

Consumo e metabólitos sanguíneos de cabritos alimentados com enzimas exógenas na dieta

Ana Beatriz Inácio de Freitas¹, Lucas Eduardo Gonçalves Vilaça², Marco Túlio Santos Siqueira³, Karla Alves Oliveira⁴, Luciano Fernandes Sousa⁵ Gilberto de Lima Macedo Júnior⁶

DOI: <https://doi.org/10.35699/2447-6218.2023.44725>

Resumo

O uso de enzimas exógenas é uma biotecnologia utilizada para otimizar a produção de ruminantes, através da melhora da digestibilidade e degradabilidade ruminal da fibra, do amido e da proteína presentes nos mais diversos alimentos. Objetivou-se avaliar o efeito de enzimas exógenas fornecidas como aditivo em ração para caprinos sobre o consumo e metabólitos sanguíneos. Foram utilizados 21 cabritos mestiços $\frac{1}{2}$ Anglo Nubiano x $\frac{1}{2}$ Saanen, com idade média de 2 meses, pesando em média 16,77 kg. Estes animais foram alojados em baias coletivas, distribuídos em quatro tratamentos: Controle (sem nenhuma adição de enzima); Amaize[®] (enzima amilolítica); Ilzyme[®] (mix de enzimas) e Fibrozyme[®] (enzima fibrolítica). Foram avaliados o consumo de matéria seca (CMS) e concentração sanguínea dos metabólitos energéticos, enzimáticos e proteicos. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com medidas repetidas ao tempo. As médias dos tratamentos foram avaliadas pelo teste SNK ao nível de significância de 5% e os períodos por análise de regressão dos efeitos lineares e quadráticos à 5% de significância. Os animais apresentaram aumento exponencial do CMS ao longo do período. Houve interação entre tratamento e período experimental para glicose, lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL), relações LDL/HDL e CT/HDL, ácido úrico e creatinina. Houve efeito do período para colesterol, gama glutamiltransferase (GGT), albumina, ureia e proteínas totais. As elevações dos valores de metabólitos energéticos e proteicos podem ser explicadas pela maior degradação dos alimentos proporcionado pelas enzimas, gerando maior energia disponível aos animais. Apesar das alterações nos valores quanto ao recomendado para espécie, não foram evidenciadas injúrias quando avaliado o perfil enzimático dos animais. A utilização de enzimas exógenas Amaize[®], Allzyme[®] e Fibrozyme[®] favoreceram a degradação de carboidratos, possibilitando maior status nutricional aos animais demonstrado pelos valores elevados de metabólitos energéticos e proteicos.

Palavras-chave: Aditivo. Amilolítica. *Capra aegagrus hircus*. Fibrolítica. Proteolítica.

¹Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Medicina Veterinária, Zootecnista. Uberlândia, MG. Brasil.

<https://orcid.org/0000-0002-0388-9197>

²Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Medicina Veterinária, Discente do curso de Zootecnia. Uberlândia, MG. Brasil.

<https://orcid.org/0000-0002-4901-4775>

³Universidade Federal de Lavras, Discente do curso de Mestrado – Programa de Pós Graduação em Zootecnia. Lavras, MG. Brasil.

<https://orcid.org/0000-0002-2098-8568>

⁴Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP Discente do curso de Doutorado – Programa de Pós Graduação em Zootecnia. Jaboticabal, SP. Brasil.

<https://orcid.org/0000-0002-7792-2615>

⁵Universidade Federal do Norte do Tocantins, Faculdade de Medicina Veterinária, Docente do curso de Zootecnia. Araguaína, TO. Brasil.

<https://orcid.org/0000-0002-6072-9237>

⁶Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Medicina Veterinária, Docente do curso de Zootecnia. Uberlândia, MG. Brasil.

<https://orcid.org/0000-0001-5781-7917>

*Autor para correspondência: gilberto.macedo@ufu.br

Recebido para publicação em 16 de fevereiro de 2023. Aceito para publicação em 04 de março de 2023
e-ISSN: 2447-6218.



Caderno de Ciências Agrárias está licenciado
com uma **Licença Creative Commons**
Atribuição - Não Comercial 4.0 Internacional

Intake and blood metabolites of kids fed with exogenous enzymes in the diet

Abstract

The use of exogenous enzymes is a biotechnology used to optimize the production of ruminants, by improving the ruminal digestibility and degradability of fiber, starch and protein present in the most diverse foods. The objective was to evaluate the effect of exogenous enzymes supplied as an additive in goat feed on consumption and blood metabolites. Twenty-one crossbred kids $\frac{1}{2}$ Anglo Nubian x $\frac{1}{2}$ Saanen, with an average age of 2 months, weighing an average of 16.77 kg were used. These animals were housed in collective pens, divided into four treatments: Control (without any addition of enzyme); Amaize® (amylolytic enzyme); Allzyme® (enzyme mix) and Fibrozyme® (fibrolytic enzyme). Dry matter intake (DMI) and blood concentration of energetic, enzymatic and protein metabolites were evaluated. The design used was completely randomized with repeated measures over time. Treatment means were evaluated by the SNK test at a significance level of 5% and periods by regression analysis of linear and quadratic effects at a significance level of 5%. The animals showed an exponential increase in DMI over the period. There was interaction between treatment and experimental period for glucose, low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), LDL/HDL and TC/HDL ratios, uric acid and creatinine. There was an effect of the period for cholesterol, gamma glutamyltransferase (GGT), albumin, urea and total proteins. The increases in the values of energy and protein metabolites can be explained by the greater degradation of food provided by the enzymes, generating more energy available to the animals. Despite the changes in values as recommended for the species, injuries were not evidenced when evaluating the enzymatic profile of the animals. The use of exogenous enzymes Amaize®, Allzyme® and Fibrozyme® favored the degradation of carbohydrates, allowing greater nutritional status for the animals demonstrated by the high values of energy and protein metabolites.

Key words: Additive. Amylolytic. *Capra aegagrus hircus*. Fibrolytic. Proteolytic.

INTRODUÇÃO

As enzimas são moléculas, que atuam como catalisadores biológicos, aumentando a velocidade de reações químicas e por consequência melhorando o metabolismo (Coelho et al., 2008). Na alimentação animal as enzimas são usadas para otimizar a digestibilidade e a degradabilidade ruminal de fibras, proteínas e amido, potencializando a produção de rebanhos e diminuindo os custos de produção através da redução da quantidade de insumos obtido pela melhora do aproveitamento dos nutrientes da dieta (Krause et al., 2003).

Enzimas amilolíticas atuam aumentando a digestibilidade do amido no ambiente ruminal (Neiva et al., 2022). Já enzimas fibrolíticas atuam melhorando a degradabilidade da parede celular vegetal, ocasionando maior aproveitamento da parte fibrosa do alimento (Beauchemin et al., 2004), enquanto que enzimas proteolíticas atuam na quebra da matriz proteica, aumentando a ação dos microrganismos ruminais (Neiva et al., 2022).

