

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ÁCIDOS ORGÂNICOS E FITASE EM RAÇÕES PARA LEITÕES
DESMAMADOS**

Luciana Moura Rufino

Orientador: Prof. Dr. Romão da Cunha Nunes

GOIÂNIA
2013



Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TE-DE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás–UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **Luciana Moura Rufino** E-mail: **rufinolu@hotmail.com**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? Sim Não

Vínculo Empregatício do autor: **Universidade Federal de Goiás - Departamento de Produção Animal** Agência de fomento: Sistema Integrado de Administração de Recursos Humanos

País: **Brasil** UF: **GO** CNPJ: **01567601/0001-43** Sigla: **SIAPE**

Título: **ÁCIDOS ORGÂNICOS E FITASE EM RAÇÕES PARA LEITÕES DESMAMADOS** Palavras-chave: **aditivos, desempenho, diarreia, digestibilidade, ossos, suínos**

Título em outra língua: **ORGANIC ACIDS AND PHYTASE IN FEEDING FOR WEANERS**

Palavras-chave em outra língua: **additives, performance, diarrhea, digestibility, bones, pigs**

Área de concentração: **Produção animal** Data defesa: (dd/mm/aaaa) **20/09/2013**

Programa de Pós-Graduação: **Ciência Animal**

Orientador(a): **Romão da Cunha Nunes** E-mail: **romaocnunes@hotmail.com**

Co-orientador(1): **José Henrique Stringhini** E-mail: **jhstringhi@hotmail.com**

Co-orientador(2): **Paulo César Silva** E-mail:

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?¹ total parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[] Capítulos. Especifique:

[] Outras restrições:

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Goiânia 20 de novembro de 2013


Assinatura do(a) autor(a)

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

LUCIANA MOURA RUFINO

**ÁCIDOS ORGÂNICOS E FITASE EM RAÇÕES PARA LEITÕES
DESMAMADOS**

Tese apresentada para obtenção do grau de Doutora em Ciência Animal junto à Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Área de Concentração:
Produção Animal

Linha de Pesquisa:
Metabolismo nutricional, alimentação e forragicultura na produção animal.

Orientador:
Prof. Dr. Romão da Cunha Nunes – UFG
Comitê de Orientação:
Prof. Dr. José Henrique Stringhini - UFG
Prof. Dr. Paulo César Silva - UFG

GOIÂNIA

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG

Rufino, Luciana Moura.
R926a Ácidos orgânicos em rações para leitões desmamados
[manuscrito] / Luciana Moura Rufino. - 2013.
117 f.: figs, tabs.

Orientador: Prof. Dr. Romão da Cunha Nunes;
Coorientadores: Prof. Dr. José Henrique Stringhini, Prof. Dr.
Paulo César Silva.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás,
Escola de Veterinária e Zootecnia, 2013.

Inclui lista de tabelas.

Bibliografia.

1. Aditivos – Suíno. 2. Suíno – Desempenho. 3. Suíno –
Diarreia. 4. Suíno – Digestibilidade. I. Título.

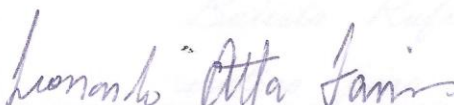
CDU: 636.4.085.2

LUCIANA MOURA RUFINO

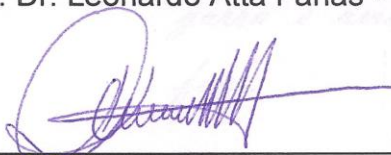
Tese defendida e aprovada em **20/09/2013** pela Banca Examinadora constituída pelos professores:




Prof. Dr. Romão da Cunha Nunes
(ORIENTADOR (A))



Prof. Dr. Leonardo Atta Farias - UFPI/PI



Profa. Dra. Karyne Oliveira Coelho - UEG/GO



Profa. Dra. Fernanda Rodrigues Taveira Rocha - UEG/GO



Profa. Dra. Maria Auxiliadora Andrade

Dedico,

*À minha mãe Ozana
Joaquina de Moura
Gomes, por seu amor,
dedicação e apoio em todos
os momentos que precisei.*

*À minha filha Karolina
Batista Rufino, por ser
motivo para tanta luta,
garra e amor em tudo que
faço.*

*À Zootecnia, por ter me
encantando e oportunizado
fazer ciência nesta área tão
nobre que é a suinocultura.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade, saúde, coragem e otimismo em todas as etapas concluídas e em andamento.

Ao meu orientador, professor Dr. Romão da Cunha Nunes, pela orientação, conhecimentos, experiências, exemplos nos seus atos e ensinamentos de gratidão pelas pessoas e oportunidades oferecidas. Pessoa que desprende de si próprio em favor de outros.

Ao co-orientador, professor Dr. José Henrique Stringhini, por ter dispensado seu tempo e conhecimentos em nutrição de monogástricos e sugestões críticas em prol da qualidade da escrita do projeto e da tese.

À professora, Dr^a Alessandra Gimenez Mascarenhas, pelas sugestões e contribuições em todas as etapas, principalmente, durante o experimento e análises laboratoriais.

Ao professor, Dr. Emmanuel Arnhold, pelas orientações no delineamento experimental do projeto de tese, à professora, Dr^a. Heloísa Helena de Carvalho Mello, pelas dúvidas esclarecidas durante a escrita do projeto e à professora, Dr^a. Nadja Susana Mogyca Leandro, pelo apoio na análise estatística.

À professora, Dr^a. Moema Pacheco Chediak Matos, por ter realizado a insensibilização dos animais e disponibilizado suas orientadas, Adriana Marques Faria e Adriana da Silva Santos para auxiliar também na colheita de amostras de sangue e urina.

À professora, Dr^a. Maria Auxiliadora Andrade por ter cedido oportunidade no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da UFG para realização das análises bacteriológicas.

Ao professor, Dr. Robson Maia Geraldine, vice-diretor da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, pelo apoio e oportunidade para a realização das análises de resistência óssea.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG, meus sentimentos de gratidão pelo aprendizado durante o curso.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação que, sem medir esforços, estiveram sempre prontos a me auxiliar e colaborar para que as práticas em todas as etapas deste trabalho fossem realizadas.

Ao professor, Dr. Verner Eichler, coordenador de laboratórios da PUC/Zootecnia, por ter disponibilizado o microscópio óptico para registro das imagens histológicas do intestino delgado dos animais.

Ao professor, Dr. Paulo Sérgio de Souza, do Instituto de Química da UFG, pela dedicação, cuidado, atenção e paciência ao esclarecer todos os passos realizados nas avaliações de cálcio e fósforo nas amostras.

À Ana Caroline de Souza Barnabé e Bárbara Mota de Paiva Mota, por terem realizado com tanta dedicação e carinho as análises bacteriológicas.

Agradeço à Nutron Alimentos, em nome da Coordenadora Técnica Comercial Leonor Colacicco, pela doação dos microminerais, vitaminas, L-Lisina HCL, L-Treonina, DL-Metiona e Triptofano.

À DSM, em nome do Dr. José Otávio Berti Sorbara, por disponibilizar a enzima fitase e o ácido benzóico.

À Ilander, em nome do Dr. Rafael Neme, por ter oferecido o ácido butírico.

À Topigs, pela atenção e esforço em facilitar as negociações de compra dos animais.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo fomento concedido.

Aos colegas de pós-graduação, Laudicéia Oliveira da Rocha, Juliana Luis e Silva, Cláudia Paula de Freitas Rodrigues e Bruno Samuel Borges, pelo apoio durante a fase experimental, principalmente, nas colheitas de amostras, em dias de abate.

Em especial agradeço aos colegas, Moisés Resende Queiroz e Sílvia Rodrigues Carneiro Silva, por terem cedido grande parte do seu tempo em favor de todas as práticas durante os ensaios experimentais. Sem o apoio e a força física de vocês seria muito difícil trabalhar com tantos animais!

Ao Bruno Moreira dos Santos pela ajuda ao desengordurar os ossos do metacarpo.

Ao colega, Itallo Conrado de Araújo, pelo apoio em parte da análises estatística.

Aos acadêmicos da iniciação científica, Izabela Cruvinel Di Castro (PIBIC), Allysson Febrônio Pinto (PIBIC) e Marcela Ponciano Faleiro da Silva (PVIC) pelas atividades práticas durante as fases experimentais e análises laboratoriais.

Aos demais acadêmicos que auxiliaram nos manejos durante os experimentos: Edilane Pereira da França (UFG), Geisa Renata Gomes dos Reis (UFG), Jéssica Caetano Dias Campos (UEG), Juliana Cristina de A. Silva (UEG), Karla Andrade Teixeira (UFG), Larissa Alves Vilela Garcia (UEG), Pâmella Bueno Fernandes (UFG), Rodrigo Borges Souza (UFG), Sydney Gonçalves Lopes (UEG) e Ulisses Gabriel Moraes Lobo (Bolsista PBIC – UEG).

À Karolina Batista Rufino, pelo auxílio na computação dos dados e paciência para aceitar minha ausência em muitos momentos em que não pude dedicar o amor materno.

Aos meus laços maiores: papai Bento Rufino Alves Gomes (*In memorian*), mãe Ozana Joaquina de Moura Gomes e irmãs, Adriana Moura Rufino e Juliana Moura Rufino, pelo amor e por terem favorecido e acompanhado meu desenvolvimento.

À madrinha Natalina Maria de Moura, pelo apoio, preocupação e otimismo transmitido nos momentos em que mais precisei.

Ao Fernando Pereira Santana, meu namorado, pela proximidade, companheirismo, motivação transmitida e por todo auxílio em diferentes aspectos.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para a construção desta obra.

Agradeço imensamente!

*“A compaixão para
com os animais é das
mais nobres virtudes
da natureza humana.”*

(Charles Darwin)

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	xii
RESUMO.....	xiv
CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 Aspectos da fisiologia e bioquímica digestiva em leitões desmamados.....	3
2.2 Acidificantes.....	8
2.2.1 Ácido benzóico.....	11
2.2.2 Ácido butírico.....	12
2.3 Modo de ação dos acidificantes.....	13
2.4 Resultados de pesquisas sobre a utilização de ácidos orgânicos puros ou combinados na dieta de leitões desmamados.....	15
2.5 Ácido fítico.....	19
2.6 Fósforo.....	20
2.7 Fitase.....	22
3 OBJETIVOS.....	26
3.1 Objetivo geral.....	26
3.2 Objetivos específicos.....	26
4 REFERÊNCIAS.....	27
CAPÍTULO II - DESEMPENHO, COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE E METABOLIZAÇÃO DE RAÇÕES COM ÁCIDO BUTÍRICO, ÁCIDO BENZÓICO E FITASE PARA LEITÕES.....	39
RESUMO.....	39
ABSTRACT.....	40
1 INTRODUÇÃO.....	41
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
2.1 Local.....	42
2.2 Ensaio de desempenho.....	42
2.3 Ensaio metabólico.....	43
2.4 Dietas experimentais.....	44
2.5 Análise estatística.....	48

2.6 Metodologias das colheitas de amostras e das variáveis do ensaio metabólico.....	48
2.6.1 Colheita de fezes e urina.....	48
2.6.2 Coeficiente de digestibilidade aparente.....	49
2.6.3 Coeficiente de metabolização aparente.....	49
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
3.1 Desempenho dos leitões nas fases pré-inicial, inicial e período total.....	51
3.2 Coeficiente de digestibilidade e metabolização nas fases pré-inicial e inicial.....	56
4 CONCLUSÃO.....	62
5 REFERÊNCIAS.....	63
CAPÍTULO III - CARACTERÍSTICAS DIGESTIVAS, BACTERIOLÓGICAS, HISTOMORFOMÉTRICAS E ÓSSEAS DE LEITÕES QUE RECEBERAM ÁCIDO BUTÍRICO, ÁCIDO BENZÓICO E FITASE NAS DIETAS.....	68
RESUMO.....	68
ABSTRACT.....	69
1 INTRODUÇÃO.....	70
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	72
2.1 Local.....	72
2.2 Instalações, animais, delineamento experimental e análise estatística.....	72
2.3 Metodologia e variáveis analisadas.....	73
2.3.1 Escore fecal de leitões nas fases pré-inicial e inicial.....	73
2.3.2 Contagem de <i>E. coli</i> e <i>Salmonella</i> no conteúdo intestinal e na urina.	74
2.3.3 Avaliação do pH do conteúdo estomacal e do intestino delgado.....	75
2.3.4 Avaliação histomorfométrica da mucosa do intestino delgado.....	75
2.3.5 Avaliação da resistência óssea e presença de cálcio e fósforo nos metacarpos.....	76
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
3.1 Escore fecal nas fases pré-inicial e inicial.....	78
3.2 Contagem de <i>E. coli</i> e <i>Salmonella</i> no Conteúdo Intestinal.....	80

3.3 pH das rações e do conteúdo dos órgãos digestivos.....	82
3.4 Histomorfometria do intestino delgado.....	83
3.5 Avaliação da resistência óssea.....	86
3.6 Níveis de cálcio e fósforo nos ossos metacarpianos crus e pré-cozidos.....	89
4 CONCLUSÃO.....	92
5 REFERÊNCIAS.....	93
CAPÍTULO IV - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	100

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Tabela 1 – Características físicas e químicas dos acidificantes mais utilizados na alimentação de suínos.....	10
---	----

CAPÍTULO II - DESEMPENHO, COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE E METABOLIZAÇÃO DE RAÇÕES COM ÁCIDO BUTÍRICO, ÁCIDO BENZÓICO E FITASE PARA LEITÕES

Tabela 1 – Médias das temperaturas e umidades relativas do ar registradas no interior das salas do ensaio de desempenho no período de 08/11/2011 a 06/03/2012.....	43
Tabela 2 – Médias das temperaturas e umidades relativas do ar registradas no interior da sala do ensaio metabólico no período de 08/11/2011 a 06/03/2012.....	44
Tabela 3 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações experimentais para a fase pré-inicial (7-15 Kg).....	46
Tabela 4 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações experimentais para a fase inicial (15-25 Kg).....	47
Tabela 5 - Matriz nutricional da enzima fitase referente à disponibilidade de proteína, fósforo total, fósforo digestível e cálcio total.....	48
Tabela 6 - Médias de peso final (PF), ganho de peso diário (GPD), ganho de peso total (GPT), consumo diário de ração (CDR), consumo total de ração (CTR), e conversão alimentar (CA) de leitões em fase pré-inicial.....	51
Tabela 7 - Médias de peso final (PF), ganho de peso diário (GPD), ganho de peso total (GPT), consumo diário de ração (CDR), consumo total de ração (CTR), e conversão alimentar (CA) de leitões em fase inicial.....	53

Tabela 8 - Médias de peso inicial (PI), peso final (PF), ganho de peso diário (GPD), ganho de peso total (GPT), consumo diário de ração (CDR), consumo total de ração (CTR), e conversão alimentar (CA) de leitões no período total.....	55
Tabela 9 - Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS), proteína bruta (CDAPB), extrato etéreo (CDAEE), matéria mineral (CDAMM), cálcio (CDACa) e fósforo (CDAP) de rações para leitões em fase pré-inicial.....	57
Tabela 10 - Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS), proteína bruta (CDAPB), extrato etéreo (CDAEE), cálcio (CDACa) e fósforo (CDAP) de rações para leitões em fase inicial.....	58
Tabela 11 - Coeficiente de metabolização aparente da matéria seca (CMAMS), proteína bruta (CMAPB), energia bruta (CMAEB), cálcio (CMACa) e fósforo (CMAP) de rações para leitões em fase pré-inicial.....	60
Tabela 12 - Coeficiente de metabolização aparente da matéria seca (CMAMS), proteína bruta (CMAPB), energia bruta (CMAEB), cálcio (CMACa) e fósforo (CMAP) de rações para leitões em fase inicial.....	61
 CAPÍTULO III - CARACTERÍSTICAS DIGESTIVAS, BACTERIOLÓGICAS, MORFOMÉTRICAS E ÓSSEAS DE LEITÕES QUE RECEBERAM FITASE, ÁCIDO BUTÍRICO, ÁCIDO BENZÓICO E FITASE NAS DIETAS	
Tabela 1 - Escore fecal dos leitões na fase pré-inicial.....	78
Tabela 2 - Escore fecal (%) dos leitões na fase inicial.....	79

Tabela 3 - Valores médios de unidades formadoras de colônias (UFCs) de <i>E. coli</i> , expressas em log, no conteúdo do duodeno, jejuno e íleo de leitões abatidos aos 25 kg de peso.....	80
Tabela 4 - Valores de pH das rações (R), conteúdo do estômago (E), duodeno (D), jejuno (J) íleo (I) ceco (Ce) e cólon (Co) de leitões abatidos aos 25 kg de peso.....	82
Tabela 5 - Análise histomorfométrica do duodeno de leitões abatidos aos 25 kg de peso.....	84
Tabela 6 - Análise histomorfométrica do jejuno de leitões abatidos aos 25 kg de peso.....	85
Tabela 7 - Análise histomorfométrica do íleo de leitões abatidos aos 25 kg de peso.....	86
Tabela 8 - Avaliação da resistência óssea dos metacarpos crus e pré-cozidos de leitões abatidos aos 25 kg de peso.....	87
Tabela 9 - Níveis de cálcio (Ca) e fósforo (P) nos ossos metacarpianos crus e pré-cozidos de leitões abatidos aos 25 kg de peso.....	89

RESUMO

Objetivou-se avaliar o desempenho; os coeficientes de digestibilidade; o escore fecal; a presença de *E. Coli* e *Salmonella* no conteúdo intestinal e na urina, o pH do conteúdo estomacal e do intestino delgado, a histomorfometria do intestino delgado, a resistência óssea e a presença de cálcio e de fósforo nos metacarpos de leitões desmamados. Foram realizados dois ensaios experimentais em que o delineamento foi blocos ao acaso. Realizou-se análise de variância e as médias foram comparadas pelo Teste Tukey a 10% de probabilidade. Para avaliação do desempenho foram utilizados 120 animais, sendo quatro animais por unidade experimental e cinco repetições. No ensaio de digestibilidade foram utilizados 48 leitões e cada animal representou uma unidade experimental em quatro repetições. Os tratamentos foram: 1- controle com Pd disponível em 0,41%; 2- Pd reduzido a 0,15%; 3- Pd reduzido a 0,15%, mais 1.000 FYT/kg; 4- Pd reduzido a 0,15%, mais 1.000 FYT/kg mais 0,3% ácido butírico; 5- Pd reduzido a 0,15%, mais 1.000 FYT/kg mais 0,75% ácido benzóico; 6- Pd reduzido a 0,15%, mais 1.000 FYT/kg; mais 0,3% ácido butírico, mais 0,75% ácido benzóico. As variáveis foram: ganho diário de peso, ganho de peso total, consumo diário de ração, consumo total de ração e conversão alimentar nas fases pré-inicial, inicial e período total. Os coeficientes de digestibilidade aparente: da matéria seca, da proteína bruta, do extrato etéreo, do cálcio, do fósforo; os coeficientes de metabolização da matéria seca, da proteína bruta, da energia bruta, do cálcio e do fósforo; presença de *E. Coli* e *Salmonella* no conteúdo intestinal e na urina; pH do conteúdo estomacal e do intestino delgado; histomorfometria do intestino delgado; resistência óssea e a presença de cálcio e de fósforo nos metacarpos. Nas fases pré-inicial, inicial e no período total, os melhores resultados de desempenho foram para os leitões que alimentaram de dieta com fósforo inorgânico reduzido, ácido benzóico e fitase. Na fase pré-inicial a digestibilidade do cálcio foi maior em leitões que ingeriram dieta com fósforo reduzido e dieta com fitase. Na fase inicial os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo dos animais que alimentaram de ração com fitase, ácido benzóico e butírico foram menores. Nas duas fases não houve diferença para os coeficientes de metabolização da MS, PB, EB, Ca e P. Não foram encontrados resultados significativos para escore fecal, contagem de *E. coli* e *Salmonella*, pH do sistema digestório e histomorfometria intestinal. A maior altura de vilosidades foi para o tratamento controle e a maior relação vilo:cripta foi para o tratamento com fitase, ácido butírico e benzóico. A menor resistência dos ossos crus foi para os tratamentos com fósforo disponível reduzido. Constatou-se que o ácido butírico prejudicou a deposição de Ca e P nos ossos. Conclui-se que os aditivos testados melhoraram o desempenho dos leitões dos 6,7kg aos 25 kg de peso vivo médio e que o uso de ácido butírico e benzóico separadamente, porém, associados à fitase melhoraram a resistência óssea.

Palavras-chave: aditivos, desempenho, diarreia, digestibilidade, ossos, suínos.

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1 INTRODUÇÃO

Na suinocultura moderna o período que os leitões se encontram na creche é considerado o mais crítico, em virtude do estresse pós-desmame, da mudança física na alimentação e do ambiente, assim como, a mistura de leitegadas provenientes de diferentes matrizes. Estes fatores são considerados agressivos para os leitões nas fases pré-inicial e inicial e podem causar redução do consumo de ração, atrofia das vilosidades intestinais e diarreia, a qual reduz a capacidade de digestão, absorção dos nutrientes e causar, conseqüentemente baixo desempenho. A adição de ácidos orgânicos se constitui em alternativa ao uso de antibióticos para reduzir a frequência de diarreias, melhorar a saúde intestinal e, conseqüentemente, refletir em melhor desempenho. O uso de aditivos na alimentação de suínos se tornou prática rotineira para atender as exigências nutricionais dos animais.

Apesar dos mecanismos de ação dos ácidos orgânicos ainda não estarem muito claros, a acidificação da dieta reduz o pH estomacal e aumenta a atividade da pepsina. A redução do pH estomacal pode diminuir a taxa de passagem gástrica e aumentar o tempo da digestão proteica. Além disso, permite a redução da proliferação de bactérias, fungos e leveduras patogênicas no sistema digestório (MORÉS et al., 1990). O processo de regulação no trato gastro intestinal é realizado por peptídeos reguladores, os quais influenciam diversas funções intestinais e em muitos casos fazem parte de alças de *feedback* reguladoras. Para que ocorra a regulação, as células G secretam gastrina, as quais estimulam a produção de ácido clorídrico no corpo do estômago, favorecendo assim a redução do pH em que se torna um sinalizador para cessar a liberação de gastrina (DUKES, 2006)

Outro aditivo que tem sido utilizado com sucesso nas rações de suínos é a enzima fitase. Esta é capaz de liberar parte do fósforo complexado na forma de fitato, presente nos cereais e melhorar a digestibilidade da proteína bruta, dos aminoácidos e dos minerais. Essa enzima, além de

minimizar o impacto ambiental causado pelos dejetos de suínos, pode contribuir também para reduzir os custos, uma vez que a ração representa cerca de 70% a 80% dos custos de produção dos animais. Assim, o fósforo orgânico será mais bem aproveitado pelo animal, favorecendo a redução do fósforo inorgânico, normalmente adicionado na ração.

Mediante as condições apresentadas, é importante investigar os benefícios da utilização dos ácidos butírico e benzóico associados à enzima fitase na dieta de leitões desmamados.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Aspectos da fisiologia e bioquímica digestiva em leitões desmamados

O desmame precoce dos leitões que usualmente ocorre aos 21 dias de idade, tem como vantagem o melhor aproveitamento das instalações, diminuição do número de dias não produtivos por fêmea e o aumento do número de leitões terminados por matriz por ano. Este período corresponde à fase de transição entre a imunidade passiva e a imunidade ativa, em que os leitões apresentam a menor concentração de IgG no soro, predispondo os animais a infecções (MORÉS & AMARAL, 2009). Consequentemente, alguns problemas sanitários como diarreia pós-desmame e doença do edema podem surgir, ocasionando perdas econômicas pela elevação da taxa de mortalidade e pela redução no ganho de peso dos leitões (SANTOS et al., 2003).

Assim, as fases pré-inicial e inicial são consideradas críticas na produção de suínos devido aos vários fatores estressantes que ocorrem simultaneamente por ocasião do desmame, principalmente relacionados com a separação dos leitões da matriz, mudança de ambiente e mudança brusca na alimentação, dificuldade de adaptação aos comedouros e bebedouros, mistura de lotes diferentes e mudança de alimento, os quais acarretam queda na imunidade predispondo os animais aos problemas entéricos e prejudicando a taxa de crescimento (JENSEN & STANGEL, 1992).

Do ponto de vista nutricional, no período de desmame ocorre insuficiência na produção de enzimas digestivas resultando em baixa digestão dos nutrientes (CORASSA et al., 2006), sendo necessária a utilização de ingredientes especiais, altamente digestíveis nas rações, porque o sistema digestório dos leitões encontra-se ainda em desenvolvimento, não estando totalmente apto a digerir rações compostas exclusivamente por ingredientes de origem vegetal (BERTOL, 1999). Além disso, a adaptação ao consumo de alimento sólido com o fornecimento de ração pré-inicial é importante, embora seja questionável a quantidade que os leitões ingerem antes dos 21 dias de idade (ALLTECH, 2008).

De acordo com LOVATTO (2002), é importante o entendimento do processo digestivo em leitões jovens, uma vez que o desmame precoce representa, na prática um dos métodos mais utilizados para melhorar a eficiência reprodutiva da fêmea. Como o leitão neonato é imaturo nos seus sistemas termorregulador, imunológico e digestivo, é necessária a compreensão dos processos fisiológicos e bioquímicos da digestão nessa fase.

O aparelho digestório dos leitões desde o nascimento até o desmame é adaptado para secretar as enzimas digestivas que irão digerir o leite, mas não para outros alimentos, principalmente aqueles de origem vegetal. Assim, a atividade da lactase é alta e das lipases e proteases são suficientes apenas para agir sobre as gorduras e as proteínas do leite (MAXWELL & CARTER, 2001). A eficiência digestiva nesta fase é alta para a dieta a base de gordura do leite e, após o desmame, o principal substrato energético na fase inicial é o amido e a proteína que também foi alterada. Nesta fase, ocorre a transição do consumo de leite para uma dieta rica em carboidratos complexos e proteínas, a qual exige alterações drásticas nos tipos de enzimas secretadas pelo organismo do leitão. Isto ocorre porque o leite da matriz possui 14% de lactose, 65% de lipídios e 22% de proteínas e a dieta inicial convencional possui 53% de energia proveniente de carboidratos, 20% de lipídios e 27% de proteína (ALLTECH, 2008).

Nos primeiros dias de vida dos leitões, a capacidade de secreção de ácido clorídrico (HCl) é insuficiente. Esta insuficiência na produção de HCl é importante porque à medida que o valor de pH e a capacidade tampão de um determinado alimento aumentam, mais ácido deve ser secretado para que o pH diminua e promova assim a atividade da enzimática da pepsina (BRUMANO & GATTÁS, 2009).

