66
Fosfato bicálcico	1,44
Antioxidante	0,01
L-Lisina HCl	0,14
DL-Metionina	0,15
L-Treonina	0,11
Suplemento mineral ¹	0,20
Suplemento vitamínico ²	0,30
Óleo de soja (ou peixe)	5,00
Veículo ³	2,50
Total	100,00
NÍVEIS NUTRICIONAIS – Composição Calculada	
Energia metabolizável (kcal/kg)	3.480
Proteína bruta (%)	21,80
Cálcio (%)	1,01
Fósforo disponível (%)	0,59
Lisina dig. (%)	1,34
Metionina dig. (%)	0,40
Metionina + Cistina dig. (%)	0,79
Treonina dig. (%)	0,80
Triptofano dig. (%)	0,24
Valina dig. (%)	0,90
Isoleucina dig. (%)	0,70
Sódio (%)	0,40

1 - suplemento mineral - Níveis de garantia por kg de ração: Ferro 80 mg, Cobre 70 mg, Manganês 40 mg, Zinco 80 mg, Cobalto 0,72 mg, Iodo 1,68 mg, Selênio 0,24 mg;

2 - suplemento vitamínico – Níveis de garantia por kg de ração: Vit A 12.000 UI, Vit D-3 3.000 U.I, Vit E 30 mg, Vit K-3 9 mg, Vit B₁₂ 27mcg, Vit B₂ 11,4 mg, Biotina 0,12mg, Pantotenato de Cálcio 18 mg, Niacina 42 mg, Colina 300 g;

3 - Os aditivos testados (glutamina e prebiótico) foram incluídos em substituição ao veículo (caulim), com exceção do óleo de peixe que foi incluído em substituição ao óleo de soja.

Para a extração do zimogênio e determinação das atividades enzimáticas, o pâncreas foi descongelado, homogeneizado em homogeneizador tipo Turrax, utilizando-se solução salina 0,9% e Triton X-100 0,1%, numa proporção de 1:20 (peso/volume). O extrato bruto assim obtido foi centrifugado a 14000 g por 30 minutos sob refrigeração a 4 °C, filtrado, armazenado a -70 °C e posteriormente utilizado para a determinação da atividade enzimática da amilase e tripsina. A atividade da lipase foi determinada logo após a obtenção do extrato.

O extrato enzimático das amostras do intestino delgado foi obtido a partir da raspagem com espátula da mucosa do segmento coletado. A mucosa foi pesada e homogeneizada em homogeneizador tipo Potter,

diluída em tampão Tris 2 mM mais manitol 50 mM utilizando uma proporção de 1:15 (peso/volume). O extrato obtido foi centrifugado a 4 °C por 15 minutos a 1000 g.

A atividade da lipase, medida pela quantidade de ácidos graxos formados, foi quantificada por titulometria, segundo o método de Sarda e Desnuelle¹¹. Foi montado um meio de reação com tampão (taurodeoxicolato de Na-27 mM; CaCl₂.2H₂O-100 mM; NaCl - 1,6 M), emulsão de óleo de oliva (SIGMA 800-1) como substrato e tampão Trizma (SIGMA 800.2), na presença de colipase parcialmente purificada. A reação iniciou pela adição do extrato enzimático ao meio de reação e permaneceu em banho-maria sob agitação por 60 minutos a 37 °C e foi interrompida pela adição

de 3,0 mL de etanol. Os frascos foram colocados em gelo e foi feita a dosagem dos ácidos graxos liberados através de titulação com NaOH 0,05 N, utilizando-se timolftaleína como indicador.