Visto que a digestão da fibra no rúmen é um dos fatores que mais limitam a produção dos animais ruminantes, a utilização de enzimas fibrolíticas vem ganhando destaque na área. No entanto, apesar de sua maior utilização, em caprinos há poucos estudos evidenciando os ganhos produtivos de seu emprego. Além disso, caprinos são mais seletivos, possuem maior consumo (Kp) e menor digestibilidade de nutrientes, quando comparados a bovinos e ovinos, podendo estes fatores influenciarem de forma distinta a ação das enzimas nestes animais. Desta forma, trabalhos que avaliem a forma de aplicação destes aditivos bem como seus efeitos sobre o desempenho

produtivo e metabólico dos animais são cada vez mais necessários, pois acredita-se que o uso de enzimas exógenas possa promover melhoras nos parâmetros produtivos e metabólicos de caprinos.

Diante disto, objetivou-se avaliar o consumo e perfil metabólico de caprinos em desenvolvimento alimentados com três tipos de enzimas exógenas (amilolíticas, fibrolíticas e mix de enzimas) como aditivos na ração.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Fazenda Experimental Capim Branco, localizada no município de Uberlândia, Minas Gerais. O período de realização foi de 21 de agosto de 2018 a 14 de novembro do mesmo ano, totalizando 85 dias de estudo sem adaptação prévia dos animais à dieta experimental. O protocolo experimental deste trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da UFU sob o número 093/16.

Foram utilizados 20 cabritos mestiços, $\frac{1}{2}$ Anglo Nubiano x $\frac{1}{2}$ Saanen, recém-desmamados com idade média de 2 meses. Estes foram divididos em quatro baias coletivas de aproximadamente 20 m² dispostas em galpão de alvenaria, providas de comedouro externo, bebedouro, saleiro e piso ripado suspenso.

A alimentação era composta por silagem de milho e concentrados que diferiam quanto à inclusão de enzima exógena. Além disso os animais possuíam acesso à água e sal mineral ad libitum. Os tratamentos consistiram

em: Controle (sem adição de enzima), Allzyme® (mix de enzimas), Fibrozyme® (enzima fibrolítica) e Amaize® (enzima amilolítica). As dosagens utilizadas foram fornecidas pela fabricante (Alltech®) (tabela 1).

Tabela 1 – Composição das enzimas exógenas segundo o fabricante Alltech®

Composição	Allzyme®	Amaize®	Fibrozyme®
Pectinase	Min. 4000 u*/g	-	-
Protease	Min. 700 u*/g	-	-
Fitase	Min. 300 u*/g	-	-
Betaglucanase	Min. 200 u*/g	-	-
Xilanase	Min. 100 u*/g	-	Min. 100 XU* ² /g
Celulase	Min. 40 u*/g	-	-
Amilase	Min. 30 u*/g	Min. 600 FAU* ¹ /g	-

*Uma unidade de atividade enzimática equivalente à quantidade de enzima que dextriniza 1 grama de substrato solúvel por minuto, a pH 4,8 e 30°C; *¹ Uma unidade de atividade enzimática alfa-amilase equivalente a quantidade de enzima que dextriniza 1 grama de amido solúvel por minuto, a pH 4,8 e 30°C; *²Uma unidade de atividade enzimática xilanase equivalente à quantidade de enzima que libera 1 micromol de xilose por minuto a partir de xilano a pH 5,3 e 50°C.

As dietas foram formuladas de acordo com Nacional Research Council (NRC) (2007) para um ganho médio diário de 200g por cabrito por dia. A composição

de ingredientes em função dos tratamentos, a composição do sal mineral e a composição química das rações e da silagem encontram-se na tabela 2.

Tabela 2 – Composição percentual e química do concentrado, composição do sal mineral e composição química da silagem de milho

Ingredientes	Controle	Allzyme®	Amaize®	Fibrozyme®	
Composição percentual					
Farelo de milho	80,0%	80,0%	80,0%	80,0%	
Farelo de soja	15,0%	15,0%	15,0%	15,0%	
Sal mineral	3,0%	3,0%	3,0%	3,0%	
Ureia	2,0%	2,0%	2,0%	2,0%	
Enzimas*	-	150g	150g	180g	
Adsorvente**	400g	400g	400g	400g	
Composição do Sal Mineral g/Kg					
Cálcio (mín./máx.)	157,00/212,47 g	Magnésio (mín.)	21,60 mg		
Fósforo (mín.)	65,00 g	Zinco (mín.)	3600,00 mg		
Enxofre (mín.)	18,00 g	Cobalto (mín.)	64,80 mg		
Sódio (mín.)	117,00 g	Iodo (mín.)	14,40 mg		
Manganês (mín.)	2160,0 mg	Selênio (mín.)	18,00 mg		
Composição bromatológica dos concentrados e da silagem					
Fração	Silagem	Controle	Allzyme®	Fibrozyme®	Amaize®
MS %	38,40	79,60	78,08	78,00	77,12
PB %	7,36	16,30	18,15	16,53	17,62

*Dados fornecidos pelo fabricante para uma mistura total de 200 kg de concentrado. **O produto utilizado foi o Mycosorb®, Alltech®. MS: matéria seca; PB: proteína bruta.

A ração ofertada aos animais foi composta de 70% de concentrado e 30% de volumoso (silagem de milho). O arraçoamento ocorreu todos os dias em dois períodos, às 08h00 e às 16h00. A cada sete dias os animais foram pesados para ajuste no fornecimento da ração em função de 10% de sobras no cocho.

Diariamente eram mensurados e amostrados os alimentos ofertados e as sobras em balança eletrônica com precisão de cinco gramas. Foi feita uma amostra composta a partir das amostras simples, para cada baia durante os períodos de coleta. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e armazenadas em congelador a -15°C. Ao final do ensaio, as amostras foram descongeladas e homogeneizadas, sendo retirada amostra de 20% do total para posteriores análises laboratoriais.

As amostras de alimento e sobras foram secas em estufas com ventilação forçada de ar a 55°C por 72 horas, processadas em moinho de facas tipo Wiley, em peneira de um milímetro e armazenadas em potes plásticos identificados. Foram então analisadas segundo os procedimentos analíticos padrão do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Zootecnia (INCT-CA) (Detmann et al., 2012) quanto ao teor de matéria seca (MS; método INCT-CA G-003/1) e proteína bruta (PB; método INCT-CA N-001/1).

Posteriormente calculou-se o consumo de nutrientes através da equação (Eq. 1) proposta por Maynard et al. (1984):

$$CN = (Cons \times \% Cons) - (Sob \times \% Sob) \quad (Eq. 1)$$

Sendo CN = consumo do nutriente (kg); Cons = quantidade de alimento consumido (kg); % cons = teor do nutriente no alimento fornecido (%); Sob = quantidade de sobra retirada (kg); % sob = teor do nutriente nas sobras (%).

As colheitas de sangue foram feitas a cada 21 dias dentro do período experimental. As colheitas sempre aconteciam antes da primeira alimentação.

Para a avaliação glicêmica a primeira colheita foi feita às 08h00 (antes da primeira refeição), 11h00, 14h00, 17h00 e às 20h00. No dia da avaliação glicêmica a segunda refeição somente foi ofertada após a colheita das 20h00. As amostras foram colhidas por venopunção da jugular com auxílio de tubos Vacutainer® (BD, São Paulo, São Paulo, Brasil) de cinco mL contendo fluoreto e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), sendo devidamente identificados para cada animal.