De acordo com LOVATTO (2002), o ácido clorídrico é o principal constituinte do suco gástrico, o qual é secretado em quantidades variáveis dependendo das características do alimento. Nos suínos o ácido clorídrico está, principalmente na forma livre, em concentrações que variam de 0,3 % a 0,4% e pH entre 1,7 e 2,0. A pepsina é ativada a partir do pepsinogênio em condições de pH entre 1,0 - 2,0 e atua sobre proteínas tendo como produtos finais proteases e peptonas. O pH do estômago de leitões, lactentes ou não,

sofre variações de acordo com o tipo da dieta. A secreção do ácido clorídrico pode ocorrer aos oito dias, estando dependente do tipo de dieta administrada.

Conforme MARTINS et al. (2006), o pH do estômago de suínos varia de aproximadamente 4,20 para animais com 10 dias a 2,80 para animais com 60 dias de idade e o tempo de contato com o alimento e com as condições de acidez é, geralmente, em torno de 2 a 3 horas.

Na primeira semana de vida, os leitões apresentam pequena taxa de produção de ácido clorídrico (XU, 1996) que associada à presença de ácido láctico formado pela ação dos *Lactobacillus* sobre a lactose, é responsável pela acidificação no estômago. Tal produção provoca gradativa redução do pH, promovendo a eliminação de microorganismos patogênicos, protegendo os animais contra infecções entéricas, além de estimular a ação de enzimas para hidrólise de proteínas e disponibilização de minerais (BRAZ, 2007).

Quando o pH gástrico é baixo, a multiplicação das bactérias ingeridas pela dieta é reduzida (barreira antimicrobiana), com exceção dos lactobacilos que continuam a proliferar. Entretanto, o ácido láctico formado pode inibir a produção de ácido clorídrico do leitão lactente. O pH elevado, no início da vida, é necessário para que as imunoglobulinas passem intactas, pois em condições ácidas adequadas, a ação das peptidases gástricas é intensa. As enzimas que atuam sobre substratos alimentares variam de acordo com a idade do leitão. A variação quantitativa está condicionada à idade (perfil fisiológico/cronológico) e à exposição do animal aos substratos específicos. O sucesso de dietas pré-iniciais está condicionado à adequação de ingredientes às enzimas específicas (LOVATTO, 2002).

Ainda de acordo com LOVATTO (2002), no intestino delgado ocorrem a degradação e a absorção dos alimentos em maior proporção. Na porção inicial do duodeno, ainda ocorre pequena ação das enzimas secretadas no estômago, até que haja mudança do pH em direção à alcalinidade decorrente do bicarbonato presente nas secreções digestivas. Para que o processo de degradação dos alimentos seja intensificado, os sucos pancreáticos, duodenal, entérico e biliar são secretados no intestino delgado. A bile é produzida pelas células hepáticas do suíno e armazenada na vesícula biliar para posteriormente ser liberada. A bile contém pigmentos biliares, sais

biliares (importantes para digestão das gorduras, por emulsão), colesterol e ácidos graxos.

Conforme ARGENZIO (2006), as enzimas necessárias para digestão das proteínas, gorduras e carboidratos são secretadas pelo pâncreas. A protease tripsina é secretada em sua forma inativa, e o tripsinogênio é responsável por sua ativação no lúmen intestinal. Embora o tripsinogênio possa transformar-se espontaneamente em tripsina quando em solução, essa conversão é suprimida no pâncreas pela presença do inibidor de tripsina. Se não fosse assim, a forma ativa da tripsina seria capaz de digerir a própria glândula pancreática. A conversão de tripsinogênio em tripsina é acelerada pelo contato com a enzima enteroquinase, a qual está presente apenas na mucosa intestinal.

Após o desmame, a atividade da enzima lactase reduz e a produção de amilases, lipases e proteases apresenta atividade para digestão de novos alimentos. No entanto, presume-se que a insuficiência digestiva e as desordens intestinais podem estar parcialmente relacionadas à condição de não manterem o pH gástrico baixo, resultando em baixa ativação da pepsina e proliferação de microorganismos patogênicos (ROSTAGNO & PUPA, 1998). Neste processo, a digestão da ração pode ficar incompleta e a quantidade de material não digerido passará para o intestino grosso, resultando assim, em diarreia (ALTECH, 2009) e baixo desempenho dos animais.

MAKKINK et al. (1994), ao avaliar os efeitos do leite em pó desnatado e concentrado protéico de soja na atividade da tripsina e da quimiotripsina em digesta, tecido pancreático e jejunal de suínos recém-desmamados aos 25 dias, concluiu que a baixa atividade enzimática se relaciona à baixa ingestão de alimentos pós-desmame. O pesquisador sugere que a síntese de quimiotripsina não pode manter a secreção ou a hidrólise de quimiotripsina com as alterações do trato digestivo após o desmame.

Outra característica fisiológica de grande importância é a superfície intestinal a qual é caracterizada pela grande quantidade de projeções denominadas vilos. As células epiteliais localizadas nos vilos formam a superfície da luz e promovem a absorção de nutrientes. No entanto, não absorvem nutrientes de dietas com partículas grandes. Assim, quanto mais

longo e fino for o vilão, maior a área superficial para digestão e maior a taxa de absorção de nutrientes. Na base dos vilões estão localizadas as células da cripta, responsáveis pela regeneração das células epiteliais, que migram ao longo do vilão até a zona da extrusão na extremidade da região apical do vilão. Durante a migração, as células sofrem maturação e atingem a ponta do vilão com máxima capacidade absorptiva. A razão entre a altura do vilão e a profundidade de cripta é um bom indicador da eficiência da absorção (ALLTECH, 2008).

Ainda c ALLTECH (2008), a manutenção da integridade intestinal no período pós desmame depende basicamente do suprimento contínuo de nutrientes. As células epiteliais do intestino apresentam taxas de crescimento mais rápido do corpo e muitos dos nutrientes requeridos são absorvidos direto do lúmen intestinal. A redução na altura das vilosidades após o desmame, reduz a digestão e a absorção de nutrientes e permite maior passagem de nutrientes para o intestino grosso, favorecendo o desenvolvimento de uma microbiota intestinal inadequada, que, por sua vez, pode dar origem a doenças entéricas. Há importante variação no intervalo de tempo entre o desmame e a primeira ingestão de água ou alimento pelos leitões. A maioria acessa o alimento em três horas após o desmame, mas alguns demoram até 54 horas, o que pode implicar em alterações na arquitetura da mucosa intestinal.

KELLY et al. (1991) estudaram o efeito do fornecimento de nutrientes de forma contínua no desenvolvimento do trato digestivo e nas mudanças na atividade de enzimas digestivas na primeira semana pós-desmame de leitões com 4,5 kg, alimentados por intubação gástrica até o abate e com o fornecimento de ração peletizada. Neste estudo, pode ser constatado que o contínuo fornecimento de nutrientes não impediu a redução na altura das vilosidades e a hipertrofia da cripta após o desmame. Os resultados do estudo sugerem que pode haver algum grau de interação da ingestão de nutrientes e do desenvolvimento do intestino durante o período imediato de pós-desmame, mas que há também um componente da resposta adaptativa, que é independente da ingestão de nutrientes.

Assim, estratégias de manejo devem ser tomadas para assegurar a ingestão de água e de alimento de forma contínua, por todos os leitões, o mais

rápido possível após o desmame. Sinais de alerta indicativos que os leitões não digerem alimento de forma adequada são: aparência desidratada (pêlos compridos e sem brilho), abdômen retraído, aparências dos ossos da bacia e das costelas e apatia (MORÉS & AMARAL, 2009).

Acidificantes tem sido adicionados às dietas dos animais para minimizar ou evitar problemas de saúde, como diarreia e doença do Edema que comprometem o desempenho dos leitões no pós desmame, em virtude do estresse sofrido nesta fase (TEIXEIRA et al., 2003) com o objetivo de facilitar a digestão e controlar a microbiota intestinal.

2.2 Acidificantes

Conforme WALSH et al. (2003), os suínos recém-desmamados são muito suscetíveis para desenvolver distúrbios digestivos e doenças gastrintestinais, afetando seu potencial de crescimento. O uso contínuo de antibióticos em níveis baixos neste momento crucial de suas pesquisas foi reconhecido para melhorar o consumo de ração, o crescimento e a eficiência alimentar. No entanto, a crescente preocupação da opinião pública em matéria de segurança alimentar e resistência ao antibiótico estão forçando a indústria de suínos a explorar alternativas para a subutilização terapêutica de antibióticos.

CHIQUEIRI et al. (2009) relataram que deve ser dada muita atenção quanto aos aspectos sanitários na suinocultura. Os autores relataram também que são focos de preocupação as mudanças na legislação europeia quanto ao banimento de aditivos antimicrobianos (promotores de crescimento) nas rações de animais, pela possibilidade do desenvolvimento de resistência bacteriana em humanos. Neste sentido os aditivos alternativos como: probióticos, prebióticos e ácidos orgânicos tem-se apresentado no mercado. Os ácidos orgânicos têm sido uma das alternativas promissoras, em substituição aos antibióticos em rações para leitões, pois, segundo PARTANEN & MROZ (1999), melhora o desempenho, aumenta a digestibilidade ileal de aminoácidos, minerais e o aproveitamento da energia.

Os acidificantes são formados por ácidos orgânicos ou inorgânicos, os quais são utilizados para reduzir o pH do trato digestivo superior, para facilitar a digestão e reduzir a proliferação de microrganismos indesejáveis no estômago e no intestino (BRASIL, 2004). Como aditivo ou nutriente nas rações, entende-se que se trata de ácidos graxos voláteis de cadeia curta com um a sete átomos de carbono na molécula sendo, no entanto, chamados de ácidos fracos. Estes ácidos são encontrados na natureza, nos tecidos animais e vegetais, ou como produtos intermediários ou finais do metabolismo microbiano (BRUMANO & GATTÁS, 2009). Em suínos, os ácidos orgânicos são formados como resultado da fermentação de hidratos de carbono no intestino grosso (ROTH, 2000).

A quantidade de acidificante a ser adicionada à ração depende do seu pH e da sua capacidade tamponante. Quanto à escolha física, os acidificantes sólidos são mais fáceis de manusear, ao passo que as formas líquidas podem ser voláteis (até 20%) durante a pulverização, e sua desvantagem por ser corrosivo e possuir odor desagradável. Esta desvantagem pode ser eliminada com o uso de tecnologia de encapsulamento a qual mascara o sabor amargo indesejável. Além disso, esta tecnologia também permite controlar o seu local de ação, bem como a velocidade de libertação e de dissociação (VON FELDE & RUDAT, 1998; GAUTHIER, 2002).

Alguns ácidos são utilizados na forma de sais de sódio, de potássio ou de cálcio. Em relação aos ácidos livres, os sais têm vantagens de serem geralmente inodoros e mais fáceis de manipular na fabricação de rações, por estarem na forma sólida sendo então menos voláteis e corrosivos. A eficiência do ácido em inibir o crescimento dos microrganismos depende do seu valor de pKa que expressa o pH no qual 50% do ácido está dissociado. Ácidos orgânicos com elevados valores de pKa são conservantes mais efetivos e sua atividade antimicrobiana é geralmente melhorada com o aumento do comprimento da cadeia carbônica e com o nível de insaturação. Algumas características de ácidos orgânicos comumente utilizados na alimentação de suínos são mostradas na Tabela 1 (ROTH, 2000).

Para PREVIDELLO et al. (2006), o pKa, constante de acidez, é uma grandeza que permite saber a força de um ácido de forma mais intuitiva que é

através do valor de Ka. Quanto menor é o pKa de um ácido, maior é a sua tendência a ionizar-se e, conseqüentemente, mais forte é o ácido.

A maioria dos ácidos orgânicos com atividade antimicrobiana possui um pKa no qual 50% deste dissocia-se em pH entre 3 e 5 (DIBNER & BUTTIN, 2002). Os principais ácidos orgânicos utilizados na dieta dos leitões desmamados são: acético, benzóico, fórmico, fosfórico, láctico, propiônico e succínico e podem ser usados puros ou em forma de misturas ou combinações.

Tabela 1 – Características físicas e químicas dos acidificantes mais utilizados na alimentação de suínos

Sustância	Acidez pKa	Solubilidade em H ₂ O	Peso molecular (g/mol)	Energia bruta (MJ/Kg)	Forma
Ac. Fórmico	3,75	++	46,0	5,8	Líquida
Ác. Acético	4,75	++	74,1	14,8	Líquida
Ác. Propiônico	4,88	++	74,1	20,8	Líquida
Ác. Butírico	4,82	+++	0,958	–	Líquida
Ác. Benzóico	4,19	+	122,1	--	Líquida
Ác. Láctico	3,88	+	90,1	15,1	Líquida
Ác. Fosfórico	2,15/7,1/12,4	++	98,0	–	Líquida
Ác. Fumárico	3,03/4,38	-	116,1	11,5	Sólida
Ác. Cítrico	3,14/4,76/6,39	+	210,1	10,3	Sólida
Ác. Sórbico	4,76	-	112,1	26,5	Sólido
Formiato Ca	--	-	130,1	3,9	Sólida
Formiato Na	-	++	68	3,9	Sólida
Propionato Ca	-	+	186,2	16,6	Sólida

$pK_a = -\log_{10} ([H^+] [A^-]/[HA])$

Solubilidade: ++/+/– (alta, média, baixa)

Fonte: Adaptado de ROTH (2000)

Para BELLAVER & SCHEUERMANN (2004), os ácidos orgânicos são ácidos fracos, por serem de cadeia curta, apresentarem de um a sete

carbonos e que ao dissociarem produzem menor quantidade de prótons. Como são expressos logaritmicamente, entende-se que uma unidade de pH acima do pKa de um ácido, indica que 90% do ácido encontra-se na forma não dissociada e, com duas unidades de pH acima do pKa, 99% do ácido estará não dissociado. Esta particularidade é importante no processo digestivo, pois na dependência do pH dos compartimentos digestivos haverá ação ou não do ácido, o qual poderá agir, conforme KORNEGAY et al. (1994), na melhoria da digestibilidade aparente da proteína bruta por reduzir o pH gástrico e favorecer as enzimas proteolíticas. Esse processo reduz a taxa de esvaziamento gástrico, elevando assim o tempo para a digestão proteica no estômago, evitando o efeito tampão. VAN SOEST et al. (1991) relataram que a capacidade tamponante da dieta é definida como a facilidade de uma molécula reter ou trocar cátions de hidrogênio conforme o pH do meio.

Conforme PIVA et al. (2007) a utilização de compostos naturais para impedir o crescimento de agentes patógenos tem sido crescente. A limitação da dose efetiva de ácidos orgânicos na regulação da microbiota intestinal pode causar rápida absorção. Este processo pode ser superado por microencapsulamento ou proteção dos compostos ativos em uma matriz que se pode dissolver a medida que passa ao longo do intestino. A proteção dos ácidos torna-se vantajosa, pois a acidificação do meio será gradativa e prolongada no trato gastrointestinal.

2.2.1 Ácido butírico

O ácido butírico, na forma não dissociada $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$, deriva do latim *butyrum* que significa manteiga; fornece odor peculiar à rancidez da manteiga. Na indústria, é usado para sintetizar aromas, em fármacos e em agentes emulsificantes (PARKER, 1997), apresenta líquido em temperatura ambiente e sólido na forma de sal solúvel, butirato de sódio ($\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2\text{Na}$).

Dentre os ácidos orgânicos existentes, o butírico se destaca por induzir a proliferação celular a partir da base das criptas e desta forma ocorrerá estímulo da reposição e da manutenção da mucosa intestinal saudável. Para

células neoplásicas, ocorrem inibição e proliferação na parte superficial da cripta, local propício a tumores de cólon. Além de evitar a proliferação de células cancerígenas, irá elevar o armazenamento de glicogênio (YOUNG & GIBSON, 1991). De acordo com as pesquisas, o butirato de sódio tem capacidade de se manter na forma não dissociada e favorecer assim os microrganismos benéficos e controlar os patogênicos.

2.2.2 Ácido benzóico

De acordo com MROZ et al., (2000), o ácido benzóico, $(C_6H_5)COOH$ pode ser encontrado em frutas frescas, nos cogumelos, no cravo da Índia, na canela, em alguns derivados do leite e no azeite de aniz. Comercialmente, é preparado a partir do tolueno. Sua apresentação é em forma de cristais na cor branca conhecida como benzoato. Para GHELIER et al. (2009), esse, quando utilizado na alimentação dos monogástricos tem o poder de reduzir a capacidade tampão das dietas e elevar a acidez da urina. Entre os ácidos orgânicos, o ácido benzóico é considerado o mais importante ácido carboxílico aromático.

Conforme FRIAS et al. (1996), o ácido benzóico foi um dos primeiros produtos utilizados para conservação de alimentos. Tem como vantagem não acumular resíduo no organismo, porque se liga à glicina e é transformado em ácido hipúrico, o qual é facilmente eliminado pelos rins. Por esse motivo não possui efeitos tóxicos. Para TFOUNI & TOLEDO (2001) a formação de ácido hipúrico a partir de ácido benzóico é um processo saturável, o qual tem a disponibilidade da glicina como um fator limitante, porém a eliminação do ácido benzóico é considerada relativamente rápida.

2.3 Modo de ação dos acidificantes

Os ácidos orgânicos possuem efeito acidificante, inibindo ou retardando o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis por reduzir o pH da ração. A adição de ácidos orgânicos induz maior redução do pH no estômago, resultando em menor tempo para atingir valor ótimo de pH que se situa entre 3 e 4 (SCHÖNER, 2001) e que favorece o desenvolvimento de microrganismos benéficos (WALSH et al., 2004). Com a redução do pH e o esvaziamento estomacal, a hidrólise de proteínas é incrementada, a qual benéfico na digestão (SCHÖNER, 2001) por aumentar a atividade das enzimas proteolíticas e o tempo de retenção gástrica (BRUMANO & GATTÁS, 2009), ou seja, a redução do efeito tamponante. Conforme MROZ et al. (2000) e KRYGIEROWICZ (2010) a capacidade tamponante altera o efeito do ácido orgânico no trato gastrintestinal.

Os ácidos exercem dois efeitos distintos sobre os microrganismos. Em primeiro lugar, existe o efeito antimicrobiano devido à acidez em si, isto é, a redução do pH extracelular por um ácido dissociado. O segundo efeito é mais importante, devido à capacidade de um ácido na forma não dissociada ter efeito antimicrobiano específico e poder difundir-se passivamente através das paredes das bactérias e dissociar-se. O aumento na concentração dos íons H⁺ fará com que o pH interno diminua, o que é incompatível com certas categorias de bactérias que não toleram um gradiente significativo de pH em ambos os lados da membrana. Neste caso, um mecanismo de resistência que reage a este tipo de estresse celular, em que os prótons são bombeados para fora da bactéria, por ação da bomba ATPase. Este processo consome energia e esgota a bactéria. Portanto, dependendo do pH interno, ânions irão acumular-se, modificando a pressão osmótica interna e tornar-se tóxico para a bactéria, interrompendo a glicólise, a síntese de ácidos nucleicos, as reações enzimáticas e causando também distúrbios de transporte na membrana (PALENZUELA, 2002).

Todos os microrganismos têm pH ótimo de crescimento e intervalo de pH fora do qual resulta na impossibilidade de proliferação. Isto se refere ao pH do meio extracelular, já que o pH intracelular tem que estar,

necessariamente, perto da neutralidade, inclusive os microrganismos acidófilos que crescem melhores em pHs ácidos. A manutenção destas condições adequadas de pH se consegue mediante a diversos mecanismos de homeostase (BOOTH, 1985).

Neste sentido, os acidificantes têm sido adicionados às dietas dos leitões desmamados há muitos anos com resultados positivos. Porém, de acordo com CAPLICE & FITZGERALD (1999), MROZ (2005), KRISTENSEN et al. (2009), o modo específico de ação dos ácidos orgânicos ainda não está bem fundamentado, mas existem alguns esclarecimentos como: as formas dissociadas se difundem através das membranas celulares dos agentes patogênicos, destruindo seu citoplasma ou inibindo o crescimento (inativação de bactérias descarboxilases e catalases); ocorre dissociação no intestino liberando íons H^+ , que serve como barreira pela redução do pH, evitando assim a colonização de patógenos; ocorre redução do pH gástrico em complementaridade com HCl endógeno; há hidrólise gástrica, liberando íons H^+ , ativando o pepsinogênio e inibindo os efeitos do crescimento bacteriano, causando efeito bactericida ou bacteriostático; serve de substrato energético ou regulador, estimulando assim o desenvolvimento da mucosa, o crescimento das células epiteliais e elevando a capacidade de absorção; são precursores para a síntese de aminoácidos não essenciais, DNA e lipídios necessários para o crescimento da mucosa intestinal; facilita o aumento do fluxo sanguíneo e o efeito hipocolesterolêmico; e redução acentuada do pH urinário.

Investigações feitas por MAZZONI et al. (2008) mostraram que o butirato de sódio causa impacto na estrutura da mucosa e na função gástrica dos leitões desmamados e que não pode ser explicado pela sua função ácido. A suplementação com butirato de sódio a partir do desmame até a morte estimulou mais células para diferenciar-se em células enteroendócrinas. Além disso, ocorreu aumento do número de células por glândula parietal. Este foi o primeiro estudo que demonstra a capacidade do butirato de sódio em complementar os mecanismos celulares de diferenciação e de controlar o crescimento do tecido saudável no estômago.

Na fase pós-absortiva, os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) podem desempenhar diversas funções de regulação para controlar o

crescimento da mucosa, proliferação de células epiteliais, apoptose e regulação de transição de proteínas, a modulação da expressão genética, equilíbrio sistêmico ácido base, bem como no metabolismo energético de todo o corpo (MROZ, 2005).

De acordo com SILVA JUNIOR (2009), o intestino saudável é rico em ácido láctico, e produtos que contenham este ácido vão beneficiar os animais. No intestino saudável e equilibrado há menores chances de exercerem ações deletérias ao organismo ou positividade para bactérias patogênicas como *E. coli*, *Salmonella* sp., *Campilobacter* spp. e *Clostridium* spp.. Este princípio explica a relação e potencial sinergia de todos os produtos que promovem maior equilíbrio da flora e absorção de nutrientes, pois os dois fatores estão intrinsecamente relacionados para digestão eficiente e boa saúde animal.

TONEL (2009) afirmou que para prevenir a ocorrência de desordens intestinais em larga escala, a mucosa intestinal promove alguma imunidade. Patógenos são removidos por mecanismo complexo, excluir células infectadas e desenvolver memória imunológica que induz rápida resposta contra o mesmo antígeno numa subsequente exposição. O sistema imunitário intestinal precisa ser eficiente para prevenir reações de hipersensibilidade contra proteínas alimentares, microbiota anormal e macromoléculas inócuas presentes no organismo.

2.4 Pesquisas sobre a utilização de ácidos orgânicos puros ou combinados na dieta de leitões desmamados

KNARREBORG et al. (2001) e NAUGHTON & JENSEN (2001) investigaram o efeitos dos ácidos fórmico, propiônico, butírico, láctico, benzóico, fumárico e diformato de potássio sobre as alterações de população de coliformes e a produção de bactérias lácticas no ácido gástrico da digesta em pH 3, 4 e 5; e no conteúdo do parte proximal do intestino delgado, em pH 5,6 e 7. Os pesquisadores observaram remoção de bactérias e coliformes da digesta gástrica. O efeito bactericida foi de acordo com a seguinte ordem:

propionico, fórmico, butírico, láctico, fumárico e benzóico. O ácido benzóico foi superior por ter apresentado efeito bactericida sobre coliformes, bem como bactérias lácticas ou produtoras de ácido láctico. Em outro estudo, JENSEN et al. (2001) demonstraram que a potência desses ácidos contra *Salmonella* na digesta gástrica em pH 4 estava na seguinte ordem: acético, fórmico, propionico, láctico, sórbico e benzóico.

RIBEIRO et al. (2002) avaliaram diferentes níveis de ácido fumárico nas rações de leitões no desempenho e na ocorrência de diarreia. Foram utilizados 15 leitões machos castrados e 15 fêmeas, mestiços, alimentados nas fases inicial I (da desmama aos 10 kg de peso) e fase inicial total (da desmama aos 70 dias de idade), de rações com 0, 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0% de ácido fumárico e, nas fases de crescimento e terminação, rações específicas para estas fases. A adição de 1,0% de ácido fumárico à dieta preveniu o aparecimento de diarreia nos 10 primeiros dias pós-desmama. Na fase inicial total, houve efeito dos tratamentos sobre o consumo diário de ração e os animais que receberam 1,0% de ácido fumárico apresentaram maior consumo diário de ração sem afetar o desempenho nas fases inicial, crescimento e terminação.

WASH et al. (2003), ao estudarem a mistura de ácidos orgânicos e inorgânicos na dieta de leitões em creche comparados à dieta com antibiótico, observaram menor presença de *E. coli* nos suínos alimentados com dietas com a combinação dos ácidos. Foi encontrado *salmonella* nas fezes dos suínos alimentados com dietas com antibiótico e mistura de ácido orgânico. Quanto ao pH fecal, não houve diferença entre os tratamentos. A mistura de ácido orgânico e inorgânico apresentaram desempenho similar ao uso ou não do antibiótico e as dietas com mistura de ácidos orgânicos e inorgânicos reduz o desenvolvimento de *E. coli* nas fezes e beneficia a saúde dos suínos a longo prazo.

Estudos foram realizados por CORASSA et al. (2006) para avaliar o desempenho de leitões desmamados, alimentados com dietas compostas por diferentes níveis de ácido fólico e suplementados com ácido fólico dos 21 aos 35 e dos 36 aos 48 dias. Não houve efeito dos níveis de ácido fólico no consumo diário de ração em nenhum dos períodos. A adição de ácido fólico melhorou o ganho diário de peso de forma quadrática de 21 a 48 dias,

enquanto a conversão alimentar foi influenciada pelos níveis de ácido fólico apenas o primeiro período.

PLITZNER et al. (2006) constataram em seus estudos que o ácido benzóico foi eficaz em reduzir o pH urinário, favorecendo assim a excreção de NH_3 , resultando em perdas gasosas de nitrogênio amoniacal. Além dos efeitos positivos sobre o meio ambiente, ocorre menor exposição dos suínos ao gás NH_3 , o qual pode ser favorável à saúde dos animais. TORRALARDONA et al. (2005) também confirmaram redução do pH da urina de leitões que alimentaram de dieta com ácido benzóico. Esta redução ocorreu devido à concentração mais elevada de ácido hipúrico resultante do metabolismo de ácido benzóico.