A atividade da amilase foi determinada de acordo com o procedimento descrito por Bernfeld¹², por meio da dosagem da quantidade de maltose liberada a partir da hidrólise do substrato (amido) pela enzima presente no extrato bruto do pâncreas. A reação foi iniciada com a adição do substrato ao meio de reação (tampão fosfato 25 mM, pH 6,9, contendo NaCl - 6,85 mM; amido solúvel - 2,0%) e interrompida, após três minutos em banho-maria à 37 °C, pela adição da solução de ácido dinitrosalicílico. Após a interrupção da reação, as amostras foram colocadas em banho-maria em ebulição por cinco minutos, resfriadas e diluídas com 10 mL de água destilada. Após agitação, foi determinada a absorvância à 530 nm, em espectrofotômetro HITACHI U-2000. Os cálculos foram feitos baseados em uma reta padrão de maltose.

Para determinação da atividade da tripsina, foi necessário fazer a ativação do tripsinogênio presente no extrato enzimático do pâncreas por meio de incubação por 30 minutos do extrato enzimático com enteroquinase de suíno (E-0632 SIGMA) na presença de tampão Tris-HCl 0,5 M, pH 8,0, contendo $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,05 M. Após a ativação, a atividade da tripsina foi determinada seguindo a metodologia de Kakade et al.¹³. A reação foi iniciada pela adição de 1,0 mL do substrato (BAPNA), no meio de reação. Após três minutos de incubação a 37 °C, a reação foi interrompida pela adição de 0,20 mL de ácido acético 30%. Após centrifugação, a p-nitroanilida liberada foi determinada em espectrofotômetro HITACHI U-2000 a 410 nm ($\epsilon = 9620/\text{M}/\text{cm}$).

A atividade da dipeptidase da mucosa intestinal foi determinada usando a L-leucilglicine (LEU-GLI) como substrato por ser uma combinação onde apenas um dos aminoácidos (leucina) reage fortemente com a L-aminoácido oxidase, transformando-se em peróxido

de hidrogênio, o qual oxida a o-dianisidine que foi determinada a 530 nm em espectrofotômetro HITACHI U-2000 segundo método de Nicholson e Kim¹⁴. A reação foi iniciada pela adição do extrato enzimático da mucosa intestinal no meio de reação contendo 1,0 mL do reagente LAOR e 0,5 mL do substrato LEU-GLI. Após 20 minutos de incubação a 37 °C, a reação foi interrompida pela adição de 0,74 mL de H_2SO_4 50%, centrifugada por dois minutos em microcentrífuga SPIN I (12000 rpm) a 4 °C e a absorvância determinada a 530 nm.

As atividades da sacarase e maltase foram determinadas por meio da dosagem da glicose liberada na hidrólise dos substratos sacarose e maltose, respectivamente^{15,16}. O substrato, diluído em tampão fosfato 0,25 M, pH 6,5, contendo EDTA 6,25 mM foi adicionado ao extrato enzimático e este meio de reação foi incubado a 37 °C por 60 minutos. A reação foi interrompida com banho-maria em ebulição por dois minutos, depois o meio foi centrifugado em microcentrífuga SPIN I (12000 rpm), por dois minutos a 4 °C. A dosagem da glicose liberada no meio de reação foi feita utilizando-se o "Kit Glicose Enz-Color", onde 20 μL do sobrenadante obtido anteriormente foi adicionado a 2,0 mL do reagente de glicose e incubado a 37 °C por dez minutos, a leitura foi feita a 500 nm.

A unidade de atividade específica das enzimas foi definida como sendo a quantidade de enzima que hidrolisa 1 μmol de substrato por mg de proteína do tecido estudado por minuto. A proteína total do extrato do pâncreas e do extrato da mucosa intestinal foi quantificada pelo método de Hartree¹⁷. A atividade total foi definida como sendo a quantidade de enzima do pâncreas que hidroliza 1 μmol de substrato, por minuto.

O desempenho foi avaliado pelo ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar, que foram mensurados semanalmente. Na primeira semana foram utilizados os dados de 40 leitões e na segunda semana de 20 leitões.