Para avaliação dos componentes bioquímicos foram feitas colheitas de sangue por venopunção da jugular com auxílio de tubos Vacutainer® sem anticoagulante.

As análises bioquímicas das amostras de sangue coletadas foram centrifugadas a 3200 rotações por minuto por 15 minutos, sendo os soros separados em alíquotas, guardados em micro tubos plásticos estéreis Eppendorf

de 1,5mL previamente identificados e armazenados em freezer a -20°C para posterior análise laboratorial. Todas as amostras foram processadas em analisador automático de bioquímica e turbidimetria PKL® 125 (MH Lab., São Paulo, São Paulo, Brasil), pelo método de colorimetria fotoelétrica usando kit comercial da Lab Test Diagnóstica S.A.® (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil).

Os componentes bioquímicos para determinação do metabolismo energético foram: frutossamina, triglicerídeos, colesterol e lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) calculado através da fórmula proposta por Friedewald et al. (1972): $VLDL = \text{triglicerídeos} \div 5$ e as relações LDL/HDL e colesterol total (CT)/HDL. Para determinação do metabolismo proteico foram: proteína total, ureia, albumina, ácido úrico e creatinina. E para determinação do metabolismo hepático foram avaliadas as enzimas aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamiltransferase (GGT).

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado seguindo o modelo:

$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + (T \times P)_{ij} + e_{ijk}$; em que Y é a observação, é a média geral, T_i é o efeito fixo do tratamento (Controle, Amaize®, Allzyme® e Fibrozyme®), P_j é o efeito fixo de período experimental, $(T \times P)_{ij}$ é a interação tratamento e período e e_{ijk} é o erro aleatório.

Cada tratamento dispôs de cinco repetições. Todos os dados foram testados quanto à normalidade (Shapiro & Wilk, 1965) e homoscedasticidade (Levene, 1960) de variância do resíduo. Aceitos estes pressupostos os dados foram submetidos à análise variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste SNK (Student-Newman-Keuls) com nível de significância de 5% para o erro tipo I. Para o período foi utilizado estudo de regressão com nível de significância de 5% para o erro tipo I. A variável consumo de matéria seca foi avaliada por estatística descritiva entre os tratamentos. A variável glicemia (horário de colheita) foi avaliada como parcela subdividida, onde nas parcelas tinham-se os tratamentos e nas subparcelas os horários de colheita (08h00, 11h00, 14h00, 17h00 e 20h00). Foi considerada tendência significativa o P valor maior que 0,05 e menor que 0,10.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

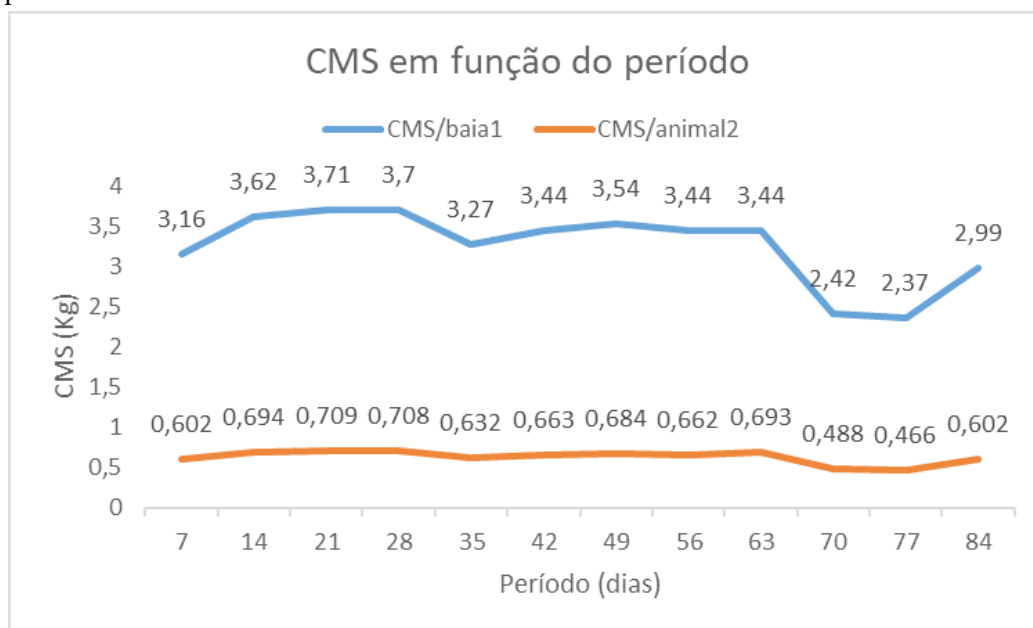
O consumo de matéria seca foi similar entre os tratamentos. Com média geral de ingestão de 0,63 kg de MS animal-1 dia-1, o consumo se mostra adequado para a espécie segundo recomendações do NRC (2007), que traz indicações de CMS ideal de 0,65 kg de MS animal-1 dia-1 para caprinos em crescimento com ganhos de até 200 g dia-1. Portanto, independente do uso de enzimas exógenas o CMS esteve dentro do recomendado para a categoria.

Como a dieta é constituída por 70% de concentrado (na qual 80% é farelo de milho) e 30% de silagem de milho (que possui em média 25% de amido, de acordo com Valadares Filho, 2006), os tratamentos Amaize® e Fibrozyme®, se apresentaram superiores numericamente aos demais tratamentos, ambos com valores acima do recomendado pelo NRC (2007) (3,08% e 1,53%, respectivamente).

Houve efeito quadrático sobre o CMS por baia e animal ($P < 0,05$) demonstrado pelo aumento constante da ingestão de alimento nos primeiros 60 dias de estudo,

seguidos de um decréscimo após este período (figura 1). O aumento gradativo do CMS é explicado pela fase de crescimento dos animais. Tal aumento ocorreu durante o período de 60 a 120 dias de vida dos cabritos, aproximadamente, fase em que estes passam pelo desenvolvimento corporal (ósseo e muscular) mais intenso. Sendo assim, com o crescimento e desenvolvimento de tecidos acontecendo em um ritmo acelerado, deve haver energia e nutrientes em níveis adequados para o crescimento muscular, o que justifica os valores encontrados sempre acima do recomendado pelo NRC (2007).

Figura 1 – Consumo de matéria seca de caprinos alimentados com enzimas exógenas na dieta em função do período experimental



$1Y = 3,273330 + 0,019657x - 0,000341x^2$, $R^2 = 55,82\%$; $2Y = 0,623347 + 0,003824x - 0,000062x^2$, $R^2 = 46,45\%$; P baia: 0,0290; MG baia: 3,26; CV baia: 17,70; L baia: 0,0020; Q baia: 0,0420. P animal: 0,0151; MG animal: 0,633; CV animal: 15,91; L animal: 0,0060; Q animal: 0,0360; P: P valor de 5% de significância; MG: média geral; CV: coeficiente de variação; L: valor de P para Linear; Q: valor de p para quadrática.