GOMES et al. (2007) estudaram o desempenho e as características morfológicas e morfométricas do intestino delgado leitões desmamados em dois períodos experimentais: 15-30 e 15-36 dias de idade. As dietas foram acrescidas dos ácidos: fumárico, butírico e fórmico, fazendo ou não a combinação destes. Os pesquisadores observaram que não houve influência sobre o peso dos leitões aos 30 dias, porém houve efeito significativo de tratamento sobre o ganho de peso diário e o consumo diário de ração no período de 15-30 dias de idade. Houve maior desempenho para leitões alimentados com dietas suplementadas apenas com ácido fumárico (0,5%). Maior consumo diário de ração foi observado para leitões alimentados com dietas suplementadas apenas com ácido fumárico. Houve diferença entre tratamentos para a altura do epitélio do duodeno, porém não houve diferença em relação à do jejuno e à do íleo. As vilosidades do duodeno dos animais que receberam o tratamento controle apresentaram-se alongadas, em formato de língua, com poucas deformidades, sendo classificadas como normais. De modo semelhante, as vilosidades do duodeno dos animais que receberam os diferentes tratamentos apresentaram-se com aspecto típico do segmento, ou seja, alongadas, formato de folhas, poliformismo natural, comum aos diferentes segmentos do intestino delgado.

Com o objetivo de investigar as concentrações *in vivo* de ácido sórbico e vanilina como indicadores da fermentação microbiana e eventuais consequências PIVA et al. (2007) estudaram leitões em fase de crescimento

para testar mistura protegida e não protegida de fumárico, málico, cítrico, sórbico. Suínos alimentados com mistura protegida apresentaram menor concentração de coliformes no jejuno caudal e ceco. Suínos alimentados com ração controle ou mistura protegida apresentaram maior concentração do ácido láctico na contagem de bactérias no ceco comparados aos suínos alimentados com a mistura não protegida, assim como maiores valores de pH no jejuno caudal. Os autores afirmaram que os ácidos orgânicos protegidos impedem o imediato desaparecimento dos compostos ao sair do estômago, permanecendo assim por mais tempo ao longo do trato gastrintestinal permitindo agir sinergicamente na microflora intestinal e reduzir a contagem de coliformes.

SILVA et al. (2008) avaliaram o desempenho, a digestibilidade e a viabilidade econômica de leitões desmamados suplementados com maltodextrina em substituição parcial à lactose e misturas de acidificantes (ácido propiônico, ácido fórmico, ácido acético, ácido cítrico e ácido fosfórico). Os pesquisadores concluíram que o composto acidificante não influenciou o valor nutricional das rações, porém a maltodextrina combinada com o acidificante, resultou em redução de 4,3% no custo por kg de peso ganho em relação ao tratamento sem maltodextrina e com acidificante. Os autores afirmaram que em virtude dos ensaios terem sido realizados em instalações adequadas, limpas, com vazio sanitário mínimo de 15 dias, e os animais terem sido alimentados com rações complexas e ração pré-inicial na maternidade, pode não ter permitido ação favorável dos ácidos orgânicos no desempenho dos leitões.

Ao determinar os efeitos do butirato de sódio em relação à tilosina e carbadox no desempenho e na resposta imune a lipopolissacarídeos de *Escherichia coli* em leitões desmamados aos 28 dias, WEBER & KERR (2008) observaram que não houve diferença no desempenho quando comparados aos animais que receberam dieta controle, podendo ser atribuído à complexidade das dietas em que todas continham plasma suíno. No entanto, suínos desafiados apresentaram aumento nos níveis séricos de citocina e cortisol. Os autores concluem que o butirato de sódio pode regular a resposta a estímulos inflamatórios em leitões recém-desmamados, porém novas pesquisas são necessárias para suínos sujeitos a estímulos inflamatórios.

GHELER et al. (2009) avaliaram a inclusão de ácido benzóico na dieta e seus efeitos no desempenho e nas características morfológicas intestinais do duodeno e a incidência de diarreia em 40 leitões dos 28 a 70 dias de idade. Os autores concluíram que o desempenho de suínos no período de 28 a 70 dias de idade melhora com a adição de ácido benzóico na ração. Os níveis de 0,50% e 0,75% são mais eficientes na redução da incidência de diarreia. Além dos benefícios no desempenho, animais alimentados com dietas compostas por ácido benzóico apresentam maior altura de vilosidade e profundidade de criptas.

GEBRU et al. (2010) compararam dietas com ácidos orgânicos microencapsulados, dieta com antibiótico e a combinação das duas em leitões na fase de crescimento desafiados oralmente com *Salmonella* e observaram que o uso de ácidos orgânicos beneficiou o desempenho dos leitões de forma semelhante aos antibióticos.

2.5 Ácido fítico

Diversos aditivos têm sido utilizados na dieta dos suínos em busca de melhor desempenho e rentabilidade. Além da inclusão de ácidos orgânicos, a enzima fitase tem sido estudada e vem apresentando resultados satisfatórios. Seu uso é justificado pelo fato da ração ser composta em grande parte por ingredientes de origem vegetal, em especial o milho e o farelo de soja. Estes apresentam cerca de dois terços do seu fósforo complexado na molécula de ácido fítico e não são utilizados pelos suínos porque estes não sintetizam a enzima fitase necessária para hidrolisar o referido complexo (COSTA et al., 2004). Para CORLEY et al. (1980), os cereais possuem mais da metade do fósforo na forma de fitato, com disponibilidade biológica que varia entre 18 e 60%. Por isso, de acordo com SMITH et al., (2004), há necessidade de fazer a suplementação com minerais contendo fósforo, o que favorece a ocorrência de altos teores de fósforo nos dejetos.

A quantidade de fósforo excretado pelos suínos é alta porque os cereais: milho e trigo, usados nas rações contêm 80% a 90% de fósforo

orgânico na forma de ácido fítico ou hexafosfato de inositol (TURNER et al., 2002; LEYTEM et al., 2004; LEI & PORRES, 2003; MINGGANG et al., 1997). O conteúdo de ácido fítico no milho e no trigo varia de 66% a 78% do fósforo total e no farelo de soja varia de 45% a 61% (PETERSEN, 2001).

É importante esclarecer que é comum o uso dos nomes fitato, ácido fítico e fitina. No entanto, de acordo com SELLE & RAVINDRAN (2007), o termo utilizado com mais frequência é o fitato, o qual refere-se ao sal misto de ácido fítico (mio-inositol hexafosfato). Fitina, refere-se especificamente ao complexo de mio-inositol hexafosfato com potássio, magnésio e cálcio, forma que é encontrado nas plantas, enquanto o ácido fítico é a forma livre do anel de myo-inositol hexafosfato.

O ácido fítico, fitato, hexafosfato de mio-inositol, ou IP6 é um ácido orgânico que contém fósforo, ($C_6H_{18}O_{24}P_6$), componente natural da maioria das sementes, constituindo de 1% a 5% do peso das leguminosas e cereais, e respondendo por 60% a 90% do fósforo total (CHERYAN, 1980, MAGA, 1982, GRAF, 1983).

A importância do ácido fítico do ponto de vista antinutricional, deve-se principalmente à sua capacidade de formar complexos com cálcio, ferro, zinco, cobre e magnésio no alimento *in natura* e no trato intestinal, diminuindo assim a sua biodisponibilidade (CHERYAN, 1980, FORBES, 1984, SGARBIERI, 1987). Neste sentido, o ácido fítico desenvolve duas ações antinutricionais: inibidor de protease e a outra por combinação com minerais, formando sais inabsorvíveis no trato intestinal (KHAN et al. 1991). Além disso, conforme COSTA et al. (2004), o fitato diminui a disponibilidade das moléculas de glicose conjugadas.

2.6 Fósforo

De acordo com NUNES (1998), além de ser importante na constituição do tecido ósseo, o fósforo é essencialmente envolvido em quase todos os aspectos do metabolismo. O desempenho animal está estreitamente relacionado com os níveis de cálcio e de fósforo da dieta. Cerca de 80% do

fósforo requerido pelo organismo dos animais participa da formação dos ossos e dentes. Conforme NUNES (1998) e BERTECHINI (2012), o restante está distribuído nos tecidos moles desempenhando funções específicas essenciais ao metabolismo orgânico. O fósforo é constituinte de fosfoproteínas e fosfolípídeos do sistema nervoso, participa da formação da lecitina, de sistemas enzimáticos, no metabolismo dos carboidratos, aminoácidos e das gorduras (sistemas enzimáticos), participa do metabolismo energético (ATP, ADP, GTP, UDPG e fosfocreatina) e dos ácidos nucleicos, participa do equilíbrio ácido básico do sangue, no transporte de gorduras (lipoproteínas transportadoras – fosfolípídeos) e de produtos de ligação do DNA-RNA.

Alguns fatores estão relacionados ao aproveitamento de fósforo como: excesso de cálcio de alta solubilidade intestinal, ou seja, granulometria muito fina, por resultar em redução de absorção do fósforo, pela formação de fosfatos insolúveis no intestino delgado. O excesso de fósforo é mais prejudicial do que o excesso de cálcio e a absorção de fósforo depende da absorção de cálcio. A vitamina D e o parathormônio também estão envolvidos na absorção de fósforo (BERTECHINI, 2012).

Ainda conforme BERTECHINI (2012), quanto à biodisponibilidade, existe variações em relação às fontes existentes. O fósforo inorgânico e o de fontes proteicas de origem animal são considerados com 100% de disponibilidade. Já o fósforo de origem vegetal possui disponibilidade média de 1/3 do total, o qual depende do teor de fósforo fítico.

Considerando que as dietas de suínos no Brasil são formuladas a base de ingredientes de origem vegetal, geralmente grãos de cereais, produtos que têm elevados níveis de ácido fítico (PACHECO et al. 2012), o qual possui elevado poder de quelatação, com alta afinidade pelos cátions polivalentes cálcio, ferro, zinco, cobre e manganês, interferindo na biodisponibilidade desses minerais (SELLE et al., 2000) . Assim, o ácido fítico pode reduzir a eficiência de utilização dos nutrientes e causar aumento da poluição ambiental, devido à excreção excessiva de nutrientes não absorvidos, especialmente N e P (LENIS & JONGBLOED, 1999).

Como os dejetos de suínos são muito utilizados para fertilização de solos, um dos problemas mais sérios que pode ocorrer é a poluição das águas,

considerando as repetidas aplicações de grandes quantidades nas mesmas áreas. Como as plantas não são capazes de absorver as quantidades aplicadas nos solos com dejetos pode ocorrer excesso de fósforo acarretando em perdas desse elemento por erosão e lixiviação (SEGANFREDO, 2001).

O excesso de fósforo, assim como de nitrogênio e de outros nutrientes, favorece o desenvolvimento desordenado de algas. A decomposição destas algas consome o oxigênio dissolvido na água. A este crescimento de algas e ao consumo de oxigênio dissolvido é dado o nome de eutrofização que compromete o crescimento de espécies aquáticas, como peixes e crustáceos. O fósforo em excesso fica acumulado no solo e só é dissolvido na água dos rios quando a capacidade de retenção dele pelo solo fica prejudicada (PENZ JÚNIOR, 2000).

2.7 Fitase

A enzima fitase (mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase) é uma fosfatase, enzima que catalisa a hidrólise do ácido fítico a fosfato de inositol, myo-inositol e fósforo inorgânico, encontrada em sementes de plantas, cereais, grãos, fungos como *Aspergillus niger*, bactérias como *Enterobacteriaceae*, leveduras e microrganismos do rúmen (SILVA, 2003).

Existem quatro possíveis fontes de fitase para suínos: fitase intestinal, nas secreções digestivas; fitase endógena presente em alguns ingredientes das dietas; fitase originada a partir de bactérias da flora microbiana; e fitase produzida por microrganismos exógenos (KORNEGAY & YI, 1996).

A atividade da fitase na mucosa intestinal de suínos é reduzida, devido à baixa produção da enzima endógena por estas espécies. Nos suínos, a atividade da flora microbiana tem atuação no intestino grosso. Assim, a fitase microbiana produzida por estes microrganismos promove a hidrólise do fitato liberando o fósforo sem que o animal se beneficie (Figura 1), sendo excretado nas fezes (VATS & BANERJEE, 2004).

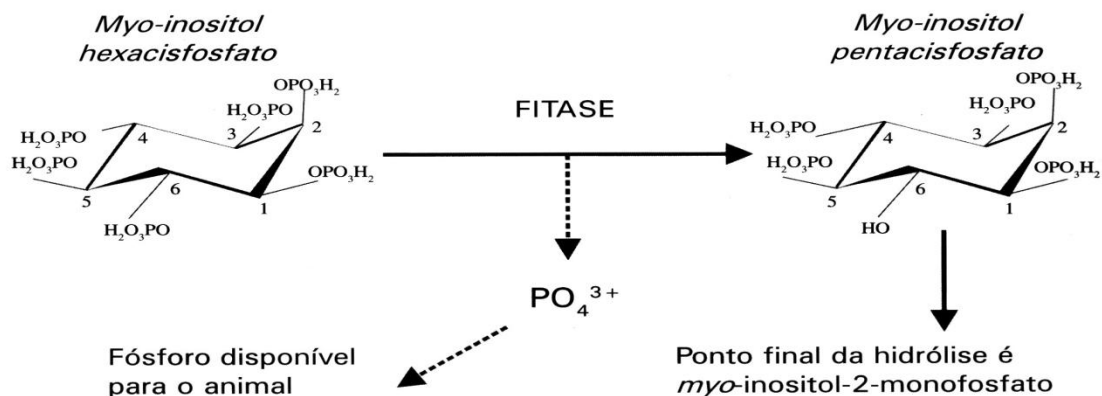


Figura 1 - Liberação de fósforo do ácido fítico pela ação da fitase

Fonte: (PETERSEN, 2001)

Dois tipos de fitases são conhecidos: 3-fitase e 6-fitase. A primeira produzida por microrganismos e a segunda normalmente produzida por plantas. A 3-fitase inicia a desfosforilação do fitato na posição três, enquanto a 6-fitase inicia na posição seis. Seus modos de ação conseqüentemente são diferentes, assim como suas curvas de pH e de temperatura. A 6-fitase apresenta atividade em pH (5,2) e temperatura de 45°C a 60°C, enquanto a 3-fitase, produzida por uma cepa de *Aspergillus* apresenta dois pH(s) ótimos (2,5 e 5,5) e temperatura variando de 35°C a 63°C, sendo mais efetiva (KIES, 1996).

Uma unidade de fitase (FYT, UF ou FTU) é definida, conforme ENGELEN et al. (1994), como a quantidade de enzima que libera um micromol (μmol) de fósforo inorgânico por minuto, proveniente do fitato de sódio 0,0015 mol.L⁻¹ a pH 5,5 e temperatura de 37°C.

A enzima fitase produzida pelo *Aspergillus niger* tem sido utilizada com sucesso nas rações de suínos, com a função de liberar parte do fósforo complexado na forma de fitato e melhorar a digestibilidade da proteína bruta, dos aminoácidos e a absorção de minerais (McKNIGHT, 1996).

Níveis de cálcio acima de 0,70% em pH 6,0 permitem a reação do cálcio e ácido fítico, formando o fitato de cálcio, que é um complexo inacessível à fitase pela competição do cálcio pelos sítios ativos da enzima (WISE, 1993). Assim, para o desarranjo máximo do fitato, é necessário que os níveis de cálcio mantenham a relação de Ca:P total de 1,71:1 e 3:1 (BEERS & JONGBLOED,

1992), embora KORNEGAY & YI (1996) mencionem que não é conhecido se o fósforo disponível influencia a atividade da fitase.

De acordo com ROCHA et al. (2008) em estudo realizado para verificar o efeito da inclusão de um complexo de ácidos orgânicos (AO) e diferentes níveis de fitase em dietas de leitões na creche, concluíram que o complexo de AO associado à 500UF/kg resultou em melhor ganho de peso médio diário GPMD.

Em pesquisas realizados por HAN et al. (1997) observaram que a substituição de fósforo inorgânico por fitase é fisiologicamente viável e economicamente vantajosa para suínos em fase de crescimento e terminação. De acordo com MURRY et al. (1997); HARPER et al. (1997), a ação da fitase se reflete no desempenho de suínos e na excreção de fósforo nos dejetos, que pode ser reduzido entre 20% e 50%.

Em estudos realizados por LUDKE et al. (2000) para avaliar dietas com ou sem farelo de arroz desengordurado (FAD), suplementadas com fitase resultou em eficiência similar entre a suplementação com fosfato bicálcico no desempenho de suínos. Entretanto, a fitase ocasionou redução na excreção de cálcio e de fósforo, nas fezes e na composição óssea dos animais, somente em dietas sem FAD, fato explicado pelo seu alto teor de fósforo total de 1,81% e disponível de 0,36%.

Resultados realizados por SILVA et al. (2005) para verificar o efeito de quatro níveis de fitase na excreção e no teor de minerais nos ossos de suínos em crescimento, mostraram que a fitase diminuiu a excreção fecal de manganês e melhorou a incorporação de manganês nos ossos dos suínos, indicando que a fitase pode ser efetiva na redução da poluição ambiental através da redução da excreção e aumento na absorção dos minerais das rações.

SILVA et al. (2003) avaliaram suínos em crescimento, alimentados com rações à base de milho, farelo de soja e FAD sobre a excreção de cálcio e fósforo nas fezes, concluíram que a suplementação com níveis crescentes de fitase propiciou redução na excreção de minerais nas fezes.

Para estudar a ação conjunta de duas enzimas exógenas na dieta de suínos em crescimento, FIREMAN et al. (2000) avaliaram o desempenho e o

custo de produção de suínos, utilizando 50% de farelo de arroz integral (FAI) suplementados com fitase ou carboximetilcelulase, ou ainda com as duas enzimas combinadas, além de uma dieta convencional a base de milho e soja. Concluíram, que o uso de dietas contendo 50% de FAI, com ou sem enzima, não afetou o desempenho dos animais, porém reduziu o custo do Kg do suíno produzido, o custo médio da alimentação por kg de peso vivo produzido em relação às dietas baseadas em milho e soja.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da inclusão de fitase e ácidos orgânicos na ração de leitões nas fases pré-inicial (6,7 kg aos 15,0 kg) e no período total (6,7 kg aos 25 kg) de peso vivo médio.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o desempenho quanto às variáveis: consumo médio diário (CMD), ganho de peso médio diário (GPMD) e conversão alimentar (CA) nas fases pré-inicial (6,7 kg aos 15,0 kg), fase inicial (6,7 aos 15 kg) e no período total (6,7 kg aos 25 kg) de peso vivo médio;

- Avaliar os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS), da proteína bruta (CDPB), da energia bruta (CDEB), da matéria mineral (CDMM), do cálcio (CDCa) e do fósforo (CDP) nas fases pré-inicial (6,7 kg aos 15,0 kg) e na fase inicial (6,7 aos 15 kg) de peso vivo médio;

- Avaliar os coeficientes de metabolização da matéria seca (CDMS), da proteína bruta (CDPB), da energia bruta (CDEB), coeficiente da matéria mineral (CDMM), do cálcio (CDCa), do fósforo (CDP), nas fases pré-inicial (6,7 kg aos 15,0 kg) e na fase inicial (6,7 aos 15 kg) de peso vivo médio; e

- Avaliar o escore fecal nas fases pré-inicial (6,7 kg aos 15,0 kg) e no período total (6,7 kg aos 25 kg);

- Investigar a presença de *E. Coli* e *Salmonella* no conteúdo intestinal e na urina, o pH do conteúdo estomacal e do intestino delgado, a histomorfometria do intestino delgado, a resistência óssea e a presença de Ca e de P nos metacarpos dos leitões aos 25 kg de peso vivo médio.

4 REFERÊNCIAS

1. ALLTECH. **Produção de suínos sem antibióticos promotores de crescimento**. Paraná. 2008. (Manual Técnico). 55p.
2. ARGENZIO. Funções secretórias do trato gastrointestinal. In: DUKES. (Ed.). **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.320-329.
3. BEERS, S.; JONGBLOED, A. W. Effect Aspergillus niger pHydase on their performance and apparent digestibility of pHospHorus. **Animal Production**, v. 55, n. 3, p. 425-430, 1992.
4. BELLAVER, C. & SSHEUERMANN, G. **Aplicações dos ácidos orgânicos na produção de aves de corte**. In: Conferencia AVESUI, 2004, Florianópolis-SC, 16p. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/publicacao_h6n45p3z.pdf>. Acesso em: 08 set. 2013.
5. BERTOL, T. M. **Alimentação dos leitões na creche de acordo com a idade de desmame**. Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves, 1999. (Instrução Técnica para o Suinocultor; 13). 2p.
6. BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras, Ed. UFLA, 2012, 373p.
7. BOOTH, I. R. Regulation of Cytoplasmic pH in Bacteria. **Microbiological reviews**, v.49, n.4, p.359-378. 1985.
8. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Apoio Rural e Cooperativismo. Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004. **Sistema de Legislação Agrícola Federal**. Brasília: MAPA, 2004. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=10195>>. Acesso em: 13 de novembro de 2009.
9. BRAZ, B. D. **Acidificantes como alternativas aos antimicrobianos melhoradores de desempenho de leitões na fase de creche**. 2007.79f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007. Disponível em: <<http://scielo.isciii.es/pdf/azoo/v60n231/art62.pdf>>. Acesso em: 08 set. 2013.

10. BRUMANO, G.; GATTÁS, G. Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento em rações de aves e suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.6, n.2, p.856-875, 2009.
11. CAPLICE, E.; FITZGERALD, G.F. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. **International Journal Food Microbiology**, v.50, n. 1-2, p.131-149, 1999.
12. CHERYAN, M. Phytic acid interactions in foods systems. CRC. Critical Reviews In: **Food Science and Nutrition**. Boca Raton , v.13, n.4, p.297-355, 1980.
13. CHIQUIERI, J.; SOARES, R. T. R. N.; LYRA, M. S.; NERY, V. L. H.; FONSECA, J. B. Ácidos orgânicos na alimentação de leitões desmamados. **Archivos de Zootecnia**, v. 58, p. 610, 2009. Disponível em:<http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/img/web/19_14_02_32NotaAcidosChiquieri.pdf>. Acesso em: 08 set. 2013.
14. CORASSA, A.; LOPES, D.C.; OSTERMANN, J.D.; SANFELICE, M. A.; TEIXEIRA, A. de O.; SILVA, F. F. da; PENA, S. de M. Níveis de ácido fólico em dietas contendo ácido fórmico para leitões de de 21 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.462-470, 2006.
15. COSTA, F. G. P.; JACOME, I. M. T. D.; SILVA, J. H. V. da; ARAÚJO, M. J. de; CAMPOS, K. M. F. de; BARBOSA, J. P. N. P.; SIVA, J. C. A. da; NASCIMENTO, G. A. J. do; CLEMENTINO, R. H. Níveis de fósforo disponível e de fitase na dieta de poedeiras de ovos de casca marrom. **Ciência Animal Brasileira**, v. 5, n.2, p. 73-81, 2004.
16. CORLEY, J.R., BAKER, D.H., EASTER, R.A. Biological availability of phosphorus in rice bran and wheat bran as affected by pelleting. **Journal of Animal Science**, v.5, n. 2, p.286-292, 1980.
17. DIBNER, J.J.; BUTTIN, P. Use of Organic Acids as a Model to Study the Impact of Gut Microflora on Nutrition and Metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, v.11, p. 453-463, 2002.
18. DUKES. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

19. ENGELEN, A. J.; VAN DER HEEFT, F.C.; RANDSDORP, H. P.; SMIT, E. L. Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal of AOAC International**, v. 77, n. 3, p. 760-764, 1994.
20. FIREMAN, F. A. T.; LOPES, J.; BARBOSA, A. K.; FIREMAN, A. T. Desempenho e custo de suínos alimentados com dietas contendo 50% de farelo de arroz integral suplementados com fitase e/ou celulase. **Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal**, v.8, n.1, p.18-23. 2000.
21. FORBES, R. M.; PARKER, H. M.; ERDMAN, J. W.; Effects of dietary phytate, calcium and magnesium levels on zinc bioavailability to rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 114, n.7 p. 1421-1425, 1984.
22. FRÍAS, I.; ALVAREZ, R.; SIERRA, A.; HARDISSON, A. **Aspectos Bromatologicos y Toxicologicos de los Conservantes Benzóico y Sorbico**. Madrid: Alimentaria, v. 273, p.109-114, 1996.
23. GAUTHIER, R. The mode of action of acidifiers and the interest they generate in the growing-finishing phase. In: **Current Developments in Pig Production**, French Association of Swine Practitioners, Maisons-Alfort. 2002. 16 p.
24. GEBRU, E.; LEE, J. S.; SON, J. C.; YANG, S. Y.; SHIN, S. A; KIN, B.; KIM, M. K.; PARK, S. C. Effect of probiotic-, bacteriophage-, or organic acid-supplemented feeds or fermented soybean meal on the growth performance acute-phase response, and bacterial shedding of grower pigs challenged with *Salmonella enterica* serotype *Typhimurium*. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 3.880-3.886, 2010.
25. GHELER, T. R.; ARAÚJO, L. F.; SILVA, C. C.; GOMES, G. A.; PRATA, M. F.; GOMIDE, C. A. Uso de ácido benzóico na dieta de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p.2182-2187, 2009.
26. GOMES, F. E.; FONTES, D. O.; SALIBA, E. O. S.; FERREIRA, W. M.; FIALHO, E. T.; SILVA, F. C. O.; SILVA, M. A.; CORRÊA, G. S. S.; SALUM, G. M. Ácido fumárico e sua combinação com os ácidos butírico ou fórmico em dietas de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.59, n.5, p.1270-1277, 2007.
27. GRAF, E. Applications of phitic acid. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 60, n. 11, p. 1861-1866, 1983.