De acordo com o peso inicial, os animais foram distribuídos em blocos, nos quais casualizaram-se os tratamentos num esquema fatorial $4 \times 2 + 1$ (quatro dietas \times duas épocas de abate + um grupo controle), com cinco repetições. Cada unidade experimental foi constituída por um animal. A análise de variância foi realizada por meio do procedimento GLM do SAS¹⁸ com as médias das dietas comparadas pelo teste de Tukey a 5%. O comportamento das variáveis resposta em relação às idades de abate (dias pós-desmame) foi estimado pela análise de regressão linear, testando-se modelos polinomiais (primeiro e segundo graus).

O grau de associação entre o comportamento das variáveis avaliadas foi estabelecido pela análise do coeficiente de correlação linear simples de Pearson.

Resultados e Discussão

Registrou-se interação ($P < 0,05$) entre os efeitos das dietas e dos dias pós-desmame para a atividade total e específica da amilase e atividade total da tripsina. Também foi observado efeito de dias pós-desmame ($P < 0,05$) sobre a atividade específica da tripsina e total da lipase. Não houve efeito ($P > 0,05$) das dietas sobre a atividade da lipase e da tripsina (Tabela 2)

A adição de óleo de peixe ou de prebiótico na dieta de leitões desmamados não alterou a atividade das enzimas pancreáticas estudadas (Tabela 2). O efeito não significativo da adição de óleo de peixe na dieta, sobre a atividade da lipase pancreática está de acordo com os dados apresentados por Gabert et al.¹⁹. Porém, Simões-Nunes⁶ observou aumento na atividade da lipase de leitões que receberam óleo de girassol (insaturado), em relação aos animais que receberam banha (saturada).

Aos sete dias pós-desmame não houve efeito ($P > 0,05$) das dietas estudadas sobre a atividade total da amilase e tripsina e atividade específica da amilase (Tabela 3). Aos 14 dias após o desmame, os animais que receberam dieta basal suplementada com glutamina apresentaram maior ($P < 0,05$) atividade específica da amilase quando comparados aos alimentados com a dieta basal. A atividade total da amilase

Aos sete dias pós-desmame não houve efeito ($P > 0,05$) das dietas estudadas sobre a atividade total da amilase e tripsina e atividade específica da amilase (Tabela 3). Aos 14 dias após o desmame, os animais que receberam dieta basal suplementada com glutamina apresentaram maior ($P < 0,05$) atividade específica da amilase quando comparados aos alimentados com a dieta basal. A atividade total da amilase

Tabela 2 – Médias da atividade específica (U/mg) e total da lipase, amilase e tripsina pancreáticas dos leitões, em função do número de dias pós-desmame e das dietas

	Lipase ¹		Amilase ¹		Tripsina ²	
	U/mg	Total	U/mg	Total	U/mg	Total
Dias pós-desmame						
0	11,4	12,6	53	69	38	43
7	12,1	16,0	89	130	76	103
14	13,5	26,3	188	353	108	209
Dietas						
Dieta basal (DB)	11,9	18,5	90	150	79	127
DB + Glutamina	12,2	19,9	143	275	78	143
DB + Prebiótico	11,7	16,2	104	138	69	100
DB + Óleo Peixe	13,5	18,9	100	156	75	98
Causas de Variação						
Dias pós desmame (DPD)	0,145	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Dieta	0,461	0,534	0,005	0,001	0,745	0,075
DPD \times Dieta	0,641	0,943	0,041	0,001	0,098	0,039
CV %*	26,87	36,20	33,79	37,68	24,76	38,90

¹ U/mg = quantidade de enzima que hidrolisa 1 μ mol de substrato/minuto/mg de proteína; total é a quantidade de enzima que hidrolisa 1 mmol de substrato/minuto;

² U/mg = quantidade de enzima que hidrolisa 1 nmol de substrato/minuto/mg de proteína; total é a quantidade de enzima que hidrolisa 1 μ mol de substrato/minuto;

* CV – coeficiente de variação experimental

Tabela 3 – Interação entre idades e dietas sobre a atividade específica da amilase, amilase total e tripsina total