Após esse crescimento atingir o ponto máximo, ou ponto de inflexão (Zapata et al., 2001), o CMS tende a diminuir, como observado a partir do período de 70 dias na figura 1. Dentre os fatores que podem ter contribuído com a redução do consumo após este período, destaca-se a possibilidade de que estes animais tenham atingido o seu limite de ingestão necessário para atender suas exigências nutricionais (Oliveira et al., 2018). Visto que em todo o momento experimental a média de CMS ficou acima do recomendado, decaindo por volta do 5º mês de vida dos animais. Período de estabilidade das exigências nutricionais devido à proximidade da puberdade fisiológica da espécie, onde a taxa de crescimento se torna linear e o ganho de peso se dará pela maior deposição de gordura (ZAPATA et al., 2001).

Para melhor entendimento dos efeitos das dietas sobre caprinos em crescimento é importante a realização da avaliação do CMS associado à variáveis sanguíneas como os perfis metabólicos energéticos, proteicos e enzimáticos.

Houve interação entre tratamento e período experimental para a variável glicose plasmática (tabela 3). Com relação aos tratamentos, com exceção do grupo controle, todos apresentaram significância ($P < 0,05$). O tratamento Amaize® demonstrou efeito linear negativo, com diminuição dos valores de glicose ao longo do estudo. Por outro lado, os tratamentos Fibrozyme® e Allzyme® obtiveram resposta quadrática com diminuição dos valores no decorrer do experimento, mas com aumento no período final.

Apesar da diferença, os tratamentos permaneceram dentro dos valores médios indicados por Kaneko et al. (2008), que são de 50,00 – 75,00 mg dL⁻¹ para caprinos. Apenas em três momentos houve um aumento desses valores com ponto máximo encontrado de 2,17% acima do recomendado. Não sendo suficiente para prever algo relacionado às dietas.

Tabela 3 – Interação entre tratamento e período experimental para glicose (mg dL⁻¹) de caprinos alimentados com enzimas exógenas na dieta

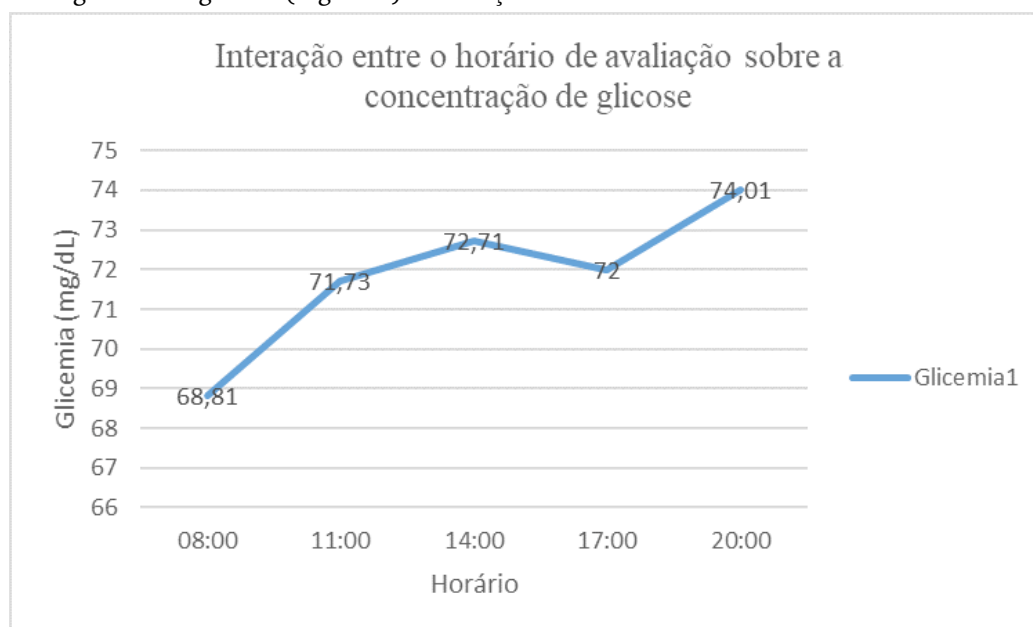
Período	Controle	Amaize ^{®1}	Fibrozyme ^{®2}	Allzyme ^{®3}
0	68,88	74,40	70,85	73,73
21	67,80	71,88	72,68	72,43
42	72,48	75,40	75,12	74,50
63	68,12	69,00	65,48	72,50
84	69,60	73,40	70,64	76,63
MG	69,38	72,82	70,95	73,96
P	0,2541	0,0125	0,0365	0,0025
CV	2,4	3,0	4,4	2,0

1Y = 74,040000 - 0,02133x, R² = 13,39%; 2Y = 71,045361 + 0,098873x - 0,001214x², R² = 31,34%; 3Y = 73,177063 - 0,04630x + 0,000610x², R² = 40,33%; P: valor de 5% de probabilidade; MG: média geral; VR: valor de referência para caprinos segundo Kaneko et al. (2008): (50 - 75 mg dL⁻¹). CV: coeficiente de variação

As enzimas fibrolíticas potencializaram a degradação da parede celular vegetal, o que proporcionou o maior aproveitamento da porção fibrosa da dieta. As enzimas amilolíticas e enzimas proteolíticas, otimizaram as ações dos microrganismos ruminantes em relação ao amido de milho, possibilitando o aumento de níveis de ácido propiônico, da degradabilidade e fermentabilidade da dieta que quando associados ao maior CMS (Figura 1) de uma dieta com relação concentrado:volumoso

de 70:30 e fonte de volumoso como silagem de milho, rica em amido, podem ser os responsáveis pelos níveis de glicose sérica de cabritos terem apresentado valores dentro do esperado (Neiva et al., 2022).

Houve efeito quadrático para a concentração glicêmica (P < 0,05) ao longo do período de coleta (Figura 2). Ocorreu aumento da concentração após a alimentação (08h00), com decréscimo a partir das 14h00.

Figura 2 – Nível de glicose sanguínea (mg dL⁻¹) em função do horário de coleta

1Y = 61,913601 + 1,136166x - 0,027856x², R² = 83,59%. P: 0,0001; CV: 5,63%; P: valor de 5% de probabilidade; CV: coeficiente de variação.

De acordo com Oliveira et al. (2018), em ruminantes, a glicose plasmática possui como precursores compostos que não são carboidratos, como o propionato, ácido graxo volátil (AGV) obtido a partir da fermentação ruminal. Um aporte elevado de carboidratos solúveis na dieta aumenta a produção do ácido propiônico, elevando a concentração de glicose disponível no plasma. Pode-se

inferir que a característica das dietas (relação C:V, tipo de volumoso e utilização de enzimas) resultou em uma maior disponibilidade de carboidratos solúveis no ambiente ruminal, contribuindo para manter o nível de glicose desses animais dentro do recomendado para a espécie por 12 horas com apenas uma refeição, demonstrando

que a dieta foi eficiente em manter os animais energeticamente estáveis.

Para os demais metabólicos energéticos não houve efeito do tratamento ou período experimental ($P > 0,05$) com exceção da frutossamina ($P < 0,05$) (tabela 4). O tratamento Fibrozyme® foi estatisticamente semelhante ao Allzyme® e superior aos demais, atingindo o maior valor dentre os tratamentos 171,20 ($\mu\text{mol L}^{-1}$).