28. HAN, K.; CHOI, H. L.; KWON, K. Study on the effect of inorganic phosphorus sources and phytase supplementation en weaning-growing barrows. **Arquivo Latino-Americano de Produção Animal**, v. 5 (Suppl 1), p. 297-299, 1997.
29. HARPER, A. F.; KORNEGAY, E. T.; SCHELL, T. C. Phytase supplementation of lowphosphorus growing-finishing pig diets improves performance phosphorus digestibility and bone mineralization and reduces phosphorus excretion. **Journal of Animal Science**, v. 75, n.4, p.1017-1025, 1997.
30. JENSEN, P.; STANGEL, G. Behavior of piglets during weaning in a semi-natural enclosure. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 33, p. 227-238, 1992.
31. JENSEN, 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.
32. JENSEN, B. B.; MIKKELSEN, L. L.; CANIBE, N.; HOYBERG, O. Salmonella in slaughter pigs. Annual Report 2001 from the Danish Institute of Agricultural Sciences, **Research Centre Foulum**, Tjele, Denmark, 2001. p.23.
33. KELLY, D., SMITH, J.A., McCRAKEN, K.J. Digestive development of the early-weaned pig. 2. Effect of continuous nutrient supply on the development of the digestive tract and on changes in digestive enzyme activity during the first week post-weaning. **British Journal of Nutrition**, v.5, n.2, p.169-180, 1991.
34. KHAN, N.; ZAMAN, R.; ELAHI, M. Effect of heat treatments on the phytic acid content of maize products. **Journal Food Science Agricultural**, v. 54, n. 1, p. 153-156, 1991.
35. KIES. K. Phytase – Mode of action. In: COELHO, M. B.; KORNEGAY, E. T. **Phytase in Animal Nutrition and Waste Management**. Mount Olive, NJ: BASF Corporation: Mount Olive, 1996, p. 205-212.

36. KNARREBORG, A., N. MIQUEL, T. GRANLI and B.B. JENSEN. In vitro methodology to evaluate the effect of various additives on the micro flora in gastrointestinal tract of pigs. In: Digestive Physiology in Pigs. Proc. **Anais...** J.E. Lindberg & B. Ogle (Ed.), Uppsala, Sweden, 2001. p. 302-304.
37. KORNEGAY, E.T.; EVANS, J. L.; RAVINDRAN V. Effects of diet and protein level or source of calcium on the performance, gastrointestinal content measurements, bone measurements and carcass composition of gilts and barrow weaning pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, 1994, p.2670-2680.
38. KONERGAY, E. T. & YI, Z. Sites of phytase activity in gastrointestinal tract of swine and poultry. In: **Phytase in animal nutrition and waste management**, BASF, p. 241-248. 1996.
39. KRISTENSEN, N. B.; NORGAARD, J. V.; WAMBERG, S.; ENGBAEK, M.; FERNÁNDEZ, J. A.; ZACHO, H. D.; POUSEN, D. Absorption and metabolism of benzoic acid in growing pigs. **Journal of Animal Science**, **Journal of Animal Science**, v. 87, p.2815–2822. 2009.
40. KRYGIEROWICZ, E. C. **Taxa linear de tamponamento como estimadora de efeitos nutricionais da acidificação da dieta para leitões**. Curitiba: Setor de Ciências Agrárias, 2010. 64p. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciências Agrárias/ Universidade Federal do Paraná, 2010.
41. LEI, X.G.; PORRES, J.M. Phytases enzymology, applications and biotechnology. **Biotechnology letters**, v.25, p. 1787-1794, 2003.
42. LENIS, N. P.; JONGBLOED, A. W. New technologies in low pollution swine diets: Diet manipulation and use of synthetic amino acids, phytase and phase feeding for reduction of nitrogen and phosphorus excretion and ammonia emission-Review. Asian-Aust. **Journal Animal Science**. v.12, p.305-327. 1999.
43. LEYTEM, A.B.; TURNER, B.L.; THACKER, P.A. Phosphorus composition of manure from swine fed low-phytate grains: evidence for Hydrolysis in the animal. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, p. 2380-2383, 2004.
44. LOVATTO, PA. Nutrição e alimentação, **Suinocultura Geral**. Cap. 5, p. 63-83, 2002.

45. LÜDKE, M. do C. M.; LÓPEZ, J.; NICOLAIEWSKY, S. Efeito da fitase em dietas com ou sem fosfato inorgânico para suínos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p. 485-494, 2000.
46. MAGA, J. A. Phytate: its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, n. 1, p. 1-9, 1982.
47. MAKKINK, C. A.; BERNTSEN, P. J.; KAMP, B. M. op den.; KEMP, B.; VERSTEGEN, M. W. Gastric protein breakdown and pancreatic enzyme activities in response to two different dietary protein sources in newly weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2843-2850.1994.
48. MARTINS, A. D. de O.; MENDONÇA, R. C. S.; SILVA, D. L.; RAMOS, M. S.; MARTINS, M. C.; DONZELE, J. L.; ANDRADE, N. J. de. Resistência de bactérias lácticas, isoladas de fezes de suínos e sua capacidade antagônica frente a microrganismos indicadores. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.5, n.1, p. 53-59, 2006.
49. MAXUELL, C. V.; CARTER, S. D. Feeding the weaned pig. In: LEWIS, A. J.; SOUTHERN, L. L. (Eds.). **Swine nutrition**. Florida: Ed. CRC Press, 2001, p.691-723.
50. MAZZONI, M.; GAL, L. M.; FILIPPI, De S.; MINIERI, L.; TREVISI, P.; WOLINSKI, J.; LALATTA-COSTERBORSA, G.; LALLE' S, J. P; GUILLOTEAU, P. BOSI, P. Supplemental Sodium Butyrate Stimulates Different Gastric Cells in Weaned Pigs. **Journal of Nutrition**, v. 138, p. 1426–1431, 2008.
51. McKNIGHT, W. F. Phytase technical specifications and properties. **Short Course on Feed Technology**, v. 7, Korea: Korean Society of Animal Nutrition and Feedstuffs, 1997.
52. McKNIGHT, W. F. Technical specifications and properties of phytase. In: COELHO, M. C.; KORNEGAY, E. T. **Phytase in animal nutrition and waste management: A BASF reference manual 1996**. New Jersey: BASF, 1996. p. 1-15.
53. MINGGANG, L.; OSAKI, M.; RAO, I.M.; TADANO, T. Secretion of phytase from the roots of several plant species under phosphorus-deficient conditions. **Plant and Soil**, v.195, p. 161-169, 1997.

54. MORÉS, N.; MARQUES, L-L.J; SOBESTIANSKY, J.; OLIVEIRA, A.; COELHO, S. S. Influência do nível protéico e/ou da acidificação da dieta sobre a diarreia pós-desmame em leitões causada por *Escherichia coli*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.10, p.85-88, 1990.
55. MORÉS, N.; AMARAL, A. L. **Patologias associadas ao desmame**. Disponível em: <www.cnpsa.embrapa.br/braves-scpdf/Palestras2001Nelson_Mores.pdf>. Acesso em: 13 de novembro de 2009.
56. MROZ, Z.; JONGBLOED, A. W.; PARTANEN, K. H.; VREMAN, K.; KEMME, P. A.; KOGUT, J. The effects of calcium benzoate in diets with or without organic acids on dietary buffering capacity, apparent digestibility, retention of nutrients, and manure characteristics in swine. **Journal of Animal Science**, v.78, p.2622-2632, 2000.
57. MROZ, Z. Supplementary organic acids and their interactive effects with microbial phytase in diets for pigs and poultry. In: ANUAL CONFERENCE ON PHITASE IN ANIMAL NUTRITION, 2000, Lublin. **Proceedings...** Lublin, 2000.
58. MROZ, Z. Organic acids as potential alternatives to antibiotic growth promoters for pigs. **Advances in Pork Production**. v.16, 169-182p. 2005.
59. MURRY, A. C.; LEWIS, R. D.; AMOS, H. E. The effect of microbial phytase in a pearl millet-soybean meal diet on apparent digestibility and retention of nutrients, serum mineral concentration, and bone mineral density of nurse piglets. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 1284-1291, 1997.
60. NAUGHTON, P.J.; JENSEN, B.B. **A bioreactor system to study survival of *Salmonella Typhimurium* in pig gut content**. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift, v. 114, 2001. p. 1-4.
61. NUNES, I. J. **Nutrição animal básica**. Revista Aumentada. 2.ed. Belo Horizonte: FEP-MVZ Editora, 1998.
62. PACHECO, G.D.; LOZANO, A.P.; VINOKUROVAS, S.L.; SILVA, R.A.M.; DALTO, D.B.; AGOSTINI, P.S.; WESTPHALEN, N.; BRIDI, A.M.; SILVA, C.A. Farelo de gérmen de milho desengordurado associado à fitase. **Archivos de Zootecnia**. v.61, 599-610, 2012.

63. PALENZUELA, P. R. **Los ácidos orgánicos como agentes antimicrobianos**. XVI Curso de Especialización FEDNA, Madrid. 2002, 11p. Disponível em: <http://salnuvet.com/img/productos/documentos_36%C3%81cidos%20org%C3%A1nicos%20como%20agentes%20antimicrobianos.pdf>. Acesso em: 08 set. 2013.
64. PARKER, S.P. **Dictionary of chemistry**. Ed. Internacional. Nova York: McGraw-Will, 1997. p. 59-363.
65. PARTANEN, K. H.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. *Nutrition Research Reviews*, **Cambridge**, v. 12, p. 117-145, 1999.
66. PETERSEN, S. T. Propriedades e características de RonozimeTM P, a nova fitase da Roche. In: SIMPÓSIO ROCHE DE NUTRIÇÃO ANIMAL. Campinas. **Anais...** Campinas: Roche, 2001. p. 17-30.
67. PENZ JUNIOR, A. M. A influência da nutrição na preservação do meio ambiente. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE SUINOCULTURA, 5., 2000, São Paulo. **Anais eletrônicos...** [online]. São Paulo: EMBRAPA, 2004. p.17. Disponível em: <http://docsagencia.cnptia.embrapa.br/suino/anais/anais0009_penz.pdf>. Acesso em: 06 out. 2013.
68. PIVA, A.; PIZZAMIGLIO, V.; MORLACCHINI, M.; TEDESHI, M.; PIVA, G. Lipid microencapsulation allows slow release of organic acids and natural identical flavors along the swine intestine. **Journal of Animal Science**, v.85, p. 486-493, 2007.
69. PLITZNER, C.; SCHEDULE. K.; DWAGNER, V.; ETTLE. T.; WINDICHCH, W. Influence of adding 0.5 or 1.0% of benzoic acid on growth performance and urinary parameters of fattening pigs. **Slovak Journal Animal Science**, v. 39, n.1-2, p. 69-73, 2006.
70. PREVIDELLO, B.A.F.; CARVALHO, F.R.; TESSARO, A.L.; SOUZA, V.R.; HIOKA, N. O pKa de indicadores ácido-base e os efeitos coloidais. **Química Nova**, vol.29 n.3, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000300032>. Acesso em: 08 set. 2013.

71. RIBEIRO, P. R.; KRONKA, R. N.; THOMAZ, M. C.; SOTO, W. L. C.; SILVA, L. P. G.; DRONKA, S. N.; HANNAS, M. I. Adição de ácidos fumárico em rações de suínos e seus efeitos nas fases inicial e crescimento/terminação. **Archivos de Zootecnia**, v.18, n.1, p.70-77, 2002.
72. ROCHA, E. V. H.; LIMA, J. A. F.; FIALHO, E. T.; ZANGERONIMO, M. G.; BERTECHINI, A. G.; RODRIGUES, P. B. Utilização de ácidos orgânicos e fitase em dietas para leitões na creche. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.3, p.719-724, 2008.
73. ROSTAGNO, H. S.; PUPA, J. M. Fisiologia da digestão e alimentação de leitões. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO E MANEJO DE LEITÕES. **Anais...** Campinas – SP, FACTA. 1998. p.60-87.
74. ROTH, F. X. **Ácidos orgânicos en nutrición Porcina: eficacia Y modo de acción.** XVI Curso de Especialización FEDNA, Madrid. 11p, 2000.
75. SANTOS, W. G. dos; FILGUEIRAS, E. P.; BERTECCHINI, A. G.; GIALHO, T. E.; LIMA, J. A. de F.; BRITO, M. A. V. de P. Manose na alimentação de leitões na fase de creche (Desempenho, pH do trato gastrintestinal e peso dos órgãos). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, p.696-702, 2003.
76. SCHÖNER, F. J. Nutritional effects of organic acids. In: Feed manufacturing in the Mediterranean region. Improving safety: From feed to food. Brufau J. (ed.), Zaragoza: CIHEAM-IAMZ, 2001. In: **Conference of Feed Manufacturers of the Mediterranean**, 2000/03/22-24, Reus (Spain). 2001. p.55-61. Disponível em: [http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=1600011#prettyPhoto\[iframes\]/0/](http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=1600011#prettyPhoto[iframes]/0/) >. Acesso em: 08 set. 2013.
77. SEGANFREDO, M. A. **Os dejetos de animais podem causar poluição também nos solos de baixa fertilidade e nos solos profundos, como aqueles da região dos serrados.** Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves, 2001. 4f. (Comunicado Técnico; 292). Disponível em: <http://cnpsa.embrapa.br>. Acesso em: 23 ago. 2002.
78. SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. Review. **Animal Feed Science and Technology**. v.135. p.1-41, 2007.

79. SELLE, P.H., RAVINDDRAN, R.A., CALDWELL, R.A.; BRYDEN, W.L. Phytate and phytase: consequences for protein utilization. **Nutrition Research Reviews**, 13: 255-248. 2000.
80. SGARBIERI, V. C. **Alimentação e Nutrição**. Fator de Saúde e Desenvolvimento. São Paulo, ed. UNICAMP, 1987, 387p.
81. SILVA JUNIOR, A. da. Interações químico-fisiológicas entre acificantes, probióticos, enzimas e lisofosfolipídios na digestão de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p.238-245, 2009.
82. SILVA, H.O. **Fitase em rações para suínos em crescimento**: Digestibilidade total, ileal e desempenho. Lavras, MG: UFLA, 2003, 198p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2003.
83. SILVA, H. O.; FIALHO, E. T.; LIMA, J. A. F.; FREITAS, R. T. F.; LOGATO, P. V. R.; FONTES, D. O.; SCHOULTEN, N. A. Efeito da fitase sobre a excreção de cálcio e fósforo em suínos na fase de crescimento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, XI, 2003, Porto Alegre. **Anais...** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2003. p. 296-296. Disponível em: <http://www.cca.ufpb.br/revista/pdf/2005_1_8.pdf>. Acesso em: 08 set. 2013.
84. SILVA, H. O.; FIALHO, E. T.; LIMA, J. A. F.; SOUSA, R. V de; SCHOULTEN, N. A.; SILVA, L. F. Efeito da fitase sobre a excreção e teor de minerais nos ossos de suínos na fase de crescimento. **Agropecuária Técnica**, v. 26, n. 1, p.54-59, 2005.
85. SILVA, A. M. R. da; BERTO, D. A.; LIMA, G. J. M. M. de; WECHSLER, F. S.; PADILHA, P. de M.; CASTRO, V. S. Valor nutricional e viabilidade econômica de rações suplementadas com maltodextrina e acidificante para leitões desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.286-295, 2008.
86. SMITH, D.R.; MOORE, P.A; MAXWELL, C.V.; HAGGARD, B.E.; DANIEL, T.C. Reducing phosphorus runoff from swine manure with dietary pytase and aluminum chloride. **Journal of Environmental Quality**. v.33, p.1048-1054, 2004.

87. TEIXEIRA, A.S.; CAVALCANTI, J.S.; OST, P.R.; SCHOULTEN, N. A. Probióticos em rações para frangos de corte utilizando farinha de carne e ossos com diferentes níveis de contaminação bacteriana. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n. 4, p. 927-933, 2003.
88. TFOUNI, S. A. V.; TOLEDO, M. C. F. Conservadores ácido benzóico e ácido sórbico: uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 35, n. 1-2, p. 41-53, 2001.
89. TONEL, I. S. P. A. **Efeito da utilização de butirato de sódio na digestibilidade, actividade fermentativa e morfologia intestinal de leitões desmamados**. 2009. 48p. Dissertação (Mestrado em Engenharia agronómica – Agro-pecuária). Instituto Superior de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa, Portugal – Lisboa.
90. TORRALLARDONA, D.; BADIOLA, J. I. BROZ, J. Efficacy of benzoic acid in the feeding of weanling pigs. **Annual Meeting of EAAP**, Uppsala, p.5-8, 2005. Disponível em: http://www.eaap.org/Previous_Annual_Meetings/2005Uppsala/Papers/PN_Ph5.12_Torrallardona.pdf. Acesso em: 08 set. 2013.
91. TURNER, B.L.; PAPHÁZY, M.J.; HAYGARTH, P.M.; MCKELVIE I.D. Inositol phosphate in the environment. **Philosophical Transactions of the Royal Society B. The Royal Society**. p. 449-469, 2002.
92. VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
93. VATS, P.; BANERJEE, U.C. Production studies and catalytic properties of phytases (*myo*-inositolhexakisphosphate hosphohydrolases): an overview. **Enzyme and Microbial Technology**, v.35, n.1, p.3-14, 2004.
94. VON FELDE, A. & RUDAT, I. Encapsulated acids - a new strategy against *E. Coli* and *Clostridia*. **Kraftfutter/Feed Magazine**, v. 5, p. 209-218. 1998.
95. XU, R. J. Development of the newborn GI tract and relation to colostrums milk intake: a review. **Reproduction, Fertility and Development**, v.8, p.35-48, 1996.

96. YOUNG, G. P.; GIBSON, P. Contrasting effects of butyrate on proliferation and differentiation of normal and neoplastic cells. In: ROCHE, A. F. (Ed.). Short-chain fatty acids: metabolism and clinical importance. **Proceedings...** Columbus, Ohio, 1991. P.50-55. Reporto f the Twenth Ross Conference on Medical Reserch, 1991, Columbus, Ohio.
97. WALSH, M. C.; PEDDIREDI, L.; RADICLIFFE, J. S. **Acidification of nursery diets sand the rofe of diet buffering capacity.** Columbus: The Ohio State University, 2004. p. 25-36. Disponível em: <<http://porkinfo.ousu.edu/2004%20swine%20Doc.pdf>>. Acesso em: 13 de novembro de 2009.
98. WALSH, M.; SHOLLY, D.; KELLY, D.; COBB, M.; TRAPP, S.; HINSON, R.; HILL, B.; SUTTON, A.; RADCLIFFE, S.; HARMON, B.; SMITH, J.; RICHERT, B. The Effects of Supplementing Weanling Pig Diets with Organic and Inorganic Acids on Growth Performance and Microbial Shedding. **Swine Research Report.** Purdue University, 2003. Disponível em: <<http://www.ansc.purdue.edu/swine/swineday/sday03/15.pdf>>. Acesso em: 13 de nov de 2009.
99. WEBER, T. E.; KERR, B. J. Effect of sodium butyrate on growth performance and response to lipopolysaccharide in weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v.86, p.442-450, 2008.
100. WISE, A. Dietary factors determining the biological activities of phytate. **Nutrition Abstract Review**, v, 53, n. 9, p. 791-806, 1993.

CAPÍTULO II – DESEMPENHO, COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE E METABOLIZAÇÃO DE RAÇÕES COM ÁCIDO BUTÍRICO, ÁCIDO BENZÓICO E FITASE PARA LEITÕES

RESUMO

Objetivou-se avaliar o desempenho nas fases pré-inicial (6,7 kg aos 15,0 kg), inicial (15 kg aos 25 kg), no período total (6,7 kg aos 25 kg); e os coeficientes de digestibilidade e metabolização nas fases pré-inicial (6,7 kg aos 15,0 kg) e inicial (15 kg aos 25 kg) de leitões submetidos a rações com redução do fósforo disponível, com fitase, ácido butírico e benzóico. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso. Realizou-se análise de variância e as médias foram comparadas pelo Teste Tukey a 10% de probabilidade. Para avaliação do desempenho foram utilizados 120 animais, sendo quatro animais por unidade experimental e cinco repetições. No ensaio de digestibilidade foram utilizados 48 leitões e cada animal representou uma unidade experimental com quatro repetições. Os tratamentos foram: 1- controle com Pd disponível em 0,41%; 2- Pd reduzido a 0,15%; 3- Pd reduzido a 0,15%, mais 1.000 unidades de fitase por quilograma; 4- Pd reduzido a 0,15%, mais 1.000 unidades de fitase por quilograma, mais 0,3% ácido butírico; 5- Pd reduzido a 0,15%, mais 1.000 unidades de fitase por quilograma, mais 0,75% ácido benzóico; 6- Pd reduzido a 0,15%, mais 1.000 unidades de fitase por quilograma, mais 0,3% ácido butírico, mais 0,75% ácido benzóico. As variáveis estudadas no ensaio de desempenho foram: ganho diário de peso, ganho de peso total, consumo diário de ração, consumo total de ração e conversão alimentar nas fases pré-inicial, inicial e período total. Para a avaliação dos coeficientes de digestibilidade e metabolização foi utilizado o método de colheita total de fezes e urina. Para tanto, as variáveis analisadas foram: coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, cálcio e do fósforo nas fases pré-inicial e inicial. Foram estudados os coeficientes de metabolização da matéria seca, proteína bruta, energia bruta, cálcio e fósforo nas fases pré-inicial e inicial dos leitões. Os melhores resultados de desempenho nas fases pré-inicial, inicial e no período total foram para os leitões que alimentaram de dieta com ácido benzóico e fitase. Na fase pré-inicial a digestibilidade do cálcio foi maior em leitões que ingeriram dieta com fósforo reduzido e dieta com fitase. Na fase inicial os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo dos animais que alimentaram de ração com fitase, ácido benzóico e butírico foram menores. Nas duas fases não houve diferença para os coeficientes de metabolização da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, cálcio e fósforo. Conclui-se que os aditivos testados melhoraram o desempenho dos leitões dos 6,7 kg ao 25,0 kg de peso vivo médio.

Palavras-chave: aproveitamento, cálcio, fósforo, metabolismo, peso, suínos.

CHAPTER II – PERFORMANCE, DIGESTIBILITY AND METABOLISM IN PIGLETS FED DIETS WITH BUTYRIC ACID, BENZOIC ACID AND PHYTASE

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the performance in the pre-initial phase (6.7 kg to 15.0 kg), initial phase (15 kg to 25 kg), and in the total period (6.7 kg to 25 kg) as well as the digestibility and metabolism coefficients in pre-initial phase (6.7 kg to 15.0 kg) and initial phase (15 kg to 25 kg). The experimental design was in randomized complete blocks. ANOVA was performed and means were compared by Tukey test at 10 % confidence. We used 120 animals, four animals per experimental unit and five replications, to assess performance, and 48 piglets, each animal representing an experimental unit with four replications, to evaluate digestibility,. The treatments were as follows: 1 - control with Pd available at 0.4%; 2 - Pd reduced to 0.15%; 3 - Pd reduced to 0.15%, plus 1,000 FYT/kg; 4 - Pd reduced to 0.15%, plus 1,000 FYT/kg and 0.3% butyric acid; 5 - Pd reduced to 0.15%, plus 1,000 FYT/kg and 0.75% benzoic acid; 6 - Pd reduced to 0.15%, plus 1,000 FYT/kg, 0.3% butyric acid, and 0.75% benzoic acid. The variables studied in performance test were as follows: daily weight gain, total weight gain, daily feed intake, total feed intake and feed conversion rate in the pre-initial and initial phases, and the total period. For the assessment of digestibility and metabolization coefficients we used the method of total collection of faeces and urine. The analyzed variables were apparent digestibility coefficients for dry matter, crude protein, ether extract, calcium and phosphorus in the pre-initial and initial phases. We studied the metabolization coefficients of dry matter, crude protein, crude energy, calcium and phosphorus in the pre-initial and initial phases. In the pre-initial and initial phases and in the total period the best performance results were obtained when piglets were fed a diet containing benzoic acid and phytase. In the pre-initial phase, calcium digestibility was higher in piglets that ingested diet with reduced phosphorus and diet with phytase. In the initial phase, the digestibility coefficients of dry matter, crude protein and ether extract were lower for the animals fed diets with phytase, benzoic acid and butyric acid. In both phases there was no difference in the metabolization coefficients of dry matter, crude protein, ether extract, calcium and phosphorus. We concluded that the tested additives improved the performance of piglets from 6.7 kg to 25,0 kg live weight.

Keywords: utilization, calcium, phosphorus, metabolism, pigs weight.

1 INTRODUÇÃO

Dentre várias alternativas de investimento em modernização, o que tem apresentado diferencial na resposta produtiva na produção de suínos é o uso de aditivos em substituição aos medicamentos para minimizar ou restringir o uso de antibióticos. Como opção os ácidos orgânicos e as enzimas são alvos de investigações nas dietas de leitões desmamados para avaliar o desempenho, a digestibilidade e a metabolização.

Após a proibição da União Europeia para uso de antibióticos em rações para suínos, as pesquisas tem buscado encontrar novas aplicações de agentes antimicrobianos promotores de crescimento como, por exemplo, o uso de ácidos orgânicos. Estas alternativas têm sido adotadas porque o mercado consumidor tem exigido alimentos saudáveis e que sejam produzidos para substituir os medicamentos.

Os ácidos orgânicos são adicionados à alimentação de suínos para neutralizar a capacidade de tamponamento da dieta e facilitar a acidificação gástrica e a digestão de proteínas. A redução do consumo após o desmame, associada à má absorção intestinal e ao crescimento bacteriano pode resultar em diarreia (PIVA et al., 2007) e causar morbidade, morte ou comprometer o desempenho dos animais até o abate.

Observa-se em estudos que o uso de ácidos orgânicos melhora a digestibilidade aparente de proteínas e aminoácidos e que a associação destes aditivos à enzima fitase pode favorecer o desempenho e a absorção de minerais, proteínas, fósforo e vários minerais, reduzindo assim a excreção destes nas fezes e na urina (MOSENTHIN et al., 1992; KEMME et al., 1995; JONGBLOED & JONGBLOED, 1996 e MROZ et al., 1997).

Neste sentido, objetivou-se avaliar o desempenho, os coeficientes de digestibilidade e de metabolização de nutrientes e energia bruta em leitões que receberam dietas com redução do fósforo disponível com ácido benzóico, ácido butírico e fitase.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local

Os ensaios experimentais foram desenvolvidos no Setor de Suinocultura do Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás – UFG, entre os meses de novembro de 2011 a março de 2012. O estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos de pesquisa em animais, após avaliação e aprovação feita pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, protocolo número 324/11.

As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG e as análises de cálcio e fósforo foram realizadas no Laboratório do Instituto de Química da UFG.

2.2 Ensaio de desempenho

Foi utilizado um galpão de alvenaria com três salas com 48 baias suspensas dispostas em fila dupla e um corredor central. A instalação possui pé direito de 3,0 m de altura e todas as salas possuem cortinas. As baias suspensas são de ferro galvanizado, piso vazado com placas de Policloreto de vinil (PVC), bebedouros do tipo “chupeta” e comedouros horizontais de canos de PVC. Em cada sala, foi colocado um termo-higrômetro de máxima e mínima na altura dos animais, para aferir a temperatura e a umidade relativa do ar. Lâmpadas incandescentes de 100 Watts foram colocadas em cada baia para proporcionar aquecimento.