Amilase (U/mg) ¹					
	Desmame	7 dias pós-desmame	14 dias pós-desmame	Equação Y = atividade X = dias pós-desmame	R ²
Dieta basal (DB)	53	93	134 ^{B*}	Y = 52,33 + 5,82X	0,39
DB + Glutamina	53	121	250 ^A	Y = 43,82 + 14,13X	0,86
DB + Prebiótico	53	81	173 ^{AB}	Y = 46,77 + 6,97X	0,47
DB + Óleo Peixe	53	66	183 ^{AB}	Y = 52,61 – 5,28X + 1,02X ²	0,78
Amilase Total ²					
Dieta basal (DB)	69	154	246 ^{B*}	Y = 68,32 + 12,57X	0,34
DB + Glutamina	69	181	555 ^A	Y = 69,39 – 2,76X + 2,68X ²	0,91
DB + Prebiótico	69	97	265 ^B	Y = 49,96 + 13,63X	0,46
DB + Óleo Peixe	69	92	306 ^B	Y = 69,39 – 8,30X + 1,66X ²	0,72
Tripsina Total ³					
Dieta basal (DB)	43	121	217 ^{AB*}	Y = 44,74 + 10,23X	0,52
DB + Glutamina	43	90	285 ^A	Y = 42,60 – 3,61X + 1,49X ²	0,87
DB + Prebiótico	43	85	169 ^B	Y = 36,07 + 9,35X	0,61
DB + Óleo Peixe	43	109	153 ^B	Y = 46,08 + 7,95X	0,68

¹ U/mg = quantidade de enzima que hidrolisa 1 μmol de substrato/minuto/mg de proteína;

² Total = quantidade de enzima que hidrolisa 1 mmol de substrato/minuto;

³ Total = quantidade de enzima que hidrolisa 1 μmol de substrato/minuto;

* médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem (P > 0,05) pelo teste de Tukey

foi maior (P < 0,05), aos 14 dias pós-desmame, nos leitões que receberam dieta basal suplementada com glutamina e a atividade total da tripsina foi maior (P < 0,05) para os leitões suplementados com glutamina em relação aos suplementados com prebiótico e óleo de peixe. Por outro lado, a adição de glutamina na dieta de frangos de corte não alterou (P > 0,05) a atividade da lipase nem da tripsina aos sete dias de idade²⁰.

Com o avanço da idade após a desmama, foi observado aumento linear (P < 0,05) na atividade específica da amilase nos leitões que receberam dieta basal e dieta basal suplementada com glutamina e prebiótico sendo que a suplementação com glutamina proporcionou a maior taxa de aumento. A suplementação com óleo de peixe resultou em comportamento quadrático (P < 0,05) da atividade específica da amilase. A atividade total da amilase nos leitões que receberam dieta basal e dieta basal suplementada com prebiótico aumentou linearmente com a idade pós-desmame, em taxas semelhantes. Nos animais suplementados

com glutamina e óleo de peixe, a atividade total da amilase apresentou comportamento quadrático, sendo que a suplementação com glutamina apresentou variação mais acentuada com a idade pós-desmame. Os leitões que receberam dieta basal e dieta basal suplementada com prebiótico e óleo de peixe tiveram aumento linear da atividade total da tripsina. Por sua vez, os leitões suplementados com glutamina tiveram resposta quadrática na atividade total da tripsina com a idade pós-desmame.

O aumento registrado na atividade específica e total da amilase e atividade total da tripsina em função da idade dos leitões contrasta com os dados de alguns autores que demonstraram queda na atividade destas enzimas em função do desmame^{3,5,21} ou manutenção dos valores²². Porém, é esperado aumento na atividade da amilase pancreática em função da mudança da dieta à base de leite para uma dieta com alto nível de amido²³.