De acordo com Varanis et al. (2021), a frutossamina reflete a glicemia de cerca de uma a três semanas anteriores ao momento da coleta. Como em ruminantes a formação de glicose é secundária (através do metabolismo de precursores, como o propionato, aminoácidos gliconeogênicos, glicerol e lactato, no fígado), a possível

melhora na degradação da fibra proporcionado no tratamento Fibrozyme® pode ter favorecido o metabolismo dos precursores de glicose, justificando os maiores valores para frutossamina. Dado que a frutossamina é uma glicose esterificada a uma albumina. Assim, a enzima Allzyme® que é proteolítica, contém em sua composição amilase e fibrolases, aumentando o nível de albumina e com isso obtendo igualdade a Fibrozyme®. Tal teoria fica melhor evidenciada quando compara-se os demais tratamentos com utilização de enzimas ao grupo controle, onde nota-se maior estabilidade da glicose nos animais (através da frutossamina), em detrimento do tratamento controle, que apresentou os menores resultados para o metabólito, evidenciando que esses animais tiveram uma menor estabilidade da glicose ao longo do tempo.

Tabela 4 – Perfil energético de caprinos alimentados com enzimas exógenas na dieta

Tratamento	Frutossamina ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Colesterol (mg dL ⁻¹)	Triglicerídeos (mg dL ⁻¹)	VLDL (mg dL ⁻¹)
Controle	151,84 C	64,96	21,40	4,28
Amaize®	158,11 BC	55,91	25,08	5,01
Allzyme®	167,20 AB	64,24	22,79	4,55
Fibrozyme®	171,20 A	62,48	22,84	4,56
P	0,0153	0,6810	0,9354	0,9354
Período (dias)	Frutossamina	Colesterol ¹	Triglicerídeos	VLDL
0	167,09	54,28	20,95	4,19
21	161,47	70,66	20,19	4,03
42	159,52	57,33	25,76	5,15
63	165,42	66,26	25,26	5,05
84	158,98	62,09	23,04	4,60
MG	162,43	62,04	23,00	4,60
CV	12,75	17,20	33,47	33,47
P	0,0894	0,0022	0,3888	0,3888
VR	-	80,00 - 130,00	17,60 - 24,00	3,00 - 4,00

1Y = 56,932623 + 0,253721x - 0,001961x², R² = 22,54%; MG: média geral; CV: coeficiente de variação; P: valor de 5% de significância; VR: valor de referência para caprinos segundo Kaneko et al. (2008); Letras maiúsculas na coluna diferem estatisticamente pelo teste SNK.

Não houve efeito dos tratamentos para a variável colesterol ($P > 0,05$), com todos os valores inferiores aos preconizados por Kaneko et al. (2008) (80,00 - 130,00 mg dL⁻¹). Neste estudo, a média encontrada foi de 62,04 mg dL⁻¹, valor este 22,55% abaixo do limite inferior recomendado. Foram encontrados efeitos para o período com resposta quadrática para a variável ($P < 0,05$). O valor mínimo atingido ao início do experimento esteve 32,10% abaixo do limite inferior da normalidade.

Grande parte dos lipídeos são direcionados ao fígado para serem metabolizados e gerar mais energia

para o crescimento e desenvolvimento muscular (Varanis et al., 2021) e os animais do estudo estavam no período de maior desenvolvimento corporal, acredita-se que os baixos valores deste metabólito sejam um reflexo desta via de mobilização de lipídeos. Como o colesterol apresentou resposta quadrática em função do período, seus valores aumentaram no decorrer do experimento, provavelmente em virtude do aumento da deposição de tecido adiposo (principalmente gordura intracavitária, devido à característica inata dos caprinos (Grande et al., 2003) que ocorre após o animal atingir a puberdade e estabilizar o crescimento muscular (Zapata et al., 2001).

O triglicerídeo é uma importante fonte de energia para o corpo (Varanis et al., 2021), e seu valor de referência, de acordo com Kaneko et al. (2008) é de 17,60 – 24,00 mg dl⁻¹. Não houve diferença para a variável entre os tratamentos ou durante o período ($P < 0,05$), no entanto, o tratamento Amaize® ficou 4,5% acima do máximo recomendado, demonstrando leve alteração para estes animais comparado com o indicado pela literatura. Os períodos 42d e 63d também demonstraram alterações frente o intervalo recomendado, estando o período 63d 7,33% acima do limite máximo preconizado. Tais alterações demonstram a eficiência da dieta em manter os animais com adequada reserva energética.

Não foram encontrados efeitos das dietas ou período para VLDL, lipoproteína que transporta os triglicerídeos dos tecidos hepáticos para os tecidos periféricos na corrente sanguínea (Oliveira et al., 2018). O metabólito em questão ficou acima (28,75%) do valor máximo recomendado para todos os períodos e tratamentos durante todo o experimento. Isto indica que houve maior capacidade de transporte de triglicerídeos e maior mobilização energética, fato esse que ocorreu em virtude dos níveis de glicose desses animais sempre próximos do limite superior (tabela 3), que pode ter causado um aumento de ácido propiônico, que por sua vez pode ter sobrecarregado o fígado, obrigando sua exportação através das lipoproteínas e assim elevando seus níveis séricos no plasma.

Houve interações entre tratamento e período experimental para as variáveis LDL e HDL (tabela 5). Não houve efeito dos períodos para ambos parâmetros sanguíneos. Com relação às dietas, os tratamentos Controle e Fibrozyme® apresentaram resposta quadrática em relação ao período experimental, no entanto mantiveram-se dentro do preconizado por Kaneko et al. (2008) para lipoproteína de baixa densidade. A LDL consiste de uma lipoproteína originária no fígado que é responsável pelo transporte de lipídeos deste para os tecidos periféricos, quando ocorre sua predominância, existe a tendência de maior deposição de colesterol nos tecidos, pois eles não conseguem catabolizar o excesso de LDL (Siqueira et al., 2020).

Para HDL, com relação às dietas, os tratamentos Controle e Allzyme® apresentaram resposta quadrática em relação ao período experimental. Enquanto Fibrozyme® apresentou efeito linear positivo em relação ao período. A HDL é responsável pelo transporte de colesterol dos tecidos extra-hepáticos para o fígado, onde serão metabolizados (Oliveira et al., 2018). Esta resposta obtida confirma a tendência de mobilização de colesterol para o fígado, com o objetivo de obtenção energética. Por ser uma lipoproteína transportadora de colesterol era esperada tendência de aumento devido à maior produção de colesterol oriunda de uma possível maior produção de propionato advindo das dietas com altos teores de carboidratos não fibrosos (70C:30V).

Como os valores estiveram sempre próximos do limite inferior preconizado por Kaneko et al. (2008), pode-se inferir que não houve excesso de mobilização corpórea dos animais, provavelmente devido ao maior gasto energético dos mesmos direcionado para crescimento muscular até a puberdade.

Houve interações entre tratamento e período experimental para as relações LDL/HDL e CT/HDL (tabela 6). Houve efeito do período d0 ($P < 0,05$) para ambas as relações de parâmetros sanguíneos, com o tratamento Allzyme® sendo estatisticamente igual ao Fibrozyme® e superior aos demais. De acordo com Siqueira et al. (2020) quanto menor o valor encontrado, maior é a concentração de HDL circulante, pois estas relações são inversamente ligadas à quantidade de lipoproteína na corrente sanguínea. Desta forma, melhor é o carreamento de colesterol para o fígado para ser metabolizado.