As temperaturas e umidades relativas do ar máxima e mínima foram registradas as 08:00h e as 16:00h, conforme apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Médias das temperaturas e umidades relativas do ar registradas no interior das salas do ensaio de desempenho no período de 08/11/2011 a 06/03/2012

Registros	Temperatura °C		Umidade %	
	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde
Mínima	15,8 ± 0,8	20,0 ± 0,9	31 ± 8,7	29 ± 8,9
Máxima	45,0 ± 1,4	45,2 ± 1,3	92 ± 2,8	92 ± 3,4

Foram estudados 120 leitões machos castrados, com peso vivo médio inicial de 6,7 kg ± 0,022 kg. As pesagens foram feitas semanalmente, no período da tarde. Os animais receberam ração à vontade, as sobras e desperdícios foram quantificados.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com seis tratamentos, cinco repetições, sendo cada bloco constituído por uma faixa de peso. Cada unidade experimental foi constituída por quatro animais.

As variáveis estudadas foram: consumo médio diário (CMD), ganho de peso médio diário (GPMD) e conversão alimentar (CA) nas fases pré-inicial (6,7 kg aos 15,0 kg), inicial (15,0 kg aos 25 kg) e período total (6,7 aos 25,0 kg).

2.3 Ensaio metabólico

Para a realização do ensaio metabólico, os leitões foram alojados em 12 gaiolas metabólicas tipo PEKAS (1968). Foi colocado um termo-higrômetro de máxima e mínima na sala para aferir a temperatura e a umidade relativa do ar. Foram instaladas lâmpadas incandescentes de 100 Watts para aquecer os leitões nos dias frios.

As temperaturas e umidades relativas do ar máxima e mínima foram registradas as 08:00h e as 16:00h, conforme apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 – Médias das temperaturas e umidades relativas do ar registradas no interior da sala do ensaio metabólico no período de 26/01/2012 a 15/03/2012

Registros	Temperatura °C		Umidade %	
	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde
Mínima	18,5 ± 1,0	15,7 ± 1,5	33 ± 14,7	29 ± 8,3
Máxima	37,8 ± 2,0	37,8 ± 2,0	95 ± 2,6	95 ± 12,5

Foram estudados 24 leitões na fase pré-inicial (6,7 kg aos 15,0 kg) e 24 leitões na fase inicial (15,0 kg aos 25 kg). Os animais receberam ração à vontade durante cinco dias para adaptação às dietas. Nos três dias seguidos, a quantidade de ração fornecida foi com base no consumo do leitão com menor ingestão e ajustada para que todos os animais tivessem à disposição o mesmo conteúdo de alimento por unidade de peso metabólico ($PV^{0,75}$) (SAKOMURA & ROSTAGNO, 2007). O arraçãoamento era realizado duas vezes ao dia, as sete e às dezesseis horas. Amostras de cada partida das dietas foram armazenadas para análises referentes à digestibilidade.

O delineamento experimental foi blocos ao acaso, com seis tratamentos e quatro repetições e cada bloco constituído por uma faixa de peso. Cada animal representou uma unidade experimental.

As variáveis estudadas foram: coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS), da proteína bruta (CDPB), da energia bruta (CDEB), da matéria mineral (CDMM), do cálcio (CDCa) e do fósforo (CDP); coeficientes de metabolização da matéria seca (CDMS), da proteína bruta (CDPB), da energia bruta (CDEB), coeficiente da matéria mineral (CDMM), do cálcio (CDCa), do fósforo (CDP);

2.4 Dietas experimentais

As dietas experimentais (Tabelas 3 e 4) foram isonutritivas, formuladas a base de milho e farelo de soja. As misturas dos ingredientes

foram realizadas na fábrica de ração da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG.

Os tratamentos foram: 1 - Ração controle (ração basal com 100% do fósforo disponível); 2 - Ração basal com fósforo disponível reduzido em 0,15%; 3 - Ração basal com fósforo disponível reduzido em 0,15%, acrescida de 1.000 unidades de fitase (FYT); 4 - Ração basal com fósforo disponível reduzido, acrescida de fitase 1.000 FYT e 0,30% de ácido butírico; 5 - Ração basal com fósforo disponível reduzido em 0,15%, acrescida de 1.000 FYT e 0,75% de ácido benzóico; 6 - Ração basal com fósforo disponível reduzido em 0,15%, acrescida de 1.000 FYT, 0,30% de ácido butírico e 0,75% de ácido benzóico.

As dietas basais do tratamento um e dois foram formuladas de acordo as exigências nutricionais propostas por ROSTAGNO et al. (2005). Foram realizados ajustes nas quantidades de fosfato bicálcico e calcário para os tratamentos que tiveram redução do fósforo disponível, pois se considerou o fósforo orgânico disponibilizado pela ação enzimática da fitase.

A enzima fitase testada foi a Ronozyme Hiphos[®] microgranulada (M), a qual possui o sítio ativo 6-phytase (E.C. 3.1.3.26) obtida por fermentação por meio do fungo *Aspergillus oryzae*, utilizada na quantidade de 1.000 FYT/kg de ração, conforme recomendação do fabricante, ou seja, 100 g/T de alimento. A unidade FYT é definida pelo fabricante como a quantidade de enzima que catalisa a liberação de 1 μ mol de fósforo inorgânico por minuto a partir de 5,1 μ Mol de fitato de sódio em pH 5,5 a 37°C. Como a enzima disponibiliza 1,50g de fósforo total por kg de alimento, as dietas estudadas tiveram redução de 0,15% do fósforo disponível. A matriz nutricional da enzima fitase pode ser observada na Tabela 5.

O ácido benzóico, monocarboxílico, com pka 4,82, ácido fraco, também fornecido pela DSM, foi adicionado de acordo com a recomendação do fabricante, ou seja, 0,75%. O ácido butírico (monocarboxílico) foi doado pela empresa Ilander, os quais apresentam pKa 4,19, considerados ácidos fracos, e incluído conforme recomendações do fabricante, com inclusão de 0,30%.

Tabela 3 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações experimentais para a fase pré-inicial (7-15 Kg)

Alimento	Composição centesimal %*					
	Controle (Pd 0,41%)	Pd reduzido	Pd red.+FYT	Pd red.+FYT+BU	Pd red.+FYT+BE	Pd red.+ FYT+BU+BE
Milho grão	48,909	48,909	48,909	48,909	48,909	48,909
Soja farelo	24,766	24,766	24,766	24,766	24,766	24,766
Óleo de soja	4,000	4,000	4,000	4,000	4,000	4,000
Leite em pó integral	11,420	11,420	11,420	11,420	11,420	11,420
Fosfato Bicálcico	1,184	0,373	0,373	0,373	0,373	0,373
Calcário Calcítico	0,758	0,887	0,887	0,887	0,887	0,887
Sal Iodado	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
Acúcar	5,000	5,000	5,000	5,000	5,000	5,000
Caulim	1,100	1,782	1,780	1,480	1,030	0,730
L-Lisina HCL	1,221	1,221	1,221	1,221	1,221	1,221
L-Treonina	0,311	0,311	0,311	0,311	0,311	0,311
DL-Metionina	0,203	0,203	0,203	0,203	0,203	0,203
L-Triptofano	0,178	0,178	0,178	0,178	0,178	0,178
Premix vitamínico ¹	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400
Premix mineral ²	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Ácido butírico	0,000	0,000	0,000	0,300	0,000	0,300
Ácido benzóico	0,000	0,000	0,000	0,000	0,750	0,750
Fitase	0,000	0,000	0,002	0,002	0,002	0,002
TOTAL (kg)	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
Composição nutricional média calculada		Quantidade				
Arginina digestível (%)		1,131				
Cálcio (%)		0,825				
Energia metabolizável (Mcal/Kg)		3,375				
Fósforo disponível (%)		0,410				
Lisina digestível (%)		1,330				
Metionina digestível (%)		0,372				
Proteína bruta (%)		21,00				
Triptofano digestível (%)		0,239				

¹ Níveis de garantia/kg do produto: ácido fólico (87,50mg – mínimo); ácido pantotênico (3.000 mg – mínimo); biotina (17,50 mg); colina (27,15 mg); colistina (10 g); niacina (7.500 mg); selênio (75 mg); vitamina A (15.000.000 UI); vitamina B1 (250 mg); vitamina B12 (3.750 mcg); vitamina B2 (1.050 mg); vitamina B6 (500 mg); vitamina D3 (312.500 UI); vitamina E (6.250 UI); vitamina K3 (500 mg).

² Níveis de garantia g/kg do produto: cobre (15,97g/kg); ferro (99,00 g/kg); iodo (600,16 g/kg); manganês (29,87 g/kg); zinco (160,00 g/kg).

* **Controle:** Ração basal com 100% do fósforo disponível; **Pd red.:** Ração basal com redução do fósforo disponível em 0,15%; **Pd red.+FYT:** Ração basal com redução do fósforo em 0,15%, adicionado de fitase; **Pd red.+FYT+BU:** Ração basal com redução do fósforo em 0,15% adicionado de fitase e ácido butírico; **Pd red.+FYT+BE:** Ração basal com redução do fósforo em 0,15% adicionado de fitase e ácido benzóico; **Pd red.+FYT+BU+BE:** Ração basal com redução do fósforo em 0,15% adicionado de fitase, ácido butírico e ácido benzóico.

A cada partida de ração foi coletada uma amostrada para posteriores análises bromatológicas, realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG. As análises de cálcio e

fósforo foram realizadas no Laboratório do Instituto de Química da UFG. Todas as análises foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por SILVA & QUEIROZ (2002).

Tabela 4 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações experimentais para a fase inicial (15-25 Kg)

Alimento	Composição centesimal %*					
	Controle (Pd 0,38%)	Pd reduzido	Pd red.+FYT	Pd red.+FYT+BU	Pd red.+FYT+BE	Pd red.+ FYT+BU+BE
Milho Grão	54,886	54,886	54,886	54,886	54,886	54,886
Soja Farelo	37,464	37,464	37,464	37,464	37,464	37,464
Oleo de Soja	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000
Fosfato Bicálcico	1,432	0,621	0,621	0,621	0,621	0,621
Calcário Calcítico	0,720	0,849	0,849	0,849	0,849	0,849
Sal Iodado	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
Açúcar	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Caulim	1,100	1,782	1,780	1,480	1,030	0,730
DL-Metionina	0,368	0,368	0,368	0,368	0,368	0,368
L-Lisina Hcl	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080
Premix Vitamínico ¹	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400
Premix Mineral ²	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Ácido butírico	0,000	0,000	0,000	0,300	0,000	0,300
Ácido benzóico	0,000	0,000	0,000	0,000	0,750	0,750
Fitase	0,000	0,000	0,002	0,002	0,002	0,002
Total	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
Composição nutricional média calculada			Quantidade			
Arginina Digestível (%)			1,379			
Cálcio (%)			0,768			
Energ. Metabolizável (Mcal/Kg)			3,230			
Fósforo Disponível (%)			0,380			
Lisina Digestível (%)			1,093			
Metionina Digestível (%)			0,672			
Proteína Bruta (%)			19,240			
Triptofano Digestível (%)			0,709			

¹ Níveis de garantia/kg do produto: ácido fólico (87,50mg – mínimo); ácido pantotênico (3.000 mg – mínimo); biotina (17,50 mg); colina (27,15 mg); colistina (10 g); niacina (7.500 mg); selênio (75 mg); vitamina A (15.000.000 UI); vitamina B1 (250 mg); vitamina B12 (3.750 mcg); vitamina B2 (1.050 mg); vitamina B6 (500 mg); vitamina D3 (312.500 UI); vitamina E (6.250 UI); vitamina K3 (500 mg).

² Níveis de garantia g/kg do produto: cobre (15,97g/kg); ferro (99,00 g/kg); iodo (600,16 g/kg); manganês (29,87 g/kg); zinco (160,00 g/kg).

* **Controle:** Ração basal com 100% do fósforo disponível; **Pd red.:** Ração basal com redução do fósforo disponível em 0,15%; **Pd red.+FYT:** Ração basal com redução do fósforo em 0,15%, adicionado de fitase; **Pd red.+FYT+BU:** Ração basal com redução do fósforo em 0,15% adicionado de fitase e ácido butírico; **Pd red.+FYT+BE:** Ração basal com redução do fósforo em 0,15% adicionado de fitase e ácido benzóico; **Pd red.+FYT+BU+BE:** Ração basal com redução do fósforo em 0,15% adicionado de fitase, ácido butírico e ácido benzóico.

Tabela 5 - Matriz nutricional da enzima fitase referente à disponibilidade de proteína, fósforo total, fósforo digestível e cálcio total

Nutrientes	Dose/ ton de alimento * 20g/ton = 1.000 FYT/Kg	
	Matriz/kg de ração	Substituição/kg de ração
Proteína (%)	10.000	0,20
P total (g/kg)	75.000	1,50
P digestível (g/kg)	60.000	1,20
Ca total (g/kg)	60.000	1,20

Fonte: DSM (2011)

2.5 Análise estatística

Os dados para avaliação do desempenho, digestibilidade e metabolismo foram submetidos à análise de variância segundo o modelo de blocos casualizados e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste de Tukey a 10% de probabilidade.

Para avaliação do desempenho na fase inicial, foi realizada análise de covariância para retirar o efeito estatístico do ganho de peso ao final da fase pré-inicial. Portanto, os blocos foram mantidos conforme a distribuição feita na fase pré-inicial.

As análises estatísticas foram realizadas no programa computacional SAS (2008).

2.6 Metodologias das colheitas de amostras e das variáveis do ensaio metabólico

2.6.1 Colheita de fezes e urina

Para avaliar a digestibilidade e metabolização dos animais na fase pré-inicial e inicial, os animais foram adaptados às dietas e gaiolas por sete dias. As colheitas de fezes e urina ocorreram durante cinco dias.

Foi adotado o método de colheita total de fezes e urina (SAKOMURA & ROSTAGNO, 2007). O início e o final das colheitas de fezes foram determinados pela presença de 1,0% de marcador óxido férrico (Fe_2O_3), nas dietas. As colheitas foram realizadas uma vez ao dia, no período da manhã, acondicionadas em sacos plásticos e congeladas a 10°C negativos. Após cinco dias de colheita, as fezes foram descongeladas, homogeneizadas e uma alíquota de 0,3 kg foi armazenada. Em seguida foram levadas à estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 h e moídas. Uma amostra de aproximadamente 0,1 kg foi armazenada para análises futuras.

A colheita de urina foi realizada uma vez ao dia, juntamente com a colheita de fezes, em baldes plásticos contendo 10 mL de ácido clorídrico (HCl), na proporção 1:1. O total de urina foi homogeneizado, medido em volume e peso, sendo uma amostra de 200 mL armazenada. As colheitas foram feitas durante cinco dias, totalizando 1.000 mL de urina, as quais foram resfriadas para análises posteriores.

2.6.2 Coeficiente de digestibilidade aparente

Os seguintes coeficientes de digestibilidade aparente foram estudados: coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS), coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (CDPB), coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta (CDEB), coeficiente de digestibilidade da matéria mineral (CDMM), coeficiente de digestibilidade do cálcio (CDCa), coeficiente de digestibilidade do fósforo (CDP), nas fases pré-inicial e inicial, conforme recomendações de SAKOMURA & ROSTAGNO (2007).

2.6.3 Coeficiente de metabolização aparente

Foram estudados também os coeficientes de metabolização da matéria seca (CDMS), coeficiente de metabolização aparente da proteína bruta (CDPB), coeficiente de metabolização aparente da energia bruta (CDEB),

coeficiente de metabolização da matéria mineral (CDMM), coeficiente de metabolização da energia bruta (CDEB), coeficiente de metabolização do cálcio (CDCa), coeficiente de metabolização do fósforo (CDP), nas fases pré-inicial e inicial de acordo com SAKOMURA & ROSTAGNO (2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Desempenho dos leitões nas fases pré-inicial, inicial e período total

Os resultados das variáveis de desempenho da fase pré-inicial, podem ser visualizados nas Tabelas 6. Observou-se que o GPD e o CTR não foram diferentes ($P>0,10$) para os tratamentos avaliados na fase pré-inicial.

Tabela 6 – Médias de peso final (PF), ganho de peso diário (GPD), ganho de peso total (GPT), consumo diário de ração (CDR), consumo total de ração (CTR), e conversão alimentar (CA) de leitões em fase pré-inicial

Tratamentos ¹	PF* (Kg)	GDP (Kg)	GPT* (Kg)	CDR* (Kg)	CTR (Kg)	CA* (Kg/Kg)
Controle (Pd 0,41%)	15,7ab	0,330	9,0ab	0,442cd	13,3	1,468ab
Pd red.	13,5b	0,239	6,8b	0,421d	11,4	1,696a
Pd red.+FYT	15,2ab	0,315	8,5ab	0,480bc	13,0	1,523ab
Pd red.+FYT+BU	16,0ab	0,312	9,4ab	0,417d	12,3	1,375b
Pd red.+FYT+BE	16,8a	0,347	10,2a	0,500b	13,7	1,348b
Pd red.+FYT+BU+BE	16,2ab	0,348	9,5ab	0,558a	13,9	1,473ab
Valores de P	0,06	0,06	0,06	<0,0001	0,11	0,03
CV (%)	10,33	17,93	18,30	5,41	11,35	10,71

* Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P<0,10$).

O PF, o GPT e a CA dos leitões que se alimentaram da ração contendo ácido benzóico e com fitase, foi superior ($P<0,10$) aos animais que tiveram apenas a redução de 0,15% de fósforo disponível na dieta. Pode-se afirmar que a associação de fitase e ácido benzóico contribuíram para o melhor desempenho dos leitões. Nesse estudo, o poder do ácido benzóico em acidificar as dietas pode ser considerado fator crucial para uma melhor ação da fitase, a qual tem pH ótimo de 5,5. Assim a enzima pode hidrolisar o fósforo fítico dos grãos e liberar fósforo orgânico, cálcio, ferro, manganês, magnésio, zinco, proteína e outros minerais considerados nutrientes fundamentais para o crescimento dos leitões.

Quanto ao CDR, Observou-se que os animais que tiveram maior consumo ($P < 0,10$) foram os que receberam ração com ácido butírico, benzóico e fitase.

Nesse estudo houve preocupação em fazer o balanceamento das dietas para manter o equilíbrio na disponibilidade de aminoácidos e a relação cálcio e fósforo de acordo com as exigências dos animais. Na fase pré-inicial os leitões receberam 0,41% de P disponível de acordo com ROSTAGNO et al. (2005). No entanto, este nível é considerado baixo, por serem leitões mais jovens do que os estudados por AROUCA et al. (2012), o quais constataram exigência de fósforo disponível de 0,57% para leitões machos castrados de 15 a 30 kg, geneticamente selecionados para deposição de carne.

No entanto, os resultados para as variáveis PF, GPT e CA dos leitões que ingeriram ração com fitase, ácido butírico e benzóico, se equipararam aos resultados encontrados para os animais do tratamento controle, em que o fósforo disponível atendia às exigências de 0,41% para a fase pré-inicial.

CORASSA et al. (2006) não observaram diferença no CDR de leitões desmamados alimentados com dietas com diferentes níveis de ácido fólico, mas observaram melhora no ganho de peso médio diário e na CA.

TORRALARDONA et al. (2005) observaram melhor desempenho dos leitões alimentados com dieta composta por ácido benzóico nas fases pré-inicial e inicial, em que o ganho de peso médio e final, o consumo de ração e a CA foram superiores. PAPATSIROS et al. (2011) também encontraram melhores resultados de desempenho de crescimento em leitões desmamados ao avaliar o ácido benzóico na alimentação.

BIAGI et al. (2006) também observaram melhorias no desempenho de leitões seis semanas após o desmame, ao fornecer dieta com ácido glucônico aos animais.

GOMES et al. (2007), ao investigarem o desempenho de leitões desmamados aos 15 dias alimentados com dietas compostas por ácido fumárico, butírico, fórmico e a combinação entre eles, constataram que a utilização de dietas suplementadas com ácido fumárico para leitões recém

desmamados melhorou o desempenho nas duas primeiras semanas pós-desmame.

Em outra pesquisa GOMES et al. (2011) observaram que a adição de ácidos fumárico, láctico e propionato de cálcio ou suas combinações não influenciaram o ganho de peso diário, o consumo diário de ração e a CA de leitões aos 38 dias de idade.

COLUMBUS et al. (2010) ao avaliarem a eficácia da fitase com milho de alta umidade para leitões desmamados não encontraram efeito da fitase sobre o ganho diário de peso, o consumo diário de ração e a CA.

Na fase inicial (15,0 kg aos 25 kg de peso vivo médio) (Tabela 7), observou-se que, o CTR e a CA não diferiram ($P>0,10$) entre os tratamentos, porém, o maior PF, GDP, GPT e CDR ($P<0,10$) foram para os leitões que receberam ração com ácido benzóico e fitase ao comparar com os animais que alimentaram de ração com fósforo reduzido.

Tabela 7 – Médias de peso final (PF), ganho de peso diário (GPD), ganho de peso total (GPT), consumo diário de ração (CDR), consumo total de ração (CTR), e conversão alimentar (CA) de leitões em fase inicial

Tratamentos	PF* (Kg)	GDP* (Kg)	GPT* (Kg)	CDR (Kg)	CTR (Kg)	CA (Kg/Kg)
Controle (Pd 0,38%)	25,2ab	0,575ab	9,7ab	1,019 ^a	16,5	1,706
Pd red.	23,4b	0,466b	7,9b	0,792b	14,5	1,822
Pd red.+FYT	25,0ab	0,588ab	9,5ab	1,011a	17,0	1,789
Pd red.+FYT+BU	25,6ab	0,610ab	10,14ab	0,877b	16,2	1,602
Pd red.+FYT+BE	27,5a	0,723a	12,0a	1,036a	17,3	1,438
Pd red.+FYT+BU+BE	25,4ab	0,582ab	9,9ab	0,996a	15,0	1,517
Valores de P	0,03	0,01	0,03	<0,0001	0,53	0,15
CV (%)	5,06	12,75	13,03	4,98	15,87	12,51

* Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P<0,10$).

O CDR dos leitões que ingeriram ração com ácido benzóico e fitase foi superior ($P < 0,10$) ao CDR dos animais que receberam dieta com fitase e ácido butírico. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por SARAIVA et al. (2009), ao estudarem diferentes níveis de fósforo reduzido em rações para suínos para avaliarem o consumo diário de ração. Ficou constatado que esse parâmetro aumenta linearmente de acordo com as quantidades de fósforo disponível e que influencia diretamente no peso final e conversão alimentar dos animais. Infere-se que baixos níveis de fósforo podem comprometer o consumo voluntário de alimento e o desempenho de suínos na fase inicial. Os resultados também corroboram com os encontrados por AROUCA (2008) que avaliou diferentes níveis diferentes de fósforo reduzido em dietas de leitões na fase inicial e observou redução linear na conversão alimentar.

FREITAS et al. (2006) observaram que não houve efeito de diferentes níveis de misturas de ácidos orgânicos nas características de desempenho avaliadas nos períodos de 21 a 49 e de 36 a 49 dias. No entanto, os animais que receberam 0,84 e 0,63% de ácidos orgânicos na dieta apresentaram aumento de 5,56% no ganho de peso médio diário e melhoria de 6,29% na CA no período total de 21 a 49 dias.

WEBER et al. (2008) avaliaram o uso de butirato de sódio na dieta de leitões desmamados sobre o desempenho, não encontraram efeito do butirato de sódio na conversão alimentar e observaram tendência de redução linear do consumo diário de ração e ganho diário de peso à medida que os níveis do ácido foram aumentados.

SANDS et al. (2009), ao avaliarem dietas com alto teor de proteína e fitase, observaram melhoria no desempenho ao final de 28 dias da fase de crescimento.

Na Tabela 8 os resultados para o período total não apresentaram diferenças para PI e CTR entre os tratamentos ($P > 0,10$). As variáveis PF, GDP, GPT dos leitões alimentados com ração que continha fitase e ácido benzóico apresentaram melhores resultados ($P < 0,10$) em relação àqueles que receberam ração com fósforo disponível reduzido. Quanto ao CDR o menor consumo ($P < 0,10$) foi para os animais que consumiram ração com fósforo

disponível reduzido e o maior consumo ($P<0,10$) foi para os animais que consumiram ração com fitase e ácido benzóico.

Tabela 8 – Médias de peso inicial (PI), peso final (PF), ganho de peso diário (GPD), ganho de peso total (GPT), consumo diário de ração (CDR), consumo total de ração (CTR), e conversão alimentar (CA) de leitões no período total

Tratamentos	PI (Kg)	PF* (Kg)	GDP* (Kg)	GPT* (Kg)	CDR* (Kg)	CTR (Kg)	CA* (Kg/Kg)
Controle	6,7	25,4ab	0,417a	18,7ab	1,458c	29,9	1,595ab
Pd red.	6,7	21,5c	0,324b	14,8c	1,237e	25,2	1,705a
Pd red.+FYT	6,7	24,7bc	0,415a	18,0bc	1,494ab	29,9	1,658ab
Pd red.+FYT+BU	6,7	25,7ab	0,426a	19,0ab	1,299d	28,9	1,533ab
Pd red.+FYT+BE	6,7	28,7a	0,488a	22,1a	1,521a	31,4	1,432b
Pd red.+FYT+BU+BE	6,8	26,1ab	0,434a	19,4ab	1,464bc	29,1	1,499ab
Valores de P	0,45	0,0004	0,0004	0,0004	<0,0001	0,1553	0,027
CV (%)	1,10	7,49	10,41	10,24	1,25	11,96	8,09

* Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P<0,10$).

Nesse estudo, a redução de fósforo disponível, a inclusão de fitase e ácido benzóico nas rações mostraram resultados satisfatórios no desempenho de leitões na fase pré-inicial, inicial e no período total. Vale ressaltar que o poder de dissociação de íons do ácido benzóico pode ter favorecido a redução do pH no sistema digestório dos leitões e proporcionado, conseqüentemente aumento da fitase. Estes mecanismos podem ter contribuído, principalmente, com a liberação do fósforo orgânico dos grãos da dieta, e ter disponibilizado também outros minerais complexados na molécula de fitato como: cálcio, ferro, zinco, magnésio, potássio, sódio, cobre; além de proteína. Infere-se que o aproveitamento do fósforo dos grãos pode ter compensando a redução de

0,15% de fósforo disponível reduzido na dieta. Esses efeitos puderam ser conferidos no desempenho dos leitões.

De acordo com PIVA et al. (2007), os ácidos orgânicos são adicionados à alimentação de suínos com o objetivo de neutralizar o poder tamponante da dieta, acidificar o meio gástrico e melhorar assim a digestão de proteínas.