A atividade total da lipase e específica da tripsina também aumentaram (P < 0,05) em função do nú-

mero de dias pós-desmame, independente das dietas testadas ($Y = 11,82 + 0,85X$, $R^2 = 0,36$; $Y = 38,87 + 5,02X$, $R^2 = 0,67$, respectivamente). Por outro lado, Cera, Mahan e Reinhart²⁴ observaram queda na atividade total da lipase entre o terceiro e sétimo dias pós-desmame, com recuperação dos níveis entre sete e 28 dias pós-desmame. Estes autores também constataram que o efeito da adição de óleo na dieta (6%) só foi detectado aos 28 dias pós-desmame. Possivelmente a atividade da lipase não diminuiu no período pós-desmame em função do alto nível de inclusão de óleo nas dietas experimentais. Lindemann et al.²¹ e Jensen, Jensen e Jakobsen²² também constataram queda na atividade da lipase no tecido pancreático no pós-desmame.

O aumento da atividade específica da tripsina no período pós desmame está de acordo com Jensen, Jensen e Jakobsen²², que detectaram valores baixos para a atividade desta enzima antes do desmame, e aumento desta logo após o desmame. A atividade da tripsina é alterada em função do fornecimento de ra-

ção aos leitões, o que foi evidenciado por Soares²⁵, que observou aumento na atividade desta enzima em leitões lactentes que receberam ração sólida em comparação àqueles que receberam apenas o leite materno.

Não houve interação significativa ($P > 0,05$) entre os efeitos das dietas experimentais e os dias pós-desmame, para as enzimas da mucosa intestinal estudadas, portanto foram considerados os efeitos principais (Tabela 4).

As atividades específicas da dipeptidase e da sacarase não foram influenciadas ($P > 0,05$) pelos aditivos testados, nem pelo número de dias após o desmame (Tabela 4), o que está de acordo com Soto⁵ e Budiño et al.²⁶, os quais não observaram efeito da idade sobre estas enzimas no período pós-desmame. Por outro lado, Marion et al.⁴ observaram valores maiores de atividade da sacarase e maltase no período pós-desmame.

Em relação ao uso de prebióticos, Budiño et al.²⁶ observaram que as atividades específicas da sacarase e maltase aumentaram ($P < 0,05$) em leitões recebendo dieta suplementada com frutoligossacarídeo, sendo maiores aos 14 do que aos sete dias pós-desmame.

Tabela 4 – Atividade específica (U/mg) da dipeptidase, sacarase e maltase da mucosa intestinal dos leitões, em função do número de dias pós-desmame e das dietas

	Dipeptidase	Sacarase	Maltase
	U/mg ¹	U/mg ¹	U/mg ¹
Dias pós-desmame			
0	353	80	118
7	412	71	166
14	315	94	191
Dietas			
Dieta basal (DB)	362	86	168
DB + Glutamina	365	82	174
DB + Prebiótico	336	79	158
DB + Óleo Peixe	368	81	158
Causas de Variação			
Dias pós desmame (DPD)	0,065	0,188	0,005
Dieta	0,888	0,975	0,797
DPD x Dieta	0,932	0,934	0,987
CV %*	34,18	39,74	26,78

1 – U/mg = quantidade de enzima que hidrolisa 1 nmol de substrato/minuto/mg de proteína;

* CV – coeficiente de variação experimental

Foi observado aumento ($P < 0,05$) na atividade específica da maltase em função do número de dias pós-desmame. Kelly, Smyth e Mccracken²⁷, comparando leitões lactentes com leitões desmamados de mesma idade, observaram valores maiores de atividade específica de maltase para os desmamados. Porém, Soto⁵ encontrou valores semelhantes para atividade da maltase no período pós-desmame.

O aumento da atividade específica da maltase pode ser explicado em função do aumento da atividade da amilase pancreática com a idade pós-desmame, que melhorou a digestão do amido da dieta, liberando maior quantidade de maltose no lúmen intestinal, o que estimulou a produção da maltase, resultando em aumento da atividade específica desta em função do número de dias pós-desmame.