Com relação às dietas, os tratamentos Controle, Allzyme® e Fibrozyme® apresentaram resposta quadrática em relação ao período experimental. Percebe-se com o decorrer do tempo que as relações tendem a reduzir, indicando que com o crescimento dos animais e aumento da demanda energética, houve aumento na capacidade de transporte de ácidos graxos para o fígado, para serem metabolizados e gerar energia. Na tabela 5 podemos observar que a HDL aumenta em relação ao período o que contribui para os resultados verificados na tabela 6.

A fim de verificar possíveis desordens metabólicas causadas em sua maioria por excesso de mobilização nos animais faz-se necessária a avaliação de metabólitos de perfil hepático (tabela 7).

A GGT é uma enzima associada ao metabolismo do glutatión, que pode ser encontrada na membrana celular (Varanis et al., 2021), e seus valores podem indicar se há ocorrência de injúrias no tecido hepático (Siqueira et al., 2020). Não houve efeito entre os tratamentos ($P > 0,05$) para a variável em questão, no entanto, houve efeito quadrático ao longo do período ($P < 0,05$), com todos os valores acima do recomendado por Kaneko et al. (2008). O ponto máximo da variável foi encontrado no período d63, atingindo 78,32% acima do limite máximo preconizado.

Este aumento pode ser tido como consequência da dieta, onde há um grande consumo de carboidratos altamente fermentescíveis provenientes do concentrado, que após a fermentação e absorção ruminal vão ser metabolizados no fígado, aumentando a atividade hepática. Além disso, as relações LDL/HDL e CT/HDL (tabela 7) reduziram ao longo do tempo (indicando mais colesterol sendo carreado para o fígado e consequentemente mais atividade hepática), o que explicaria novamente os aumentos dos valores para a variável.

Tabela 5 – Interação entre tratamento e período experimental para lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de alta densidade (HDL) (mg dL⁻¹) de caprinos alimentados com enzimas exógenas na dieta

LDL					
Período	Controle ¹	Amaize [®]	Allzyme [®]	Fibrozyme ^{®2}	P
0	30,68	40,60	43,56	37,84	0,7487
21	55,48	48,44	40,93	42,20	0,6281
42	54,48	47,20	37,26	29,56	0,2294
63	45,64	38,35	43,48	54,00	0,6913
84	50,92	37,20	34,63	40,94	0,5746
P	0,0000	0,1155	0,2595	0,0005	
MG	47,44	42,35	39,97	40,90	
CV	19,09	10,88	8,8	19,29	
HDL					
Período	Controle ³	Amaize [®]	Allzyme ^{®4}	Fibrozyme ^{®5}	P
0	21,00	22,00	10,66	15,00	0,2178
21	13,40	20,60	23,16	22,80	0,3718
42	17,00	22,40	22,16	24,40	0,6755
63	22,20	18,50	19,00	24,40	0,7706
84	23,42	19,40	24,00	29,60	0,4529
P	0,0002	0,4242	0,0000	0,0000	
MG	19,40	20,58	19,79	23,24	
CV	19,00	17,49	24,61	20,26	

1Y = 33,179715 + 0,724269x - 0,005719x² R² = 74,45%; 2Y = 38,751680 - 0,088239x - 0,001521x² R² = 17,31%; 3Y = 20,073098 - 0,222620x - 0,002544x² R² = 83,15%; 4Y = 12,194356 + 0,313869x - 0,002177x² R² = 67,65%; 5Y = 16,840244 + 0,112276x R² = 83,64%; MG: média geral; CV: coeficiente de variação; P: valor de 5% de significância; Valores de referência para caprinos segundo Kaneko et al. (2008): (LDL: 29,4 - 65,9 mg dL⁻¹ e HDL: 21,7 - 47,3 mg dL⁻¹).

Não houve efeito das dietas ou período para AST (P>0,05). Esta, é uma enzima citoplasmática e mitocondrial, presente em vários tecidos como fígado, músculos esquelético e cardíaco (Siqueira et al., 2020), o seu valor médio encontrado no presente estudo foi de 68,52 U/L-1, o qual está 58% abaixo do recomendado por Kaneko et al. (2008) (163,00 - 513,00 U/L-1).

No entanto, o maior problema da AST é quando seus valores estão acima do recomendado, onde indicam quadros de lesão hepatocelular secundária, oriundos da mobilização excessiva de lipídeos (Santos et al., 2015). Como eram animais em desenvolvimento, com grande parte da energia disponível direcionada para crescimento muscular, a mobilização de lipídeos indicada pelos valores de lipoproteínas não foi suficiente para gerar danos ao tecido hepático com comprometimento da saúde animal.

Não houve efeito da dieta para o perfil proteico de caprinos alimentados ou não com enzimas exógenas (P>0,05). Houve diferença do período (P<0,05) para

as três variáveis proteicas: ureia, albumina e proteínas totais (tabela 8).

A ureia apresentou resposta linear negativa para o período (P<0,05), entretanto apresentou valores fora do limite máximo preconizado por Kaneko et al. (2008), estando o valor médio da variável 15,98% acima da faixa de recomendação. A concentração sanguínea da ureia é um indicador sensível e imediato que possui relação direta com o aporte proteico da ração (Varanis et al., 2021). Para que ocorra a síntese de proteína microbiana, é necessário um sinergismo entre a amônia (oriunda da proteína que chega ao rúmen) e os carboidratos na dieta (Siqueira et al., 2020), caso o sinergismo não ocorra, a amônia é absorvida pela parede ruminal e transportada até o fígado, onde é transformada em ureia, e posteriormente eliminada, causando assim um prejuízo energético no animal e contaminação ambiental.

Tabela 6 – Interação entre tratamento e período experimental para as relações LDL/HDL e CT/HDL (mg dL-1) de caprinos alimentados com enzimas exógenas na dieta

LDL/HDL					
Período	Controle ¹	Amaize [®]	Allzyme ^{®2}	Fibrozyme ^{®3}	P
0	1,61B	1,83B	6,05A	3,47AB	0,0491
21	4,32	2,34	2,34	1,88	0,4923
42	4,07	2,04	1,67	1,17	0,3588
63	2,12	2,03	2,45	2,24	0,9900
84	2,12	1,90	1,40	1,54	0,9693
P	0,0001	0,9477	0,0000	0,0100	
CT/HDL					
Período	Controle ⁴	Amaize [®]	Allzyme ^{®5}	Fibrozyme ^{®6}	P
0	2,85B	3,04B	7,63A	4,80AB	0,0457
21	5,58	3,58	3,56	3,06	0,5250
42	5,44	3,36	2,84	2,40	0,3665
63	3,31	3,26	3,84	3,44	0,9888
84	3,27	3,17	2,58	2,42	0,9515
P	0,0001	0,9511	0,0000	0,0064	

1Y = 3,0732011 + 0,0096587x - 0,000949x² R² = 83,42%; 2Y = 7,302070 - 0,125590x + 0,000836x² R² = 86,06%; 3Y = 4,669130 - 0,057837x + 0,000393x² R² = 74,27%; 4Y = 1,855194 + 0,092019x - 0,000899x² R² = 81,89%; 5Y = 5,756689 - 0,115021x + 0,000759x² R² = 87,73%; 6Y = 3,382305 - 0,058556x + 0,000428x² R² = 77,74%. P: valor de 5% de significância; Letras maiúsculas na linha diferem estatisticamente (estatística não paramétrica).