Estudos realizados por GUY et al. (2008) para avaliarem o desempenho de leitões dos 8,0 kg aos 89 kg, alimentados com dietas compostas por fitase, ácidos orgânicos líquido e sólido, afirmaram que a inclusão de fitase em dietas para suínos proporcionou aumentos significativos no consumo de ração e no desempenho do crescimento, resultando em redução do período, mostrando ser vantajoso para os produtores de suínos, além de reduzir o risco de poluição causada pelo fósforo.

Já CRISTANI (2008) obteve em seus experimentos resultados não significativos para os animais que receberam ração com acidificantes, mostrando resultados inferiores para ganho diário de peso e CA em relação ao grupo que recebeu antibiótico. MACHINSK (2010) também não encontrou resultado significativo para o desempenho de leitões em fase de crescimento alimentados com dietas com diferentes níveis de cálcio, com fitase e butirato de sódio.

Nos estudos de GHELER et al. (2009), os leitões apresentaram melhora no desempenho período de 28 a 70 dias de idade com a adição de 0,50% e 0,75% de ácido benzóico na ração. Quanto ao uso de ácidos orgânicos, os resultados de pesquisas encontrados são diversificados. WANG et al. (2009) afirmaram que a resposta ao butirato dietético é variável e pode depender da idade do animal, da duração da alimentação e do tipo de dieta.

3.2 Coeficiente de digestibilidade e metabolização nas fases pré-inicial e inicial

Nas Tabelas 9 e 10 estão os resultados para avaliação dos coeficientes de digestibilidade aparente nas fases pré-inicial e inicial.

Não foram observadas diferenças ($P>0,10$) para CDAMS, CDAPB, CDAEB, CDAMM e CDAP. Quanto ao coeficiente de digestibilidade do cálcio, os leitões que ingeriram dieta com fósforo reduzido e dieta com fitase apresentaram melhor digestibilidade ($P<0,10$) ao comparar com o tratamento controle; os quais tiveram digestibilidade inferior. Infere-se que o aumento observado pode ter ocorrido como uma forma de compensação metabólica dos animais em que o cálcio da maior fonte, calcário, pode ter sido “sequestrado”, aumentando assim a absorção desse elemento. Os leitões podem também ter utilizado de suas reservas metabólicas, desencadeando, assim, maior digestibilidade do cálcio.

Tabela 9 – Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS), proteína bruta (CDAPB), extrato etéreo (CDAEE), matéria mineral (CDAMM), cálcio (CDACa) e fósforo (CDAP) de rações para leitões em fase pré-inicial

Tratamentos	CDAMS (%)	CDAPB (%)	CDAEE (%)	CDAMM (%)	CDACa (%)*	CDAP (%)
Controle (Pd 0,41%)	88,07	89,01	89,21	47,76	89,87b	93,86
Pd red.	88,47	89,47	89,61	39,14	93,37a	92,68
Pd red.+FYT	89,54	90,46	90,50	39,13	93,85a	94,32
Pd red.+FYT+BU	89,50	88,48	90,29	38,93	92,26ab	92,63
Pd red.+FYT+BE	89,19	90,07	90,03	42,41	92,69ab	94,80
Pd red.+FYT+BU+BE	86,43	88,13	87,50	42,76	89,64b	88,51
Valores de P	0,70	0,92	0,70	0,98	0,04	0,43
CV (%)	3,32	3,72	3,06	41,71	2,13	4,69

* Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P<0,10$).

Para a digestibilidade do cálcio em animais que consumiram dieta com ácido butírico, ácido benzóico; e ácido butírico com ácido benzóico, os resultados mostram que apesar da fitase ter melhorado a disponibilidade do cálcio, os aditivos podem ter favorecido a equivalência das médias com o tratamento controle. Porém a presença dos dois ácidos mostrou desvantajosa

em relação à digestibilidade dos animais que alimentaram de dietas com fósforo reduzido e fósforo reduzido com fitase ($P > 0,10$). A acidificação causada pela ação dos ácidos pode ter piorado a digestibilidade. De acordo com HALM et al. (2004) as alterações do pH influenciam em condições fisiológicas e metabólicas no organismo do animal.

COLUMBUS et al. (2010) estudaram a eficácia da fitase através de maceração com milho de alta umidade (MAH) para leitões desmamados dos 19 aos 23 dias com peso vivo médio de 6,7kg . As dietas foram líquidas deficientes em fósforo com 62,5 ou 125 unidades de fitase (FTU)/kg de MAH. Não encontraram melhorias na digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, cálcio e fósforo. No entanto, a maceração com MAH e com fitase resultou em maior digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta. Houve aumento da digestibilidade de cálcio com fitase, mas não houve efeito do tratamento dietético na digestibilidade do fósforo. Além disso, a digestibilidade da proteína bruta e do cálcio foi maior para dietas com 125FTU/kg.

Tabela 10 – Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS), proteína bruta (CDAPB), extrato etéreo (CDAEE), cálcio (CDACa) e fósforo (CDAP) de rações para leitões em fase inicial

Tratamentos	CDAMS* (%)	CDAPB* (%)	CDAEE* (%)	CDACa (%)	CDAP (%)
Controle	84,64a	88,45a	83,64a	86,45	91,08
Controle (Pd 0,38%)	87,59a	90,29a	83,84a	87,74	92,90
Pd red.	86,04a	89,28a	84,26a	90,69	94,06
Pd red.+FYT	85,91a	88,13a	83,89a	79,03	89,53
Pd red.+FYT+BU	88,40a	90,12a	88,24a	84,88	91,62
Pd red.+FYT+BU+BE	75,09b	81,00b	70,81b	67,57	87,50
Valores de P	0,002	0,08	0,007	0,10	0,40
CV (%)	3,74	4,39	5,60	11,96	4,56

* Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P < 0,10$).

Não foram encontradas diferenças ($P > 0,10$) para CDACa e CDAP. No entanto, os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, PB e EE dos animais que alimentaram de ração com fitase, ácido benzóico e butírico foram menores ($P < 0,10$) em relação aos demais tratamentos. Acredita-se que a presença dos dois ácidos não foi favorável à digestibilidade dos animais. Apesar da ação do ácido butírico ser mais lenta no trato digestório, os dois ácidos possuem pKa de valores 4,82 e 4,19, o que pode ter potencializado a acidez e dificultado a ação das enzimas proteolíticas, lípases inclusive a fitase. Outra possibilidade seria o sequestro de nutrientes pelo animal para armazenar como reserva. Quanto as alterações de pH (HALM et al. (2004) afirmaram que o pH implica em reações fisiológicas no organismo do animal, podendo influenciar nas funções metabólicas essenciais.

SANDS et al. (2009) constataram que independentemente do nível de proteína na dieta, a suplementação com fitase não melhorou a digestibilidade da matéria seca e do nitrogênio. No entanto, a disponibilidade do fósforo foi maior com a utilização de fitase, independente do nível de proteína. Resultados de WOYENGO et al. (2008) corroboram com essa pesquisa, pois observaram que a digestibilidade do cálcio e do fósforo melhoraram com a utilização de fitase em dietas a base de trigo para suínos em crescimento.

MROZ (2000) afirmou que a redução do pH promovido pelo uso de ácido orgânico aumenta a atividade da fitase porque esta enzima possui as seguintes faixas de pH ótimas: 2,5; e 4,5 a 5,7. O autor relatou ainda que o ácido fítico é mais solúvel em pH baixo e a combinação dos dois compostos eleva a digestibilidade e o aproveitamento, principalmente, do cálcio e do fósforo.

No entanto, KRYGIEROWICZ (2010) ao avaliar dietas para leitões em fase inicial, constatou que a inclusão de acidificante não influenciou na digestibilidade fecal aparente da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e cálcio. Porém observou que houve tendência no aumento da digestibilidade do fósforo.

Estudos realizados por MACHINSKY et al. (2010), ao avaliar o efeito do ácido butírico e da enzima fitase na digestibilidade de nutrientes de dietas

com diferentes níveis de cálcio na fase crescimento, não observaram efeito aditivo no uso de ácido butírico e fitase quanto à digestibilidade da matéria seca, energia bruta e balanço de cálcio e fósforo. Porém, a adição da fitase melhorou a retenção de P, reduziu a excreção fecal e urinária, enquanto a adição de ácido butírico melhorou a digestibilidade da proteína bruta.

Para KORNEGAY et al. (1994) a melhoria da digestibilidade aparente da proteína bruta ocorre pois os ácidos tem o poder de reduzir o pH gástrico e assim ativar as enzimas proteolíticas, o que acarretará em redução da taxa de esvaziamento gástrico, elevando o tempo para a digestão protéica a nível estomacal.

Nas Tabelas 11 e 12 estão os resultados para avaliação dos coeficientes de metabolização aparente nas fases pré-inicial e inicial.

Tabela 11 – Coeficiente de metabolização aparente da matéria seca (CMAMS), proteína bruta (CMAPB), energia bruta (CMAEB), cálcio (CMACa) e fósforo (CMAP) de rações para leitões em fase pré-inicial

Tratamentos	CMAMS (%)	CMAPB (%)	CMAEB (%)	CMACa (%)	CMAP (%)
Controle (Pd 0,41%)	79,07	87,70	85,66	98,07	98,32
Pd red.	80,58	87,07	86,56	98,43	98,21
Pd red.+FYT	81,13	88,40	87,17	98,53	98,51
Pd red.+FYT+BU	81,51	86,14	87,28	98,62	98,02
Pd red.+FYT+BE	81,33	86,94	86,90	98,46	98,43
Pd red.+FYT+BU+BE	73,55	83,37	82,25	97,98	98,38
Valores de P	0,62	0,96	0,43	0,33	0,99
CV (%)	8,83	9,40	4,22	0,45	1,01

Quanto aos dados dos coeficientes de metabolização aparente nas fases pré-inicial e inicial, não foram encontrados resultados significativos para nenhuma das variáveis estudadas ($P > 0,10$), mostrando a necessidade de mais investigações para estudos com o uso de fitase, redução do fósforo inorgânico e inclusão de ácido butírico e benzóico.

A presença da fitase e dos ácidos orgânicos nas dietas não interferiram no metabolismo dos animais. A ingestão de ácido butírico e benzóico não afetaram o pH estomacal, conseqüentemente, não influenciou na produção de pepsina, ácido gástrico e logo, não alterou os mecanismos de digestão e absorção de nutrientes. No entanto, LANFERDINI et al. (2013) afirmaram em seus estudos que o uso de ácidos orgânicos podem colaborar com os processos digestivos, ativando alguns mecanismos de controle da ingestão e absorção energética.

Tabela 12 – Coeficiente de metabolização aparente da matéria seca (CMAMS), proteína bruta (CMAPB), energia bruta (CMAEB), cálcio (CMACa) e fósforo (CMAP) de rações para leitões em fase inicial

Tratamentos	CMAMS (%)	CMAPB (%)	CMAEB (%)	CMACa (%)	CMAP (%)
Controle (Pd 0,38%)	75,43	81,44	80,60	97,07	97,92
Pd red.	78,26	83,14	83,19	97,99	98,68
Pd red.+FYT	76,28	83,46	81,44	98,27	98,66
Pd red.+FYT+BU	78,32	83,97	82,53	96,97	98,00
Pd red.+FYT+BE	82,46	89,16	85,87	96,78	98,31
Pd red.+FYT+BU+BE	69,30	80,88	76,24	96,82	98,41
Valores de P	0,40	0,61	0,38	0,63	0,56
CV (%)	9,78	7,99	6,67	1,56	0,73

A presença de fitase, ácido butírico e ácido benzóico não influenciaram no coeficiente de metabolização dos leitões ($P > 0,10$).

4 CONCLUSÃO

O uso de fitase e ácido benzóico melhorou o desempenho dos leitões dos 6,7kg aos 25 kg.

A presença de fitase, ácido butírico e ácido benzóico nas dietas dos leitões não contribuíram para melhorar os coeficientes de digestibilidade aparente e de metabolização da matéria seca, da proteína bruta, do extrato etéreo, do cálcio e do fósforo nas fases pré-inicial e inicial.

Recomenda-se o uso de 1.000 FYT/kg e 0,30% de ácido benzóico para leitões dos 6,7kg aos 25 Kg.

5 REFERÊNCIAS

1. AROUCA, C. L. C. Exigências de fósforo disponível para suínos selecionados geneticamente para deposição de carne em diferentes fases de crescimento dos 15 aos 120 kg. 2008. **Tese**. (Escola de Veterinária). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte – Minas Gerais.
2. AROUCA, C. L. C.; SILVA, F. C. de O. ; FONTES, D. de O. ; SARAIVA, A. ; DONZELE, JUAREZ, L. ; SILVA, M. de A. e ; PAULA, E. de . Available phosphorus in diets for 15 to 30 kg pigs genetically selected for meat deposition. **Revista brasileira de zootecnia** (Online), v. 41, p. 65-71, 2012.
3. BIAGI, G.; PIVA, A.; MOSCHINI, M. et al. Effect of gluconic acid on piglet growth performance, intestinal microflora, and intestinal wall morphology. **Journal of Animal Science**, v.84, p.370-378, 2006.
4. CORASSA, A.; LOPES, D.C.; OSTERMANN, J.D.; SANFELICE, M. A.; TEIXEIRA, A. de O.; SILVA, F. F. da; PENA, S. de M. Níveis de ácido fólico em dietas contendo ácido fórmico para leitões de de 21 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.462-470, 2006.
5. COLUMBUS, D.; NIVEN, S. J.; ZHU, C. L.; LANGE, C. F. M. de. **Phosphorus** utilization in starter pigs fed high-moisture corn-based liquid diets steeped with phytase. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 3964–3976, 2010.
6. CRISTANI, J. **Acidificantes e probióticos na alimentação de leitões recém desmamados**. 2008. Tese. (Doutorado em Zootecnia - Produção Animal). Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho. Jaboticabal – São Paulo. 70p.
7. FREITAS, L. S. de; LOPES, D. C.; FREITAS, A. F. de; COSTA, CARNEIRO, J. da C.; CORASSA, A.; PENA, S. de M.; COSTA, L. F. Avaliação de ácidos orgânicos em dietas para leitões de 21 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1711-1719, 2006.
8. GHELER, T. R.; ARAÚJO, L. F.; SILVA, C. C.; GOMES, G. A.; PRATA, M. F.; GOMIDE, C. A. Uso de ácido benzóico na dieta de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p.2182-2187, 2009.

9. GOMES, F. E.; FONTES, D. O.; SALIBA, E. O. S.; FERREIRA, W. M.; FIALHO, E. T.; SILVA, F. C. O.; SILVA, M. A.; CORRÊA, G. S. S.; SALUM, G. M. Ácido fumárico e sua combinação com os ácidos butírico ou fórmico em dietas de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.59, n.5, p.1270-1277, 2007.
10. GOMES, F. E.; FONTES, D. O.; VASCONCELLOS, C. H. F.; SILVA, F. C. O. Ácido fumárico e sua combinação com os ácidos butírico ou fórmico em dietas de leitões recém-desmamados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.3, p. 678-686, 2011.
11. GUY, J. H.; EDGE, H. L.; BLANCHARD, P. J. ILSLEY, S. E.; COONAN, C.; FEUERSTEIN, D. A note on the effect of supplementation with microbial phytase and organic acids on feed intake and growth performance of growing pigs. **Journal of Agricultural and Food Research**. v. 47, p. 93–97, 2008.
12. HALM, M.; HORNBAEK, T.; ARNEBORG, N. et al. Lactic acid tolerance determined by measurement of intracellular pH of single cells of *Candida krusei* and *Saccharomyces cerevisiae* isolated from fermented maize dough. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, n.1, p.97-103, 2004.
13. JONGBLOED, A. W. & JONGBLOED, R. The Effect of Organic Acids in Diets for Growing Pigs on Enhancement of Microbial Phytase Efficacy. ID-DLO Report no.96009. Lelystad, The Netherlands: **Insitute for Animal Science and Health**. 1996.
14. KEMME, P. A.; JONGBLOED; A. W., MROZ, Z.; MAËKINEN, M. Apparent ileal amino acid digestibility in pigs as affected by phytate, microbial phytase, and lactic acid. **Journal of Animal Science**, v. 73, Suppl. 1, 173 p. 1995.
15. KORNEGAY, E.T.; EVANS, J. L.; RAVINDRAN V. Effects of diet and protein level or source of calcium on the performance, gastrointestinal content measurements, bone measurements and carcass composition of gilts and barrow weaning pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, p.2670-2680, 1994.

16. KRYGIEROWICZ, E. C. **Taxa linear de tamponamento como estimadora de efeitos nutricionais da acidificação da dieta para leitões**. Curitiba: Setor de Ciências Agrárias, 2010. 64p. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciências Agrárias/ Universidade Federal do Paraná, 2010.
17. LANFERDINI, E.; ANDRETTA, I.; LEHNEN, C.R.; MELCHIOR, R.; SILVA, M.F.R.; GARCIA, G.G. Digestibilidade de dietas e metabolismo de suínos. **Archivos de Zootecnia**, v.62, n.238, p.307-310. 2013.
18. MACHINSKY, T. G.; KESSLER, A. de M.; RIBEIRO, A. M. L.; MORAES, M. L. de; SILVA, I. C. M. da; CORTÉS, M. E. M. Digestibilidade de nutrientes e balanço de Ca e P em suínos recebendo dietas com ácido butírico, fitase e diferentes níveis de cálcio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.11, p.2350-2355, 2010.
19. MOSENTHIN, R.; SAUER, W.C., AHRENS, F.; LANGE, C.F.M.; BORNHOLDT, U. Effect of dietary supplements of propionic acid, siliceous earth or a combination of these on the energy, protein and amino acid digestibilities and concentrations of microbial metabolites in the digestive tract of growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 37, p. 245-255, 1992.
20. MROZ, Z. Supplementary organic acids and their interactive effects with microbial phytase in diets for pigs and poultry. In: ANNUAL CONFERENCE ON PHITASE IN ANIMAL NUTRITION, Lublin. **Proceedings...** Lublin, 2000.
21. MROZ, Z.; JONGBLOED, A. W.; PARTANEN, K.; VAN DIEPEN, J. T. H. M.; KEMME, P. A.; KOGUT, J. Apparent digestibility of amino acids and balance of nitrogen and minerals as inuenced by buffering capacity and organic acids in diets for growing swine. **Journal of Animal Science**, v. 75, Suppl. 1, 185 p. 1997.
22. PAPATSIROS, V.G.; TASSIS, P.D.; TZIKA, E.D.; PAPAIOANNOU, D.S.; PETRIDOU, E.; ALEXOPOULOS, C.; KYRIAKIS, S.C. Effect of benzoic acid and combination of benzoic acid with a probiotic containing *Bacillus Cereus var. toyoi* in weaned pig nutrition . **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v.14, n. 1, p. 117-125, 2011.

23. PEKAS, J.C. Versatile swine laboratory apparatus for physiologic and metabolic studies. **Journal of Animal Science**, v.27, p.1303-1309, sept. 1968.
24. PIVA, A.; PIZZAMIGLIO, V.; MORLACCHINI, M.; TEDESHI, M.; PIVA, G. Lipid microencapsulation allows slow release of organic acids and natural identical flavors along the swine intestine. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 486-493, 2007.
25. ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; FERREIRA, A. S.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C. **Tabelas brasileiras para aves e suínos – Composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2 ed. Viçosa:UFV – Departamento de Zootecnia, 2005. 186p.
26. SANDS, J.S.; RAGLAND, D.; DILGER, R.N.; ADEOLA, O. Responses of pigs to *Aspergillus niger* phytase supplementation of low-protein or high-phytin diets. **Journal Animal Science**, v.87, p. 2581-2589, 2009.
27. SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos para avaliação biológica dos alimentos e exigências nutricionais para animais monogástricos**. Jaboticabal, SP, UNESP, (no prelo). 2007.
28. SARAIVA, A.; LOPES, J. D.; MIRANDA, R. F. de O.; LOBÃO, M.; ABREU, T. de; SILVA, F. C. de O.; SANTOS, F. de A. Available phosphorus levels in diets for swine from 15 to 30 kg genetically selected for meat deposition. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 38, n. 2, p. 307-313, 2009.
29. SAS - **Statistical analysis system: Realease 9.1.3**, (software). Cary: Sas Institute, 2008. 620p.
30. SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.
31. TORRALLARDONA, D.; BADIOLA, J. I. BROZ, J. Efficacy of benzoic acid in the feeding of weanling pigs. **Annual Meeting of EAAP**, Uppsala, p. 5-8, 2005.
32. WANG, J. P.; YOO, J. S.; LEE, J. H.; JANG, H. D.; KIM, H. J.; SHIN, ; SEONG, S. I.; KIM, I. H. Effects of phenyllactic acid on growth performance, nutrient digestibility, microbial shedding, and blood profile in pigs. **Journal of Animal Science**, vol. 87, n. 10, p. 3235-3243, 2009.

33. WEBER, T. E.; KERR, B. J. Effect of sodium butyrate on growth performance and response to lipopolysaccharide in weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 442–450, 2008.
34. WOYENGO, T. A.; SANDS, J. S.; GUENTER, W.; NYACHOTI, M. Nutrient digestibility and performance responses of growing pigs fed phytase- and xylanase-supplemented wheat-based diets. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 848-857, 2008.

CAPÍTULO III – CARACTERÍSTICAS DIGESTIVAS, BACTERIOLÓGICAS, HISTOMORFOMÉTRICAS E ÓSSEAS DE LEITÕES QUE RECEBERAM ÁCIDO BUTÍRICO, ÁCIDO BENZÓICO E FITASE NAS DIETAS

RESUMO

Nesse estudo objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de fitase e ácidos orgânicos na ração de leitões aos 25,0 kg de peso vivo médio sobre o escore fecal nas fases pré-inicial e inicial; a contagem de *E. coli* e *Salmonella*, o pH do conteúdo estomacal, intestino delgado e grosso; histomorfometria do intestino delgado, resistência dos ossos cru, pré-cozidos e níveis de cálcio e fósforo nos ossos do metacarpos. Adotou-se o delineamento experimental em blocos ao acaso. Realizou-se análise de variância e as médias foram comparadas pelo Teste Tukey a 10% de probabilidade. Foram utilizados 120 leitões para avaliação do escore fecal, sendo quatro animais por unidade experimental e cinco repetições. Foram abatidos 30 leitões, sendo um animal de cada unidade experimental. As dietas experimentais foram: 1- controle com Pd disponível em 0,41%; 2- Pd reduzido a 0,15%; 3- Pd reduzido a 0,15%, mais 1.000 unidades de fitase por quilograma; 4- Pd reduzido a 0,15%, mais 1.000 unidades de fitase por quilograma, mais 0,3% ácido butírico; 5- Pd reduzido a 0,15%, mais 1.000 unidades de fitase por quilograma, mais 0,75% ácido benzóico; 6- Pd reduzido a 0,15%, mais 1.000 unidades de fitase por quilograma, mais 0,3% ácido butírico, mais 0,75% ácido benzóico. As variáveis estudadas foram: escore fecal, contagem de *E. coli* e *Salmonella*, pH no conteúdo estomacal e intestino delgado, histomorfometria do intestino delgado, resistência óssea e presença de cálcio e fósforo nos metacarpos. Nas fases pré-inicial e inicial não foram encontrados resultados significativos para escore fecal, contagem de *E. coli* e pH do trato digestivo. A maior altura de vilosidades foi para o tratamento controle e a maior relação vilo:cripta foi para o tratamento com fitase, ácido butírico e benzóico. A histomorfométrica do jejuno e do íleo não apresentaram diferença estatística significativa para altura de vilosidades, profundidade de cripta e a relação vilo:cripta. A menor resistência dos ossos crus foi para os tratamentos com fósforo disponível reduzido. Os níveis de cálcio nos ossos crus foram piores para os leitões que receberam dieta com fitase e ácido butírico. Houve menor deposição de fósforo nos ossos dos animais que alimentaram de ração com fitase, ácido butírico e ácido benzóico. Conclui-se que o ácido butírico e o ácido benzóico associados à fitase proporcionaram melhor resistência óssea e melhor relação vilo:cripta do duodeno de leitões de 25,0 kg de peso vivo.

Palavras-chave: acidez, enzima, saúde intestinal, suínos, vilosidades.

CHAPTER III – DIGESTIVE, BACTERIOLOGICAL, MORPHOMETRIC AND BONE CHARACTERISTICS IN PIGLETS FED DIETS WITH PHYTASE, BENZOIC ACID AND BUTYRIC ACID

ABSTRACT

In this study we aimed to assess the effects of including phytase and organic acids in the diet of pigs with 25.0 kg of live weight on fecal score in the pre-initial and initial phases, *E. coli* and *Salmonella* counting, pH of the stomach, small and large intestine contents, small intestine histomorphometry, raw and precooked bone strength, and levels of calcium and phosphorus in the metacarpal bones. The experimental design consisted of randomized complete blocks. ANOVA was performed and means were compared by Tukey test at 10 % confidence. We used 120 animals, four animals per experimental unit and five replications, to assess fecal score. We slaughtered 30 piglets, one animal of each experimental unit. The treatments were as follows: 1 - control with Pd available at 0.4%; 2 - Pd reduced to 0.15%; 3 - Pd reduced to 0.15%, plus 1,000 FYT/kg; 4 - Pd reduced to 0.15%, plus 1,000 FYT/kg and 0.3% butyric acid; 5 - Pd reduced to 0.15%, plus 1,000 FYT/kg and 0.75% benzoic acid; 6 - Pd reduced to 0.15%, plus 1,000 FYT/kg, 0.3% butyric acid, and 0.75% benzoic acid. The variables studied were fecal score, presence of *E. coli* and *Salmonella*, pH in the gut, small intestine content, small intestine histomorphometry, bone strength, and the presence of calcium and phosphorus in the metacarpal bones. In the pre-initial and initial phases no significant results were found for fecal score, *E. coli* counting and pH of the digestive tract. Villi height was greater for the control treatment and higher villus: crypt was found when the animals were treated with phytase, butyric and benzoic acid. A histomorphometric analysis of jejunum and ileum showed no statistically significant difference for villus height, crypt depth and villus: crypt relation. The lower resistance of raw bones was obtained for treatments with lower available phosphorus. Calcium levels in raw bones were lower in piglets fed diets with phytase and butyric acid. There was less phosphorus deposition in the bones of animals fed diets with phytase, butyric acid and benzoic acid. We concluded that the butyric acid and benzoic acid associated with phytase produced improved bone strength and better villous: crypt duodenum in piglets with 25.0 kg live weight.

Keywords: acid, enzyme, intestinal health, pigs, villous.