Foi observado que, com exceção da atividade específica da lipase, as enzimas pancreáticas estudadas e

a maltase apresentaram correlação positiva entre si. As enzimas de mucosa, com exceção da dipeptidase, também apresentaram correlação positiva entre si. É importante ressaltar que a atividade específica das enzimas pancreáticas foi altamente associada com a atividade total das mesmas (Tabela 5)

Não foi observada correlação ($P > 0,05$) entre as enzimas estudadas e o consumo de ração diário, com exceção da lipase total (Tabela 6). Possivelmente, o consumo de ração não esteve correlacionado com as enzimas digestivas pelo fato de ter sido aplicado um longo período de jejum antes do abate e colheita do pâncreas. Houve correlação positiva ($P < 0,01$) entre o ganho de peso diário e atividade total da lipase e atividades total e específica da amilase. Passillé et al.²⁸ também observaram correlação positiva entre atividade da amilase e ganho de peso em leitões lactentes e não encontraram correlação entre maltase e ganho de peso.

Tabela 5 – Coeficiente de correlação linear simples entre as atividades das enzimas digestivas

	Lipase Específica	Lipase Total	Amilase Específica	Amilase Total	Tripsina Específica	Tripsina Total	Sacarase	Maltase
Lipase Total	0,59**							
Amilase Específica	0,32*	0,71**						
Amilase Total	0,17 ^{ns}	0,75**	0,94**					
Tripsina Específica	0,17 ^{ns}	0,46**	0,66**	0,72**				
Tripsina Total	0,10 ^{ns}	0,69**	0,77**	0,88**	0,87**			
Sacarase	0,26 ^{ns}	0,38*	0,28 ^{ns}	0,23 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,37*		
Maltase	0,23 ^{ns}	0,34*	0,42**	0,35*	0,42**	0,41**	0,77**	
Dipeptidase	0,10 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,25 ^{ns}	-0,02 ^{ns}

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns – não significativo

Tabela 6 – Coeficiente de correlação linear simples entre as atividades das enzimas digestivas e o consumo de ração e ganho de peso no período pós-desmame

	Lipase Espec.	Lipase Total	Amilase Espec.	Amilase Total	Tripsina Espec.	Tripsina Total	Sacarase	Maltase	Dipeptidase
Ganho diário de peso	0,28 ^{ns}	0,76**	0,57**	0,69**	0,14 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,55*
Consumo diário de ração	-0,24 ^{ns}	0,55**	-0,13 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,11 ^{ns}

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns – não significativo

Os aditivos estudados não alteraram ($P > 0,05$) o desempenho dos leitões após o desmame (Tabela 7). Apesar disso, a adição de 1% de glutamina à dieta basal resultou em aumento de 21% do ganho de peso diário e melhora de 23% na conversão alimentar, nas duas primeiras semanas pós-desmame. Esta melhora no desempenho de leitões recebendo glutamina na dieta também foi relatada por Wu, Meier e Knabe⁷, que observaram melhora de 25% na conversão alimentar, na segunda semana pós-desmame.

Essa melhora no ganho de peso diário dos animais, sem ter aumentado o consumo, possivelmente foi resultado de um aumento na atividade da amilase e tripsina pancreáticas dos leitões que receberam suplementação de 1% de glutamina na dieta, melhorando a digestão dos nutrientes.

Conclusões

A inclusão de parede celular de levedura ou óleo de peixe na dieta dos leitões não interfere na atividade específica das enzimas pancreáticas nem nas enzimas de mucosa, porém a adição de glutamina aumenta a atividade da amilase e tripsina. De modo geral, as enzimas pancreáticas e a maltase da mucosa intestinal apresentam suas atividades aumentadas em função da idade pós-desmame.

Os aditivos incluídos na dieta não influenciam o desempenho dos leitões no pós-desmame.

Agradecimento

Projeto financiado pela FAPESP, parte da tese do primeiro autor.