Tabela 7 – Perfil hepático (U/L-1) de caprinos alimentados com enzimas exógenas na dieta

Tratamento	GGT	AST
Controle	86,95	62,48
Amaize [®]	77,38	67,91
Allzyme [®]	82,35	69,41
Fibrozyme [®]	90,46	74,12
P	0,6179	0,2017
Período	GGT1	AST
0	67,73	63,09
21	72,05	67,76
42	92,16	69,33
63	99,86	74,63
84	91,06	68,38
P	0,0000	0,0798
MG	84,28	68,52
CV	12,82	15,83
VR	20,00 - 56,00	163,00 - 513,00

1Y = 64,828093 + 0,550114x - 0,002456x² R² = 84,80%; MG: média geral; CV: coeficiente de variação; P: valor de 5% de significância; VR: valor de referência para caprinos segundo Kaneko et al. (2008).

Inferre-se que essa seja a explicação para a elevação dos valores no início do estudo. A falta de sinergismo na degradação ruminal de carboidratos e proteínas, indicam um escape de amônia do ambiente ruminal, com o objetivo de manter o ambiente próximo da homeostasia.

A albumina, ao contrário da ureia, é um indicador a longo prazo do estado proteico (Varanis et al.,

2021). Foi constatada resposta quadrática para o período avaliado ($<0,05$) com valor máximo encontrado estando 2,82% acima do recomendado por Kaneko et al. (2008) no período d63. Este aumento exponencial demonstra a eficiência das dietas em manter os animais com aporte proteico adequado a longo prazo. O que também explica o comportamento apresentado pela frutossamina ao longo do estudo.

Tabela 8 – Perfil proteico de caprinos alimentos com enzimas exógenas na dieta

Tratamento	Ureia (mg/dL)	Albumina (g/dL)	Proteínas Totais (g/dL)
Controle	51,32	3,76	5,61
Amaize®	49,76	3,77	5,64
Allzyme®	48,51	3,79	5,66
Fibrozyme®	49,16	3,89	5,69
P	0,9330	0,8396	0,9917

Período	Ureia1(mg/dL)	Albumina2 (g/dL)	Proteínas Totais3 (g/dL)
0	53,14	3,74	5,42
21	51,30	3,79	5,51
42	49,51	3,76	5,43
63	47,69	4,01	6,19
84	46,78	3,73	5,76
P	0,0253	0,0431	0,0062
MG	49,64	3,80	5,65
CV	13,09	7,06	10,29
VR	21,40 - 42,80	2,70 - 3,90	6,40 - 7,00

1Y= 53,149542 - 0,06026x R2= 45,61%; 2Y= 3,735157 + 0,002941x - 0,000019x2 R2 = 16,58%; 3Y= 5,360430 + 0,005355x R2 = 49,89%; MG: média geral; CV: coeficiente de variação; P: valor de 5% de significância; VR: valor de referência para caprinos segundo Kaneko et al. (2008).

Houve efeito quadrático do período para proteínas totais que apresentaram valores aquém do recomendado por Kaneko et al. (2008). A MG encontrada ficou 11,72% abaixo do limiar, indicando mais uma vez falta de sinergismo na degradação ruminal de carboidratos e proteínas, acarretando no escape da amônia (confirmada pelos altos níveis de ureia), causando assim a redução da formação de proteínas totais disponível para os animais.

Houve interações entre tratamento e período experimental para ácido úrico e creatinina (tabela 9). Houve efeito do período d84 ($P<0,05$) para creatinina, com o tratamento Fibrozyme® sendo estatisticamente igual ao Allzyme® e controle e superior ao Amaize®.

Todos os valores de creatinina encontrados ficaram fora do recomendado por Kaneko et al. (2008). Para o período d84, os tratamentos Controle e Amaize® permaneceram aquém do indicado pelo autor (3 e 39%, respectivamente), enquanto os tratamentos Allzyme® e Fibrozyme® extrapolaram o valor máximo recomendado

(11,82 e 60%, respectivamente). Com relação às dietas, os tratamentos Controle e Fibrozyme® apresentaram efeito linear positivo em relação ao período experimental, demonstrando aumento exponencial dos valores para a variável.

Segundo González e Silva (2006) creatinina plasmática é oriunda, quase em sua totalidade, do catabolismo da creatina presente no tecido muscular, sendo sua concentração plasmática proporcional à massa e atividade muscular. Níveis altos de creatina plasmática também podem apontar casos de deficiência na funcionalidade renal, já que a excreção de creatinina é realizada apenas via renal, assim o animal apresentaria quadros de desidratação, insuficiência renal ou atividade muscular intensa e prolongada (González & Silva, 2006).

Associando os valores de metabólitos energéticos (glicose e lipoproteínas) que confirmam adequado status nutricional, o fato dos animais atingirem a puberdade ao fim do estudo, com maior nível de interação entre

indivíduos, proporcionando maior atividade muscular e a redução de CMS (gráfico 1). Têm-se a explicação dos valores obtidos pela maior atividade muscular dos animais

que estavam em fase de crescimento e consequentemente desenvolvimento muscular acelerado, proporcionando o aumento dos níveis de creatinina no sangue.

Tabela 9 – Interação entre tratamento e período experimental para ácido úrico e creatinina de caprinos alimentados com enzimas exógenas na dieta

Ácido úrico					
Período	Controle ¹	Amaize ^{®2}	Allzyme ^{®3}	Fibrozyme ^{®4}	P
0	0,30	0,26	0,33	0,50	0,5613
21	0,56	0,36	0,51	0,32	0,4655
42	0,40	0,34	0,68	0,32	0,1473
63	0,30	0,60	0,30	0,26	0,2977
84	0,46	0,32	0,53	0,46	0,6628
P	0,0140	0,0060	0,0000	0,0280	
MG	0,40	0,37	0,47	0,37	

Creatinina					
Período	Controle ⁵	Amaize [®]	Allzyme [®]	Fibrozyme ^{®6}	P
0	0,87	0,91	0,85	0,85	0,9987
21	0,85	0,79	0,84	0,83	0,9983
42	0,75	0,80	1,38	1,43	0,1445
63	1,59	0,72	1,31	1,31	0,1975
84	0,97AB	0,61B	1,23AB	1,76 ^a	0,0383
P	0,0265	0,8695	0,0895	0,0050	
MG	1,00	0,76	1,12	1,23	

1Y = 0,353933 + 0,003552x - 0,00032x² R² = 13,44%; 2Y = 0,286068 + 0,001577x R² = 26,87%; 3Y = 0,345315 + 0,008043x - 0,00070x² R² = 33,59%; 4Y = 0,502688 - 0,007812x - 0,00067x² R² = 75,42%; 5Y = 0,790122 + 0,003872x R² = 24,79%; 6Y = 0,769976 + 0,008239x R² = 80,18%. P: valor de 5% de significância; MG: média geral; Letras maiúsculas na linha diferem estatisticamente (estatística não paramétrica); Valores de referência para caprinos segundo Kaneko et al. (2008): (ácido úrico: 0,30 - 1,00 mg/dL e creatinina: 1-1,10 mg/dL).