1 INTRODUÇÃO

Na suinocultura industrial o desmame precoce é adotado para reduzir o tempo de aleitamento, reduzir o número de dias não produtivos da fêmea reprodutora, elevar o número de partos/fêmea/ano e conseqüentemente aumentar o número de leitões/desmamados/fêmea/ano. Apesar de ser uma excelente alternativa em busca da eficiência reprodutiva, por ocasião do desmame precoce, os leitões apresentam o trato digestório imaturo, susceptível às infecções e síndrome diarreica, levando a perda de peso. Para solucionar este problema, as dietas pré-iniciais e iniciais precisam ser bem formuladas devido à complexidade, para facilitar o processo de digestão e absorção dos nutrientes.

O uso de ácidos orgânicos e os seus sais tem-se constituído como alternativas potenciais profiláticas como promotores de crescimento para melhorar a conversão alimentar e o desempenho de leitões desmamados, apesar dos seus efeitos serem inferiores em comparação aos antibióticos. A ação dos ácidos depende muito da quantidade de ração consumida. Geralmente é considerado que o pH dos ácidos devem ser inferior ao pH gástrico, resulta em aumento da atividade das enzimas proteolíticas e redução do tempo de retenção gástrica, pois assim reduz a capacidade tamponante e, assim, melhoram a digestão das proteínas e minimizam a proliferação e/ou colonização de microrganismos indesejáveis, como, *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Campylobacter*. Além disso, podem influenciar na morfologia da mucosa intestinal, estimular a secreção pancreática e servir como substratos no metabolismo intermediário. Estes podem contribuir para os processos de digestão, absorção e retenção de nutrientes dietéticos. (KELLY et al., 1991; PARTENEN & MROZ 1999; DIBNER & BUTIN, 2002; FREITAS et al., 2006; CRISTANI, 2008; GHELER et al., 2009; CANTELI, 2010; KRYGIEROWICZ, 2010; GOMES et al. 2011; COSTA et al., 2011).

Além da maturidade digestiva e da saúde intestinal, outra preocupação é com a deposição de cálcio e fósforo nos ossos; e a excreção, principalmente, do fósforo nas fezes e na urina. Conforme LENINGHER (2002); CRENSHAW (2001), o fósforo corresponde a 1% do total de 4% a 6% do peso

total do organismo animal, é um elemento essencial no metabolismo, participa de funções metabólicas vitais e é o mineral que mais sobrecarrega o custo das rações.

A fonte de fósforo orgânico presente nas dietas de suínos compreende os grãos, que são ricos em fitato. Esta molécula que possui o fósforo orgânico complexado, além de outros minerais e moléculas de proteínas que os monogástricos não são capazes de aproveitar porque não sintetizam a enzima fitase para disponibilizar estes nutrientes (SELLE et al., 2000).

A fitase tem sido utilizada e pesquisada também com intuito de minimizar o uso de fontes de fósforo inorgânico na dieta dos suínos. Em muitas investigações a enzima fitase é associada aos ácidos orgânicos para potencializar a ação enzimática, pois os ácidos ou seus sais possuem pH inferior ao pH gástrico, o qual favorece a ação das enzimas.

Mediante o exposto, objetivou-se avaliar o escore fecal; a presença de *E. Coli* e *Salmonella*, no conteúdo intestinal e na urina; o pH do conteúdo estomacal e do intestino delgado; a histomorfometria da mucosa do intestino delgado; a resistência óssea e presença de Ca e P nos metacarpos; além do peso absoluto e relativo do estômago cheio, estômago vazio, intestino delgado e intestino grosso, baço, pâncreas, fígado, rins e total de vísceras.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local

O experimento foi realizado no Setor de Suinocultura do Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás – UFG, nos meses de novembro de 2011 a março de 2012. O ensaio experimental foi conduzido de acordo com os princípios éticos de pesquisa em animais, após avaliação e aprovação feita pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, conforme protocolo número 324/11.

As contagens de *E. coli* e *Samonella* no conteúdo intestinal e na urina foram realizadas no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. O preparo das lâminas para avaliação histomorfométrica foi realizado no Laboratório de Histopatologia do Setor de Patologia Animal, Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Os registros das imagens foram feitos no Laboratório de Histologia da Faculdade de Zootecnia da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. A resistência óssea foi realizada no Laboratório do Setor de Tecnologia de Alimentos da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás. O preparo das soluções para leitura de cálcio e fósforo nos ossos foi realizado nono Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. A leitura dos minerais foi realizada no Laboratório de Química da Universidade Federal de Goiás.

2.2 Instalações, animais, delineamento experimental e análise estatística

Foi utilizado um galpão de alvenaria com três salas com 48 baias suspensas dispostas em fila dupla e um corredor central. A instalação possui

pé direito de 3,0m de altura e todas as salas possuem cortinas. As baias suspensas são de ferro galvanizado, piso vazado com placas de Policloreto de Vinil (PVC), bebedouros do tipo “chupeta” e comedouros horizontais tipo cocho em canos de PVC. Em cada sala, foi colocado um termo-higrômetro de máxima e mínima na altura dos animais, para aferir a temperatura e a umidade relativa do ar. Lâmpadas incandescentes de 100 Watts foram colocadas em cada baia à meia altura dos animais para proporcionar aquecimento.

Foram utilizados 120 leitões comerciais, com peso vivo médio inicial de $6,7 \text{ kg} \pm 0,022 \text{ kg}$. Foram abatidos 30 leitões, sendo um animal de cada unidade experimental. Os leitões estavam com aproximadamente 65 dias de vida.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com seis tratamentos, cinco repetições, sendo cada bloco constituído por uma faixa de peso. Os animais foram distribuídos em blocos ao acaso. Cada unidade experimental foi constituída por quatro animais machos castrados.

Os dados referentes ao escore fecal, pH do estômago e intestino delgado, morfometria do intestino delgado, resistência óssea, presença de Ca e P nos metacarpos, foram computados e avaliados no programa R Ddevelopment Core Team (2010) para análise não paramétrica, pelo teste Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade.

No entanto, os dados para avaliação da presença de *E. coli* e *Salmonella*, no conteúdo intestinal e na urina foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis a 5%, sendo utilizado o programa estatístico Statistical Analysis System (SAS 9.2) (SAS, 2008).

2.3 Metodologia e variáveis analisadas

2.3.1 Escore fecal de leitões nas fases pré-inicial e inicial

Foram observados 120 leitões diariamente pela mesma pessoa, em horário fixo, as 16:00h. O escore fecal foi mensurado dos $6,7 \text{ kg} \pm 0,022 \text{ kg}$ aos $25 \text{ kg} \pm 2,779 \text{ kg}$ correspondentes às fases pré-inicial e inicial. A metodologia

adotada foi adaptada de SOBESTIANSKY & BARCELLOS (2007), os quais propõem que a avaliação visual seja diária e no mesmo horário. A consistência das fezes foi classificada de acordo com os seguintes critérios: 1 – fezes com consistência normal (>24% de matéria seca); 2 – fezes pastosas (22 a 24% de matéria seca); 3 – fezes cremosas (20 a 22% de matéria seca); 4 – fezes líquidas (<20% de matéria seca). Quando mais de 20% dos animais apresentavam diarreia, o lote era considerado afetado. A intensidade de diarreia foi classificada de maneira que se em uma semana não houvesse registro, considerava-se que o lote a unidade experimental não possuía diarreia. Se apresentassem registros em um ou três dias, registrava-se média diarreia. Se houvesse presença de quatro ou mais dias com diarreia, a avaliação era de alta diarreia.

2.3.2 Contagem de *E. coli* e *Salmonella*, no conteúdo intestinal e na urina

Para amostragem, foram coletadas aproximadamente de $2,5 \pm 0,5$ g do conteúdo intestinal do duodeno, jejuno e íleo de cada animal abatido. As amostras foram acondicionadas em recipientes esterilizados, identificados, colocados em caixas isotérmicas com gelo retornável e encaminhadas para análise.

No laboratório foram pesadas 1 g de conteúdo do duodeno, jejuno e íleo, e transferidos para tubos de ensaio com 4,5 mL de solução salina a 0,85%. A partir desta diluição inicial com o auxílio de pipetas automáticas, foram feitas diluições seriadas até 10^{-7} , sendo as diluições 10^{-1} e 10^{-3} para a contagem de *Salmonella* e 10^{-5} e 10^{-7} para contagem de *Escherichia coli*, segundo a metodologia descrita por BRASIL (2003). Posteriormente, transferiu-se 0,1 mL de cada diluição para placas de *Petri* com ágar verde brilhante e ágar eosina azul de metileno, respectivamente. Em seguida, fez-se o plaqueamento em superfície e incubaram-se as amostras a 37°C por 24h. Foi realizada a contagem das colônias isoladas e de três a cinco colônias típicas e atípicas foram selecionadas e repicadas em ágar triplice açúcar ferro (TSI). Os

isolados do TSI característicos das bactérias foram confirmados por testes bioquímicos.

2.3.3 Avaliação do pH do conteúdo estomacal e do intestino delgado

A avaliação do poder de dissociação de íons de hidrogênio, pH, foi realizada após o abate dos animais. Foram analisados os conteúdos do estômago e intestino delgado de 30 leitões. Para tanto, foi realizada uma abertura em cada órgão para o contato direto do peagâmetro com a digesta. O peagâmetro usado era do modelo pH 100. O pH das rações também foi aferido em 20 g de amostra diluída em 30 mL de água destilada e homogeneizada em barra magnética em agitador elétrico, em seguida fazia-se a leitura do pH em duplicata, conforme recomendações de GIESTING & EASTER (1985). A média das leituras foi considerada o resultado do pH.

2.3.4 Avaliação histomorfométrica da mucosa do intestino delgado

Para avaliação da histomorfometria do intestino delgado, foram coletadas amostras de 30 leitões, sendo um animal de cada repetição. Os segmentos do duodeno, jejuno e íleo foram abertos pela região mesentérica. Foram colheitados fragmentos de aproximadamente 2,0 cm de comprimento, os quais foram lavados em água destilada, estendidos pela túnica serosa e fixados em solução de formaldeído a 10% e após 24 horas foram lavados com água destilada e imersos em solução de álcool a 70%; e mantidos até a confecção das lâminas. Posteriormente as amostras foram desidratadas em soluções crescentes de álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina e cortadas a 5µm, fixadas em lâminas e corados com solução de hematoxilina-eosina (HE) (PROPHET et al., 1992).

Os registros das imagens foram realizados no Laboratório de Histologia da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Foi utilizado um microscópio óptico, com objetiva de 10x. As leituras das alturas de vilosidades

e profundidade de criptas foram realizadas em um computador com o programa analisador de imagens *Image-Pro Plus 1.3.2* (1994). Foram selecionados e medidos os comprimentos em linha reta, de acordo com a unidade adotada (μm), 30 vilosidades e 30 criptas, bem orientadas, de cada região intestinal, por animal. As medidas de altura de vilosidades foram tomadas a partir da base superior da cripta até o ápice da vilosidade e as criptas foram medidas entre as vilosidades da base inferior até a base superior da cripta conforme recomendações de (RAMOS et al., 2011).

2.3.5 Avaliação da resistência óssea e presença de cálcio e fósforo nos metacarpos

Para avaliação da resistência óssea, foi coletadas a mão direita de animais abatidos aos 25 kg de peso vivo médio. As amostras foram congeladas para análises posteriores. Foram retirados o segundo e terceiro ossos metacarpianos, sendo o segundo osso fervido por 10 minutos e o terceiro avaliando *in natura*. Todos os ossos dissecados e secos em estufa de ventilação forçada por 72 horas a 55°C. Em seguida a resistência à quebra foi determinada nos ossos *in natura* e cozidos, com auxílio do analisador universal de ensaios, Instron, série 3367, Grove City, EUA, à velocidade de 5 mm/min.

Para avaliação dos níveis de Ca e P, os ossos foram desengordurados em Extrator de Goldfish Soxlet e em seguida triturados. Para avaliação da matéria mineral e preparo da solução para leitura de Ca e P, foi pesado um grama de cada amostra e levadas à mufla até atingir a temperatura de 600°C. Após a extração das cinzas, foi adicionado 5 mL de HCL (1:1) em cada amostra do cadinho. Em seguida, foram levados à manta aquecedora para aquecimento com o objetivo de desidratar a sílica contida nas cinzas e descomplexar os minerais, facilitando sua solubilização para que sejam dosados nas análises subsequentes. O conteúdo foi filtrado em papel filtro, em balão volumétrico de 100 mL, tendo o cuidado de fazer a transferência quantitativa do material e o volume foi completado com água destilada. Uma alíquota de 50 mL de cada amostra foi transferida para embalagem de

polietileno, identificadas e encaminhadas ao Laboratório do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás.

As soluções foram preparadas de acordo com SILVA (2009). As leituras de Ca foram obtidas por meio da espectrofotometria de absorção atômica, conforme ZAGATTO et al. (1979) e o teor de P foi por colorimetria de acordo com SARRUGE & HAAG (1974).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Escore fecal nas fases pré-inicial e inicial

Não foram encontrados resultados significativos ($P>0,05$) para os escores adotados nas fases pré-inicial e inicial (Tabela 1 e 2).

Nessa pesquisa a presença dos ácidos orgânicos nas rações não causou efeito na frequência de diarreia, mostrando que a redução do pH das dietas não foi eficaz para minimizar ou inibir o aparecimento de animais com diarreia. Possivelmente a falta de expressão dos ácidos tenha ocorrido por falta de desafio. De acordo com CRISTANI (2008) o uso de acidificantes em leitões de granjas com alto desafio sanitário, pode ser eficiente no controle de diarreia.

Tabela 1 - Escore fecal dos leitões na fase pré-inicial

Tratamentos	Escore (%) [*]			
	1	2	3	4
Controle (Pd 0,41%)	61,5	15,2	21,3	2,0
Pd red.	58,4	13,4	21,7	6,4
Pd red.+FYT	66,0	18,8	13,2	2,0
Pd red.+FYT+BU	59,9	16,2	19,1	4,8
Pd red.+FYT+BE	71,9	14,3	10,1	3,6
Pd red.+FYT+BU+BE	59,4	21,7	12,7	6,2
Valores de P	0,16	0,24	0,19	0,50
CV (%)	13,96	34,83	53,60	111,00

* Ausência de efeito dos tratamentos ($P>0,05$) pelo Teste de Kruskal-Wallis.

Resultados contrários foram encontrados por GHELIER et al. (2009), ao testar a eficiência do ácido benzóico na dieta de suínos, constataram que o desempenho de leitões melhoram com a adição de ácido benzóico. Os níveis de 0,50% e 0,75% foram mais eficientes na redução da ocorrência de diarreia.

Resultados diferentes foram encontrados por COSTA (2011) em que o butirato de sódio não afetou a incidência de diarreia. Porém, TONEL (2009) mostra que o butirato de sódio preveniu diarreias. Ao inibir o crescimento de

bactérias patogênicas, promoverá o aumento das bactérias benéficas, reduzindo, conseqüentemente, a ocorrência de diarreias.

Tabela 2 - Escore fecal (%) dos leitões na fase inicial

Tratamentos	Escore (%)*			
	1	2	3	4
Controle (Pd 0,38%)	55,78	20,39	20,19	3,62
Pd red.	55,75	11,27	23,74	9,41
Pd red.+FYT	57,53	19,63	18,40	4,42
Pd red.+FYT+BU	65,25	22,67	8,93	3,13
Pd red.+FYT+BE	62,32	21,58	12,75	3,33
Pd red.+FYT+BU+BE	66,55	18,87	10,19	3,91
Valores de P	0,45	0,32	0,26	0,49
CV (%)	18,0	42,85	71,69	120,7

* Ausência de efeito dos tratamentos ($P > 0,05$) pelo Teste de Kruskal-Wallis.

Acredita-se que o número de animais com diarreia e a piora no escore fecal ocorreu porque o manejo de pesagens semanais causava muito estresse aos animais, justificando assim o elevado coeficiente de variação. Durante o manejo de pesagens, os animais apresentavam comportamento de estresse, reduziam o consumo de ração e apresentavam elevação de escore no dia seguinte. O estresse causado pode ter desencadeado injúria intestinal, amolecimento das fezes e conseqüentemente diarreia não infecciosa. Após um ou dois dias, os leitões que apresentavam escore 4, reduzia para escores inferiores. Em muitos registros foi observado regressão do escore 4 para escore 1, o qual representa fezes normais.

Para ROCHA et al. (2008), existe grande variabilidade entre os animais nesta fase, sendo uns mais resistentes do que outros, dificultando a interpretação dos resultados.

Ao avaliar a adição de ácido benzóico na alimentação, PAPATSIROS et al. (2011) constataram redução na gravidade da diarreia pós-desmame e FREITAS et al. (2006) observaram melhor consistência das fezes com o uso de 0,84% de ácidos orgânicos na dieta de leitões dos 21 aos 49 dias de idade.

3.2 Contagem de *E. coli* e *Salmonella* no conteúdo intestinal

Foram realizadas investigações para contagem de *E. coli* e *Salmonella* no conteúdo do intestino delgado e na urina dos leitões. As amostras foram negativas para *Salmonella* no conteúdo intestinal e na urina. Para avaliação de *E. coli* na urina as amostras também foram negativas.

Os resultados para avaliação da presença de *E. coli* no conteúdo intestinal e na urina estão na Tabela 3. Não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos, nas avaliações da contagem de *E. coli* do conteúdo do intestino delgado dos leitões abatidos aos 25 kg de peso vivo médio.

Tabela 3 - Valores médios de unidades formadoras de colônias (UFCs) de *E. coli*, expressas em log, no conteúdo do duodeno, jejuno e íleo de leitões abatidos aos 25 kg de peso

Tratamentos	<i>E. coli</i> no conteúdo do Intestino Delgado (UFCs)*		
	Duodeno	Jejuno	Íleo
Controle	0,00	1,23	1,49
Pd red.	1,13	3,92	0,00
Pd red.+FYT	1,31	2,20	3,00
Pd red.+FYT+BU	0,00	1,39	2,29
Pd red.+FYT+BE	0,00	1,93	1,48
Pd red.+FYT+BU+BE	0,00	5,42	0,93
Valores de P	0,55	0,23	0,68
CV (%)	388,1	113,5	194,9

* Ausência de efeito dos tratamentos ($P > 0,05$) pelo Teste de Kruskal-Wallis.

Conforme BARCELOS & SOBESTIANSKY (1998) a redução do pH é importante para inibir o crescimento de bactérias patogênicas, como *Escherichia coli* e *Salmonella*, as quais não são capazes de sobreviver em pH baixo. BLANCHARD (2000) constatou que a faixa ótima para crescimento da *E.coli* está entre 4,3 e 9,5; e para *Salmonella* sp. está entre 4,0 e 9,0. No entanto, nessa pesquisa, não foi possível confirmar esses resultados.

Os resultados desse estudo corroboram com os estudos de BIAGI et al. (2006), o quais ao estudar a presença de bactérias jejuno e íleo de leitões desmamados aos 28 dias alimentados com ácido glucônico, não observaram diferenças significativas entre os animais que receberam ácido glucônico e os animais que receberam dieta controle.

TORRALARDONA et al. (2005) ao avaliar a microbiota intestinal de leitões nas fases pré-inicial e inicial que receberam ácido benzóico nas dietas, observaram aumento na biodiversidade da microbiota do íleo. Os pesquisadores afirmaram que o alto grau de biodiversidade está associado à microbiota saudável, e esta seria uma justificativa para resultados positivos também para desempenho. O estudo mostrou tendência para maior frequência de *Vibrio* em digesta ileal e uma frequência mais baixa de *Ruminococcus* no ceco. Foi sugerido maior similaridade entre microbiotas ileal e cecal nos animais que consumiram ácido benzóico em relação ao grupo controle. Os autores afirmaram a necessidade de mais estudos.

Resultados diferentes foram encontrados por WALSH et al. (2007) ao avaliar leitões seis dias após o desmame, alimentados com dietas acidificadas observaram menor proliferação de *E. coli* em relação aos 33 dias de idade, quando comparados aos animais que não receberam acidificação na dieta. FREITAS et al. (2006) também encontraram redução de *E. coli* com a suplementação de ácidos orgânicos no período de 21 a 49 dias de idade.

Em uma pesquisa mais recente, WALSH et al. (2012) avaliaram a presença de *Salmonella* e *E. coli* no duodeno, jejuno e íleo de leitões desmamados aos 19 dias, alimentados com dietas compostas por combinações de ácidos orgânicos, probiótico e antibiótico. A prevalência de *Salmonella* nas fezes, do trato gastrointestinal foi afetada pelo uso de ácidos ou probiótico na água, provavelmente devido ao tempo curto de 14 dias de ingestão. No entanto, para WANG et al. (2009), a presença de *Salmonella* não foi afetada por ácidos orgânicos, porém foi observada redução no número de *E. coli* nas fezes coletadas no reto de leitões desmamados e em fase de crescimento que receberam dieta com ácido orgânico.

3.3 pH das rações e do conteúdo dos órgãos digestivos

Os valores de pH encontrados (Tabela 4) não demonstram diferença significativa ($P>0,10$). Pode-se afirmar que as dietas com presença de ácido butírico, ácido benzóico ou até mesmo a inclusão destes dois ácidos, não interferiram na acidez dos conteúdos do trato digestório dos leitões aos 25 kg de peso médio. Esses resultados podem ser justificados pelo tempo de retirada das dietas dos animais até o momento de avaliação do pH. O tempo de espera dos animais até a o momento do abate variou muito de leitão para leitão. Alguns animais apresentaram grande quantidade de alimento no trato digestório, enquanto outros, por terem aguardado um período mais longo, tiveram o processo digestivo mais adiantado e, conseqüentemente, apresentaram menor quantidade de conteúdo.

Tabela 4 - Valores médios do pH das rações (R), dos conteúdos do estômago (E), duodeno (D), jejuno (J) íleo (I) ceco (Ce) e cólon (Co) de leitões abatidos aos 25 kg de peso

Tratamentos	R	E	D	J	I	Ce	Co
Controle	6,0	3,4	5,9	6,1	6,1	5,8	6,0
Pd red.	5,8	2,8	5,4	6,4	6,4	6,0	6,2
Pd red.+FYT	6,0	3,0	5,7	6,1	6,1	5,7	5,9
Pd red.+FYT+BU	6,0	3,8	6,4	6,4	6,3	5,9	6,0
Pd red.+FYT+BE	5,5	3,7	6,3	6,4	6,2	5,7	5,9
Pd red.+FYT+BU+BE	5,5	3,8	6,1	6,5	6,1	6,0	6,1
Valores de P	-	0,3733	0,3472	0,5695	0,7377	0,4229	0,5334
CV (%)	-	25,93	12,80	7,08	7,2	5,03	4,58

De acordo com MARTINS et al. (2006), o pH do estômago de suínos varia de aproximadamente 4,20 para animais de 10 dias a 2,80 para animais de 60 dias e o tempo de contato do alimento com as condições de acidez é,

geralmente, em torno de 2 a 3 horas. CANIBE et al. (2005) confirmaram que o efeito do pH no TGI é afetado pelo tempo de abate após a alimentação.

Nesse estudo foi utilizado fosfato bicálcico e calcário como fontes de cálcio e fósforo; e que o pH das dietas apresentaram proximidade com os observados por KONEGAY et al. (1994), os quais afirmaram que dietas a base de milho e farelo de soja que utilizam fosfato ou fosfato bicálcico desfluorado como fonte de fósforo e calcário como fonte de cálcio, normalmente têm acidez de pH 5,8-6,4.

Os resultados desse estudo estão em conformidade com os dados encontrados por GOMES et al. (2011), os quais observaram que a adição de ácidos fumárico, láctico e propionato de cálcio ou suas combinações não influenciaram o pH do estômago e do duodeno de leitões aos 38 dias de idade.

Apesar dos estudos mostrarem que os ácidos orgânicos possuem melhor ação na redução do pH da parte inferior do trato gastrointestinal, não foram encontrados efeitos similares neste estudo. Os pesquisadores WANG et al. (2009) afirmaram que o pH fecal de suínos difere porque os ácidos alimentares podem funcionar na parte superior do trato gastrointestinal, e não na parte inferior. No entanto, não foi obtido resultados significativos ($P > 0,05$) para avaliação do pH dos conteúdos do ceco e colo dos leitões avaliados neste ensaio experimental.

No entanto, WALSH et al. (2007) ao estudar leitões desmamados alimentados com dietas com ácido láctico, observaram menor pH fecal aos seis dias pós-desmame em relação aos 33 dias de idade ao comparar com animais da mesma idade que não receberam dieta acidificada.

3.4 Histomorfometria do intestino delgado

Os estudos da avaliação histomorfométrica do duodeno, do jejuno e do íleo não mostraram diferença estatística significativa para profundidade de cripta e a relação vilo:cripta (V:C) no duodeno (Tabelas 5). Porém houve diferença ($P < 0,10$) para altura de vilosidades, sendo a maior encontrada em leitões que receberam dieta controle. A maior relação V:C foi dos animais que

receberam ácido butírico e benzóico na dieta ($P < 0,010$). Devido aos dois resultados diferentes encontrados ($P < 0,010$), o uso do ácido benzóico e butírico pode ter melhorado a mucosa intestinal dos leitões na fase inicial, pois a altura de vilosidades dos leitões que receberam esse tratamento foi igual à altura de vilosidades dos animais que ingeriram ração controle. Infere-se que o ácido benzóico foi favorável à histomorfometria por ter melhorado a relação V:C.

Os resultados dessa pesquisa estão de acordo com os estudos de GHELIER et al. (2009) que ao avaliarem leitões aos 70 dias de idade alimentados com ácido benzóico, observaram que as características histológicas, como altura de vilosidade e profundidade de criptas foram melhores para os animais alimentados com ácido benzóico. No entanto, a relação V:C não foi estatisticamente influenciada pelo uso de ácido benzóico.

Tabela 5 – Análise histomorfométrica do duodeno de leitões abatidos aos 25 kg de peso

Tratamentos	Duodeno		
	AV*	PC	AV:PC*
Controle	1.211,50a	537,82	2,59b
Pd red.	704,55b	562,03	1,80b
Pd red.+FYT	786,10b	445,67	4,00b
Pd red.+FYT+BU	819,78b	516,68	3,53b
Pd red.+FYT+BE	778,99ab	604,11	2,20b
Pd red.+FYT+BU+BE	1.049,60ab	415,40	6,78a
Valores de P	0,00017	0,35	0,0004
CV (%)	17,41	25,02	35,45

*Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P < 0,10$).