Tabela 7 – Ganho de peso diário (GPD), consumo de ração diário (CRD) e conversão alimentar (CA) dos leitões de acordo com as dietas na primeira semana pós-desmame (1 a 7 dias), na segunda semana pós-desmame (8 a 14 dias) e período total (1 a 14 dias)

Dietas	G P D (kg)			C R D (kg)			C A		
	1 a 7	8 a 14	1 a 14	1 a 7	8 a 14	1 a 14	1 a 7	8 a 14	1 a 14
Dieta Basal (DB)	0,180	0,283	0,224	0,264	0,429	0,357	1,56	2,04	1,72
DB + Glutamina	0,193	0,352	0,272	0,272	0,431	0,345	1,41	1,26	1,32
DB + Prebiótico	0,170	0,269	0,205	0,247	0,375	0,305	1,87	1,50	1,72
DB + Óleo Peixe	0,172	0,285	0,226	0,248	0,394	0,329	1,70	1,65	1,58
Média Geral	0,179	0,297	0,232	0,258	0,407	0,334	1,64	1,61	1,59
CV%	42,47	28,76	23,48	23,22	15,24	14,65	50,08	47,23	16,34
Prob. (teste F)	0,913	0,453	0,298	0,786	0,428	0,406	0,607	0,459	0,101

Referências

- ŠIUGŽDAITĖ, J.; JERŠIÚNAS, A.; STANKEVIČIUS, R.; KULPYS, J. Efficiency of soy protein concentrate in diets of weaned piglets. *Czech Journal of Animal Science*, v. 53, n. 1, p. 9-16, 2008.
- MAKKINK, C. A.; NEGULESCU, G. P.; QIN, G.; VERSTEGEN, M. W. Effect of dietary protein sources on feed intake, growth, pancreatic enzyme activities and jejunal morphology in newly-weaned piglets. *British Journal of Nutrition*, v.72, n. 3, p. 353-368, 1994.
- OWSLEY, W. F.; ORR JR., D. E.; TRIBBLE, L. F. Effects of age and diet on development of the pancreas and the synthesis and secretion of pancreatic enzymes in the young pig. *Journal of Animal Science*, v. 63, p. 497-504, 1986.
- MARION, J.; PETERSEN, Y. M.; ROMÉ, V.; THOMAS, F.; SANGILD, P. T.; LE DIVIDICH, J.; LE HUËROU-LURON, I. Early weaning stimulates intestinal brush border enzyme activities in piglets, mainly at the posttranscriptional level. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, v. 41, n. 4, p. 401-410, 2005.
- SOTO, W. L. C. **Digestibilidade da levedura desidratada e efeitos da sua utilização sobre a morfologia intestinal, atividade das enzimas digestivas e desempenho de suínos.** 1999. 82 p. Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.
- SIMÕES-NUNES, C. Adaptation of pancreatic lipase to the amount and nature of dietary lipids in the growing pig. *Reproduction Nutrition Development*, v. 26, p. 1273-1280, 1986.
- WU, G.; MEIER, S. A.; KNABE, D. A. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. *Journal of Nutrition*, v. 126, p. 2578-2584, 1996.