Não houve efeito dos períodos para ácido úrico. Com relação às dietas, os tratamentos Controle, Allzyme[®] e Fibrozyme[®] apresentaram resposta quadrática em relação ao período experimental, enquanto o tratamento Amaize[®] apresentou efeito linear positivo, demonstrando aumento no decorrer do estudo. Todos os valores obtidos mantiveram-se dentro do preconizado por Kaneko et al. (2008).

De acordo com Oliveira et al. (2018), o ácido úrico é diretamente relacionado à síntese proteica microbiana pelos microrganismos ruminais, sendo assim, quanto maior a concentração desse metabólito, maior é a síntese microbiana e consequentemente maior o uso da amônia ruminal, diminuindo o escape dela, promovendo assim redução da quantidade de ureia no fígado e consequentemente a concentração da ureia no plasma. Dessa forma, os aumentos nos níveis do metabólito em questão, indicam aumento da síntese proteica, com melhor aproveitamento da amônia ruminal, justificando o

decréscimo encontrado nos valores de ureia (tabela 9) no período experimental.

CONCLUSÃO

A utilização de enzimas exógenas na dieta de caprinos em desenvolvimento foi eficaz em manter um adequado status nutricional dos animais, aumentando os níveis de metabólitos energéticos e proteicos no sangue, sem causar efeitos deletérios provenientes de sobrecarga hepática.

Contribuição dos autores

ABIDF: Redação do artigo científico. LFS: Planejamento estatístico do projeto. GDLMJ: Autor intelectual do projeto e redação do artigo. LEGV: Participação na execução e análises do projeto. MTSS: Participação na execução, redação e análises do projeto. KAO: Participação na execução, redação e análises do projeto.

REFERÊNCIAS

- Beauchemin, K. A., Colombatto, D., Morgavi, D. P., Yang, W. Z., & Rode, L. M. 2004. Mode of action of exogenous cell wall degrading enzymes for ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 84 (1), 13–22. doi: <https://doi.org/10.4141/A02-102>.
- Coelho, M. A. Z., Salgado, A. M., & Ribeiro, B. D. 2008. *Tecnologia enzimática*. Rio de Janeiro: FAPERJ; Petrópolis, RJ: EPUB.
- Detmann, E., Souza, M. A., Valadares Filho, S. C., Queiroz, A. C., Berchielli, T. T., Saliba, E. O. S., Cabral, L. S., Pina, D. S., Ladeira, M. M., & Azevedo, J. A. G. 2012. *Métodos para Análise de Alimentos - INCT - Ciência Animal*. 1. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema.
- Friedewald, W. T., Levv, R. I., & Fredrickson, D. S. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, 18 (6), 499–502.
- Grande, P. A., Alcalde, C. L., Macedo, F. A. F., Yamamoto, S. M., & Martins, E. N. 2003. Desempenho e características de carcaça de cabritos da raça Saanen recebendo rações com farelo de glúten de milho e/ou farelo de soja. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 25 (2), 315–321. doi: [10.4025/actascianimsci.v25i2.2012](https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v25i2.2012).
- González, F. H. D., & Silva, S. C. 2006. Perfil Bioquímico no Exercício. In González, F. H. D.; Silva, S. C. *Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. 2008. *Clinical biochemistry of domestic animals*. Academic press.
- Krause, D. O., Denman, S. E., Mackie, R. I., Morrison, M., Rae, A. L., Attwood, G. T., & McSweeney, C. S. 2003. Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. *FEMS Microbiology Reviews*, 27 (5), 663–93. doi: [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00072-X](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00072-X).
- Levene, H. 1960. Robust Test for Equality of Variances, In I. O. et al., ed., *Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling*, Stanford University Press, California, United States: pp. 278–292.
- Macedo Junior, G. L., Zanine, A. M., Pérez, J. R. O., & Borges, I. 2007. Qualidade da Fibra para a Dieta de Ruminantes. *Ciência Animal*, 17, 7–18.
- Maynard, L. A., Loosli, J. K., Hintz, H. F., & Warner, R. G. 1984. *Nutrição animal*. 3. ed. Freitas Bastos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- Mertens, D. R. 1994. Regulation of forage intake. In National Conference on Forage Quality. Evaluation and Utilization, 1994. Anais... Lincoln: University of Nebraska. pp. 450–493.
- Nacional Research Council - NRC. 2007. Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids, and new world camelids. National Academy Press, Washington, USA.
- Neiva, M. C., Schultz, E. B., Sousa, L. M., Oliveira, K. A., Sousa, L. F., & Macedo Junior, G. L. 2022. Exogenous enzymes in sheep diet: nutritional and physiological parameters. *Acta scientiarum animal sciences*, 44, 2–9. doi: <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v44i1.56504>.
- Oliveira, K. A., Macedo Júnior, G. L., Silva, S. P., Araujo, C. M., Varanis, L. F. M., & Sousa, L. F. (2018). Nutritional and metabolic parameters of sheep fed with extruded roughage in comparison with corn silage. *Semina. Ciências Agrárias*, 39, 1975–1804. doi: [10.5433/1679-0359.2018v39n4p1795](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n4p1795).
- Santos, R. P., Sousa, L. F., Sousa, J. T. L., Andrade, M. E. B., Macedo Júnior, G. L., & Silva, S. P. 2015. Parâmetros sanguíneos de cordeiros em crescimento filhos de ovelhas suplementadas com níveis crescentes de propilenoglicol. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 10, 473–478. doi: <https://doi.org/10.5039/agraria.v10i3a4924>.
- Shapiro, S. S., & Wilk M. B. 1965. An Analysis of Variance Test for Normality, (Complete Samples). *Biometrika*, 52, 591–611. doi: <https://dx.doi.org/10.2307/2333709>.
- Siqueira, M. T. S., Jesus, T. A. V., Silva, A. L., Araujo, M. J. P., Sousa, L. F., & Macedo Júnior, G. L. (2020). Suplementação nutricional para ovelhas em final de gestação: parâmetros nutricionais e metabólicos. *Caderno de Ciências Agrárias*, 12, 01–09. doi: <https://doi.org/10.35699/2447-6218.2020.24109>.
- Valadares Filho, S. C., Machado, P. A. S., Furtado, T., Chiazotti, M. L., & Amaral, H. F. (2006). *Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos*. Viçosa: UFV.
- Varanis, L. F. M., Schultz, E. B., Oliveira, K. A., Sousa, L. F., Cruz, W. F. G., & Macedo Júnior, G. L. 2021. Serum biochemical reference ranges for lambs from birth to 1 year of age in the tropics. *Semina-Ciências Agrárias*, 42, 1725–1740. doi: [10.5433/1679-0359.2021v42n3Supl1p1725](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n3Supl1p1725).
- Zapata, J. F. F., Seabra, L. M. J., Nogueira, C. M., Bezerra, L. C., & Beserra, F. J. 2001. Características de carcaça de pequenos ruminantes do nordeste do Brasil. *Revista Ciência Animal*, 11 (2), 79–86.