8. ABREU, M. L. T. de; DONZELE, J. L.; SARAIVA, A.; OLIVEIRA, R. F. M. de; FORTES, E. I.; GRAÑA, G. L. Glutamina, nucleotídeos e plasma suíno em rações para leitões desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 3, p. 520-525, 2010.
9. IJI, P. A.; TIVEY, D. R. Natural and synthetic oligosaccharides in broiler chicken diets. **World's Poultry Science Journal**, v. 54, p. 129-143, 1998.
10. NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of swine**. 10. ed. Washington D.C.: National Academy of Sciences, 1998.
11. SARDA, L.; DESNUELLE, P. Action de la lipase pancréatique sur les esters en émulsion. **Biochemistry Biophys Acta**, v. 30, p. 513-521, 1958.
12. BERNFELD, P. Amylases α and β . In: COLOWICK, S. B.; KAPLAN, N. O. (Ed.). **Methods in enzymology**. New York: Academy Press, 1955. v. 1, p. 149-153.
13. KAKADE, M. L.; RACKIS, J. J.; MCGHEE, J. E.; PUSKI, G. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products. A collaborative analysis of an improved procedure. **Cereal Chemistry**, v. 51, p. 376-382, 1974.
14. NICHOLSON, J. A.; KIM, Y. S. A one-step L-amino acid oxidase assay for intestinal peptide hydrolase activity. **Analytical Biochemistry**, v. 63, p. 110-117, 1975.
15. DAHLQVIST, A. Method for assay of intestinal disaccharidases. **Analytical Biochemistry**, v. 7, n. 1, p. 18-25, 1964.
16. KIDDER, D. E.; MANNERS, M. J. The level and distribution of carbohydrases in the small intestine mucosa of pig from 3 weeks of age to maturity. **British Journal of Nutrition**, v. 43, n. 2, p. 141-153, 1980.
17. HARTREE, E. F. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. **Analytical Biochemistry**, v. 48, p. 422-427, 1972.
18. SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS user's guide: statistics**. Release 6. 12. ed. Cary, North Caroline: SAS Institute Inc., 1993. 956 p.
19. GABERT, V. M.; JENSEN, M. S.; JØRGENSEN, H.; ENGBERG, R. M.; JENSEN, S. K. Exocrine pancreatic secretion in growing pigs fed diets containing fish oil, rapeseed oil or coconut oil. **Journal of Nutrition**, v. 126, n. 9, p. 2076-2082, 1996.
20. MAIORKA, A. **Efeitos da idade da matriz, do jejum, da energia da ração e da glutamina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pintos de corte**. 2002. 103 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.
21. LINDEMANN, M. D.; CORNELIUS, S. G.; EL KANDELGY, S. M.; OSER, R. L.; PETTIGREW, J. E. Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme levels in the piglet. **Journal of Animal Science**, v. 62, p. 1298-1307, 1986.
22. ENSEN, M. S.; JENSEN, S. K.; JAKOBSEN, K. Development of digestive enzymes in pigs with emphasis on lipolytic activity in the stomach and pancreas. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 437-445, 1997.
23. KNUDSEN, K. E. B.; JØRGENSEN, H. Intestinal degradation of dietary carbohydrates - from birth to maturity. In: DIGESTIVE PHYSIOLOGY OF PIGS, 8., 2001, Uppsala. **Proceedings...** Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, 2001. p. 109-120.
24. CERA, K. R.; MAHAN, D. C.; REINHART, G. A. Effect of weaning, week postweaning and diet composition on pancreatic and small intestinal luminal lipase response in young swine. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 384-391, 1990.
25. SOARES, J. M. **Perfil enzimático de tripsina e quimotripsina do pâncreas e do quimo de leitões do nascimento aos 35 dias de idade**. 1995. 43 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1995.
26. BUDIÑO, F. E. L.; THOMAZ, M. C.; KRONKA, R. N.; PIZAURRO JÚNIOR, J. M.; SANTANA, A. E.; TUCCI, F. M.; FRAGA, A. L.; SCANDOLERA, A. J.; ROBLES-HUAYNATE, R. A. Influência da adição de probiótico e/ou prebiótico em dietas de leitões desmamados sobre as atividades das enzimas digestivas e parâmetros sanguíneos. **Acta Scientiarum**, v. 26, n. 4, p. 529-536, 2004.
27. KELLY, D.; SMYTH, J. A.; McCRAKEN, K. J. Digestive development of the early-weaned pig. **British Journal of Nutrition**, v. 65, p. 169-180, 1991.
28. PASSILLÉ, A. M. B.; PELLETIER, G.; MÉNARD, J.; MORISSET, J. Relationships of weight gain and behavior to digestive organ weight and enzyme activities in piglets. **Journal of Animal Science**, v. 67, p. 2921-2929, 1989.