Na avaliação da altura de vilosidades, da profundidade de cripta e da relação V:C do jejuno e do íleo, os resultados encontrados não se diferenciam ($P > 0,010$), mostrando que a presença dos ácidos orgânicos não surtiram efeito

nestes segmentos (Tabelas 6 e 7). No entanto, TONEL (2009) ao avaliar o uso de 0,54% de ácido butírico; encontraram aumento da altura das vilosidades do duodeno de leitões abatidos aos 28,3 kg. Porém, GOMES et al. (2011) observaram que a adição de ácidos fumárico, láctico e propionato de cálcio ou suas combinações não influenciaram a morfometria do intestino delgado de leitões aos 38 dias de idade.

Tabela 6 - Análise histomorfométrica do jejuno de leitões abatidos aos 25 kg de peso

Tratamentos	Jejuno		
	AV	PC	AV:PC
Controle	719,93	593,32	120
Pd red.	825,43	488,26	1,80
Pd red.+FYT	851,13	453,27	2,00
Pd red.+FYT+BU	804,95	495,82	1,40
Pd red.+FYT+BE	744,31	498,92	1,40
Pd red.+FYT+BU+BE	717,44	509,30	1,80
Valores de P	0,19	0,75	0,34
CV (%)	7,84	3,52	2,54

Achados de BIAGI, et al. (2006) para avaliar a morfometria do jejuno, íleo e ceco de leitões, seis semanas após o desmame, que receberam ácido glucônico na dieta, corroboram com os resultados encontrados nessa pesquisa, ou seja, não houveram efeitos significativos para jejuno e íleo.

Tabela 7 - Análise histomorfométrica do íleo de leitões abatidos aos 25 kg de peso

Tratamentos	Íleo		
	AV	PC	AV:PC
Controle	709,86	450,27	2,40
Pd red.	686,14	467,98	1,40
Pd red.+FYT	869,95	367,02	2,20
Pd red.+FYT+BU	809,03	528,76	1,61
Pd red.+FYT+BE	888,49	281,29	3,60
Pd red.+FYT+BU+BE	773,42	367,53	2,20
Valores de P	0,47	0,14	0,30
CV (%)	4,20	2,93	1,54

Nas pesquisas de GOMES et al. (2007) foram encontrados maior altura do epitélio do duodeno em relação ao jejuno e íleo de leitões abatidos aos 36 dias alimentados com dietas compostas por ácido fumárico, butírico, fórmico e a combinação entre eles. A associação de ácido fumárico aos ácidos butírico e fórmico causou prejuízos na altura do duodeno de leitões nas primeiras três semanas pós-desmame, pois foi constatada redução da altura das vilosidades devido ao *turnover*, renovação celular nas células do intestino para garantir manutenção da espessura do epitélio e capacidade digestiva e absorptiva. Segundo os autores, quando ocorre desequilíbrio no *turnover*, devido à presença de agentes microbianos, ocorrerá alteração na altura das vilosidades.

3.5 Avaliação da resistência óssea

Nota-se que para a resistência dos ossos crus dos leitões alimentados com dietas compostas por fósforo disponível reduzido a 0,15%, suportaram menor força de Newton ($P < 0,10$), conferindo menor resistência óssea nesses animais ao compará-los com os ossos dos leitões que

receberam dieta controle, aos que receberam dieta com ácido butírico e também àqueles que receberam dieta com ácido benzóico (Tabela 8).

Tabela 8 – Avaliação da resistência óssea dos metacarpos crus e pré-cozidos de leitões abatidos aos 25 kg de peso

Tratamentos	Ossos crú	Ossos pré-cozidos
	Força Newton (N) ¹	Força Newton (N)
Controle	609,18a	552,96
Pd red.	485,56b	501,17
Pd red.+FYT	588,16ab	551,42
Pd red.+FYT+BU	640,06a	581,27
Pd red.+FYT+BE	619,08a	605,84
Pd red.+FYT+BU+BE	570,13ab	639,95
Valores de P	0,01	0,34
CV (%)	10,35	5,83

¹ Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna e na mesma linha diferem entre si pelo Teste de Tukey (P<0,10).

Possivelmente, os ossos dos animais que receberam dieta com fósforo disponível reduzido tiveram menor resistência porque o nível de cálcio e fósforo disponibilizados nas fases pré-inicial e inicial não foram suficientes para suprir as necessidades mínimas para a deposição nos ossos. Contudo, o cálcio e o fósforo orgânico não foram disponibilizados porque a dieta não continha fitase para compensar o déficit desses minerais.

Essa avaliação significa que a combinação de fitase e ácido butírico; e fitase com ácido benzóico proporcionaram melhoria na resistência óssea (P<0,10), ao comparar com a resistência óssea dos animais que receberam dieta com a redução do fósforo inorgânico. Estes resultados não estão de acordo com os encontrados por AROUCA (2008) em que a maior resistência óssea à quebra no 3º metacarpo de leitões com média de 15 kg foi quando o nível de fósforo disponível foi de 0,57%. Enquanto nessa pesquisa, os animais avaliados apresentavam média de 25 kg e receberam 0,38% de fósforo disponível na fase inicial. Pode-se afirmar que apesar do nível de fósforo disponível ter sido abaixo do nível recomendado por AROUCA (2008), a

presença dos ácidos butírico e benzóico separadamente melhoraram a resistência óssea dos animais.

Quanto à avaliação dos ossos pré-cozidos não houve diferença estatística para os resultados encontrados. Infere-se que a temperatura na qual os ossos foram submetidos, 100°C, pode ter desencadeado equivalência na resistência óssea, não apresentando assim diferença entre os mesmos ($P < 0,10$).

A resistência dos ossos metacarpianos foi verificada por COLUMBUS et al. (2010) ao avaliarem fitase em dietas líquidas com milho de alta umidade para leitões desmamados e abatidos após sete semanas. As dietas foram líquidas e deficientes em fósforo com 62,5 ou 125 unidades de fitase (FTU) / kg de MAH. A disponibilidade, a utilização e a resistência à ruptura nos metacarpos de leitões na fase inicial foram melhoradas com a adição de 62,5 ou 125 FTU / kg de fitase. Os autores afirmaram que o maior nível de P dietético disponível é necessário para o máximo desenvolvimento do esqueleto. JONES et al. (2010) também estão de acordo com esta afirmação, pois afirmam que as respostas de características ósseas e o desempenho de crescimento é melhor com concentrações crescentes de P disponível.

Nessa pesquisa, as dietas foram formuladas para disponibilizar 0,41% na fase pré-inicial e 0,38% na fase inicial conforme ROSTAGNO et al. (2005). Enquanto COLUMBUS et al. (2010) adotaram 0,61, 0,42 e 0,40 para as respectivas fases estudadas. Este pode ser um fator que contribuiu com a redução da resistência óssea, pois o nível ingerido pelos animais na fase inicial foi abaixo dos níveis adotados por COLUMBUS et al. (2010).

Outro fator muito importante relacionado ao aproveitamento do fósforo é o nível de fósforo disponibilizado pela fitase. Foi constatado no presente estudo que a atividade da fitase estava comprometida para disponibilizar o nível de fósforo apresentado na garantia do produto, ou seja, 1000 FYT/Kg. O teste realizado pelo fabricante para verificação apontou média de 532 FYT/Kg. Em acordo com esses resultados, AUGSPURGER et al. (2004), JENDZA et al. (2006) e KERR et al. (2010) e mostraram que a taxa de liberação de fósforo pela ação da fitase é muito menor do que o sugerido pelos

fabricantes. Nas pesquisas de JONES, et al. (2010), os valores de liberação estavam de acordo com as propostas pelos fabricantes.

3.6 Níveis de cálcio e fósforo nos ossos metacarpianos crus e pré-cozidos

O resultado do nível de cálcio nos ossos metacarpianos crus (Tabela 9) foi pior ($P < 0,05$) para os leitões que receberam dieta com fitase e ácido butírico em relação aos animais que alimentaram de ração com fósforo disponível reduzido. Pode-se inferir que a presença do ácido butírico reduziu a capacidade de absorção do cálcio nos ossos. Quanto à deposição de fósforo, os animais que apresentaram menor teor ($P < 0,10$) foram aqueles que alimentaram de ração com fitase, ácido butírico e ácido benzóico, ao compará-los com os leitões que consumiram ácido butírico. Esse resultado mostra que a presença dos dois ácidos dificultou a deposição de fósforo nos ossos.

Quanto à avaliação dos níveis de cálcio e de fósforo nos ossos que passaram por cozimento, não foi registrada diferença estatística significativa alguma no período avaliado.

Tabela 9 – Níveis de cálcio (Ca) e fósforo (P) nos ossos metacarpianos crus e pré-cozidos de leitões abatidos aos 25 kg de peso

Tratamentos	Ossos crus		Ossos pré-cozidos	
	Ca (%) ¹	P (%) ¹	Ca (%)	P (%)
Controle	14,38 ab	7,17 ab	16,51	7,51
Pd red.	18,24 a	8,10 ab	18,83	8,99
Pd red.+FYT	16,07 ab	8,37 ab	15,90	7,50
Pd red.+FYT+BU	8,57 b	8,48 a	15,82	8,16
Pd red.+FYT+BE	14,79 ab	8,48 ab	15,18	8,27
Pd red.+FYT+BU+BE	15,45 ab	5,43 b	14,00	6,87
Valores de P	0,02	0,02	0,42	0,19
CV (%)	3,70	4,94	4,56	6,16

¹ Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna e na mesma linha diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P < 0,10$).

A acidez causada pela dissociação do ácido butírico implicou em menor aproveitamento do cálcio e fósforo nos ossos crus, mesmo com a adição de fitase nas dietas. De acordo com HALM et al. (2004) alterações do pH têm várias implicações fisiológicas no organismo do animal, comprometendo a atividade celular ao influenciarem as funções metabólicas essenciais (SILVA, 2004) a síntese de DNA e RNA e a multiplicação celular.

VIEIRA et al. (1995) afirmaram que o pH é uma função logarítmica e que mudanças aparentemente pequenas de pH, correspondem a variações grandes da concentração de H^+ . Sendo assim, a variação do pH em 0,3 unidade, a concentração de H^+ torna-se duas vezes maior. No entanto, se houver variação de 3,0, a concentração será mil vezes maior.

A 6-fitase apresenta atividade em pH 5,2 e temperatura de 45°C a 60°C, enquanto a 3-fitase, produzida por uma cepa de *Aspergillus niger* apresenta dois pH(s) ótimos (2,5 e 5,5) e temperatura variando de 35°C a 63°C, sendo mais efetiva (KIES, 1996). Como o pH das dietas no presente estudo variou de 5,5 a 6,0, acredita-se que níveis acima do pH ótimo pode ter influenciado na absorção de cálcio e fósforo nos ossos, em que o menor percentual de cálcio nos ossos ($P < 0,10$) foi para animais que receberam dieta com ácido butírico, em que o pH foi 6,0. Para a avaliação de fósforo nos ossos o menor valor ($P < 0,10$) foi obtido para os leitões que receberam dieta composta pelos dois ácidos, na qual o pH foi 5,4.

Os resultados desse estudo confirmam a importância do Ca e do P para leitões desmamados. O nível de aproveitamento desses minerais pode implicar até mesmo nas fases subsequentes dos animais. OLIVEIRA et al. (2010) avaliaram a retirada do suplemento micromineral-vitamínico, a redução gradativa de fósforo inorgânico em dietas com fitase para leitões em fase de crescimento e terminação observaram que a fitase favoreceu a absorção de fósforo nos ossos ao fazer a retirada de 100% do fósforo inorgânico.

De acordo com LOPES (2001), para manter a homeostase há aumento da reabsorção de P dos ossos e tecidos moles à medida que diminui a quantidade de P absorvida. Por isso, é importante ressaltar conforme LÉTOURNEAU-MONTMINY et al. (2010), que a redução da relação Ca:P

acrescida de fitase para leitões desmamados causa deficiência na mineralização óssea.

AUGSPURGER et al. (2003) avaliaram cinzas na fíbula de leitões desmamados para comparar a eficácia de duas enzimas comerciais produzidas a partir do *Aspergillus niger* (3-fitase) e outra a partir do *Peniophora lycii* (6-fitase) com uma experimental derivada de *E. coli* (6-fitase) obtida a partir do intestino do suíno. Os animais receberam 400 FTU/kg nas dietas contendo 0,60% Ca. A presença de cinzas na fíbula foi maior para leitões que receberam fitase experimental. Resultados diferentes foram obtidos por JONES et al (2010) ao compararem duas fitases comerciais com uma experimental produzida a partir de *E. coli* em leitões na fase inicial encontraram resposta linear positiva para avaliação da relação Ca:P e cinzas nos ossos para todas as fitases testadas.

De acordo com SILVA et al. (2005) a utilização de rações com níveis mais baixos de fósforo não afeta a deposição de minerais no osso quando estas são suplementadas com fitase. Assim, é possível substituir parte da suplementação inorgânica de fósforo pela suplementação com enzima, sem afetar a mineralização.

4 CONCLUSÃO

O uso de 1.000 FYT/kg associada a 0,30% de ácido butírico e 0,75% de ácido benzóico na ração não afetou a frequência de diarreia nas fases pré-inicial e inicial; não influenciou a contagem de *E. coli* no duodeno e não afetou o pH do estômago, duodeno, jejuno, íleo, ceco e cólon de leitões abatidos aos 25 kg.

A presença dos ácidos butírico e benzóico na dieta dos leitões aos 25 kg mostraram favoráveis à saúde intestinal por terem melhorado a relação vilo:cripta do duodeno.

O uso de 1.000 FYT/kg associada a 0,30% de ácido butírico e 0,75% de ácido benzóico na ração contribuiu com a resistência óssea dos leitões aos 25 kg de peso vivo, apesar de não terem favorecido a deposição de cálcio e fósforo.

5 REFERÊNCIAS

1. AROUCA, C. L. C. **Exigências de fósforo disponível para suínos selecionados geneticamente para deposição de carne em diferentes fases de crescimento dos 15 aos 120 kg.** 2008. Tese. (Escola de Veterinária). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte – Minas Gerais.
2. AUGSPURGER, N. R.; WEBEL, D. M.; LEI, X. G.; BAKER, D. H. Efficacy of an *E. coli* phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. **Journal of Animal Science**, v. 81, p.474-483, 2003.
3. AUGSPURGER, N. R.; SPENCER, J. D.; WEBEL, D. M.; BAKER, D. H. Pharmacological zinc levels reduce the phosphorus-releasing efficacy of phytase in young pigs and chickens. **Journal of Animal Science**, v. 2, p.1732-1739, 2004.
4. BARCELOS, D.; SOBESTIANSKY, J. **Uso de antimicrobianos em suinocultura.** Goiânia: UFG, 1ª ed, 1998, 107 p.
5. BIAGI, G.; PIVA, A.; MOSCHINI, M.; VEZZALI, E. Effect of gluconic acid on piglet growth performance, intestinal microflora, and intestinal wall morphology. **Journal of Animal Science**, v.84, p.370-378, 2006.
6. BLANCHARD, P. Less buffering, more enzymes and organic acids. [S.l.]: **Feed Mix**, 2000.
7. BRASIL 2003. **Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.** Portaria número 62 de 26 de agosto de 2003, Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária, Brasília.
8. CANIBE, N.; HOJBERG, O.; HOJSGAARD, S.; JENSEN, B. B. Feed physical form and formic acid addition to the feed affect the gastrointestinal ecology and growth performance of growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 1287-1302, 2005.
9. CANTELI, T. R. **Diferentes alternativas no controle da diarreia pós-desmame em leitões.** 2010. Dissertação. (Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos). Universidade de São Paulo. Pirassununga – São Paulo.

10. CRENSHAW, T.D. Calcium, phosphorus, vitamin D, and vitamin K in swine nutrition. In: LEWIS, A.J.; SOUTHERN, L.L. (Eds.) **Swine nutrition**. Florida: CRC Press, 2001. p.187-212.
11. COSTA, L. B.; BERENCHTEIN, B.; ALMEIDA, V. V.; TSE, M. L. P.; BRAZ, D. B.; ANDRADE, C.; MOURÃO, G. B.; MIYADA, V. S. Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como promotores de crescimento de leitões desmamados. **Archivos de Zootecnia**, v.60 n.231, p.687-698. 2011.
12. COLUMBUS, D.; NIVEN, S. J.; ZHU, C. L.; LANGE, C. F. M. de. **Phosphorus** utilization in starter pigs fed high-moisture corn-based liquid diets steeped with phytase. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 3964–3976, 2010.
13. CRISTANI, J. **Acidificantes e probióticos na alimentação de leitões recém desmamados**. 2008. Tese. (Doutorado em Zootecnia - Produção Animal). Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho. Jaboticabal – São Paulo. 70p.
14. DIBNER, J. J.; BUTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal of Applied Powtry Research**, v. 11, n. 4, p. 453 – 463, 2002.
15. FREITAS, L. S. de; LOPES, D. C.; FREITAS, A. F. de; COSTA, CARNEIRO, J. da C.; CORASSA, A.; PENA, S. de M.; COSTA, L. F. Avaliação de ácidos orgânicos em dietas para leitões de 21 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1711-1719, 2006.
16. GHELER, T. R.; ARAÚJO, L. F.; SILVA, C. C.; GOMES, G. A.; PRATA, M. F.; GOMIDE, C. A. Uso de ácido benzóico na dieta de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p.2182-2187, 2009.
17. GIESTING, D. W.; EASTER, R. A. Response of starter pigs to supplementation of corn-soybean meal diets With organic acids. **Journal of Animal Science**, v.60, n.5, p.1288-1294, 1985.
18. GOMES, F. E.; FONTES, D. O.; SALIBA, E. O. S.; FERREIRA, W. M.; FIALHO, E. T.; SILVA, F. C. O.; SILVA, M. A.; CORRÊA, G. S. S.; SALUM, G. M. Ácido fumárico e sua combinação com os ácidos butírico ou fórmico em dietas de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.59, n.5, p.1270-1277, 2007.

19. GOMES, F. E.; FONTES, D. O.; VASCONCELLOS, C. H. F.; SILVA, F. C. O. Ácido fumárico e sua combinação com os ácidos butírico ou fórmico em dietas de leitões recém-desmamados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.3, p. 678-686, 2011.
20. IMAGE - PRO PLUS 1.3.2. **The Proven Solution for Image Analysis**. Reference Guide, 1994.
21. HALM, M.; HORNBAEK, T.; ARNEBORG, N. et al. Lactic acid tolerance determined by measurement of intracellular pH of single cells of *Candida krusei* and *Saccharomyces cerevisiae* isolated from fermented maize dough. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, n.1, p.97-103, 2004.
22. JENDZA, J. A.; DILGER, R. N.; SANDS, J. S.; ADEOLA, O. Efficacy and equivalency of an *Escherichia coli*-derived phytase for replacing inorganic phosphorus in the diets of broiler chickens and young pigs. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 3364-3374. 2006.
23. JONES, C. K.; TOKACH, M. D.; DRITZ, S. S.; RATLIFF, B. W.; HOM, N. L.; GOODBAND, R. D.; DeROUCHEY, J. M.; SULABO, R. C.; NELSEN, J. L. Efficacy of different commercial phytase enzymes and development of an available phosphorus release curve for *Escherichia coli*-derived phytases in nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 88, p.3631-3644. 2010.
24. KERR, B. J.; WEBER, T. E.; MILLER, P. S.; SOUTHERN, L. L. Effect of phytase on apparent total tract digestibility of phosphorus in corn-soybean meal diets fed to finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 238-247. 2010.
25. KELLY, D., SMITH, J.A., McCRAKEN, K.J. Digestive development of the early-weaned pig. 2. Effect of continuous nutrient supply on the development of the digestive tract and on changes in digestive enzyme activity during the first week post-weaning. **British Journal of Nutrition**, v.5, n.2, p.169-180, 1991.
26. KIES, K. Phytase – Mode of action. In: COELHO, M. B.; KORNEGAY, E. T. **Phytase in Animal Nutrition and Waste Management**. Mount Olive, NJ: BASF Corporation, p. 205-212. 1996.

27. KORNEGAY, E.T.; EVANS, J. L.; RAVINDRAN V. Effects of diet and protein level or source of calcium on the performance, gastrointestinal content measurements, bone measurements and carcass composition of gilts and barrow weaning pigs. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2670-2680, 1994.
28. KRYGIEROWICZ, E. C. **Taxa linear de tamponamento como estimadora de efeitos nutricionais da acidificação da dieta para leitões**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias – Setor de Ciências Agrárias). Universidade Federal do Paraná, Paraná – Curitiba.
29. LEHNINGER, A.L., NELSON, D.L., COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. 3ª Ed., São Paulo: Editora Sarvier, 2002. 975p.
30. LÉTOURNEAU-MONTMINY, M. P.; NARCY, A.; MAGNIN, M.; SAUVANT, D.; BERNIER, J. F.; POMAR, C. Effect of reduced dietary calcium concentration and phytase supplementation on Calcium and phosphorus utilization in weanling pigs with modified mineral status. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 1706-1717. 2010.
31. LOPES, J. B.; VITTI, D. M. S. S.; ABDALLA, A. L.; HADDAD, M. L.; FIGUEIREDO, A. V.; MORAES, R. C. B. Modelo do fluxo biológico do fósforo de fontes de fosfato em suínos, usando o ³²P como marcador. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 1, p.165-173, 2001.
32. MARTINS, A. D. de O.; MENDONÇA, R. C. S.; SILVA, D. L.; RAMOS, M. S.; MARTINS, M. C.; DONZELE, J. L.; ANDRADE, N. J. de. Resistência de bactérias lácticas, isoladas de fezes de suínos e sua capacidade antagônica frente a microrganismos indicadores. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.5, n.1, p. 53-59, 2006.
33. OLIVEIRA, A. P. A. de; NUNES, R. da C.; RONER, M. N. B.; STRINGHINI, J. H.; RUFINO, L. M.; FARIAS, L. A. Desempenho e avaliação da carcaça em suínos alimentados com rações de terminação com fitase associada à retirada de microminerais, vitaminas e fósforo inorgânico. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 4, p. 775-783, 2010.

34. PAPATSIROS, V.G.; TASSIS, P.D.; TZIKA, E.D.; PAPAIOANNOU, D.S.; PETRIDOU, E.; ALEXOPOULOS, C.; KYRIAKIS, S.C. Effect of benzoic acid and combination of benzoic acid with a probiotic containing *Bacillus Cereus var. toyoi* in weaned pig nutrition . **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v.14, n. 1, p. 117-125, 2011.
35. PARTANEN, K. H.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**, v. 12, p. 117-145, 1999.
36. PROPHET, E.M.; MILLIS, B.; ARRINGTON, J.B. et al. **Laboratory methods in histotechnology**. Washington: America Registry of Pathology, 1992. 275p.
37. RAMOS, L. S. N.; LOPES, J. B.; SILVA, S. M. M. S.; SILVA, F. E. S.; RIBEIRO, M. N. Desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n.8, p.1738-174, 2011.
38. R DEVELOPMENT CORE TEAM (2010). R: A language and environment for statistical computing. [online]. R Fondation for Statistical Computing, 2010. Disponível em: [HTTP://www.R-project.org](http://www.R-project.org). Acesso em: 26 dez. 2012. Adobe PDF files.
39. SAEG - **Sistema para análises estatísticas**, versão 9.0. Viçosa: FUNARBE, 2005.
40. ROCHA, E. V. H.; LIMA, J. A. F.; FIALHO, E. T.; ZANGERONIMO, M. G.; BERTECHINI, A. G.; RODRIGUES, P. B. Utilização de ácidos orgânicos e fitase em dietas para leitões na creche. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.3, p.719-724, 2008.
41. SANDS, J.S.; RAGLAND, D.; DILGER, R.N.; ADEOLA, O. Responses of pigs to *Aspergillus niger* phytase supplementation of low-protein or high-phytin diets. **Journal Animal Science**, v.87, p. 2581-2589, 2009.
42. SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 56p.
43. SAS - **Statistical analysis system**: Release 9.1.3, (software). Cary: Sas Institute, 2008. 620p.

44. SELLE, P.H.; RAVINDRAN, R.A.; CALDWELL, R.A.; BRYDEN, W.L. Phytate and phytase: consequences for protein utilization. **Nutrition Research Reviews**, v. 13, p. 255-248, 2000.
45. SILVA, H. O.; FIALHO, E. T.; LIMA, J. A. F.; SOUSA, R. V. de; SCHOULTEN, N.; SILVA, L. F. Efeito da fitase sobre a excreção e teor de minerais nos ossos de suínos na fase de crescimento. **Agropecuária Técnica**, v.26, n.1, p. 54-59, 2005.
46. SILVA, G.F. **Digestibilidade ileal de aminoácidos de soja micronizada e de farelo de soja para suínos e avaliação de acidificantes em dietas para leitões**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 96p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa.
47. SOBESTIANSKY, J. & BARCELLOS, D.E.S.N. Monitoramentos clínicos. In: **Doenças dos Suínos**. Ed. SOBESTIANSKY, J. & BARCELLOS. Goiânia: Cãnone Editorial, p. 723-26, 2007.
48. TONEL, I. S. P. A. **Efeito da utilização de butirato de sódio na digestibilidade, actividade fermentativa e morfologia intestinal de leitões desmamados**. 2009. 48p. Dissertação (Mestrado em Engenharia agronómica – Agro-pecuária). Instituto Superior de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa, Portugal – Lisboa.
49. TORRALLARDONA, D.; BADIOLA, J. I. BROZ, J. Efficacy of benzoic acid in the feeding of weanling pigs. **Annual Meeting of EAAP**, Uppsala, p. 5-8, 2005.
50. VIEIRA, E.C.; FIGUEIREDO, E.A.; LEITE, J.I.A. et al. **Química fisiológica**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1995.
51. ZAGATTO, E.A.G.; KRUG, F.J.; BERGAMIN FILHO, H. et al. Merzing in flow injection analysis. Part 2. Determination of calcium, magnesium and potassium in plant material by flow injection atomic and flame emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v.104, n.2, p. 279-284, 1979.
52. WANG, J. P.; YOO, J. S.; LEE, J. H.; JANG, H. D.; KIM, H. J.; SHIN, ; SEONG, S. I.; KIM, I. H. Effects of phenyllactic acid on growth performance, nutrient digestibility, microbial shedding, and blood profile in pigs. **Journal of Animal Science**, v.87, n. 10, p. 3235-3243, 2009.

53. WALSH, M. C., SHOLLY, D.M.; HINSON, R.B.; TRAPP, S.A.; SUTTON, A.L.; RADCLIFFE, J.S.; SMITH, J.W.; RICHERT, B.T.. Effects of Acid LAC and Kem-Gest acid blends on growth performance and microbial shedding in weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 459-467. 2007.
54. WALSH, M. C., ROSTAGNO, M. H., GARDINER, G. E., SUTTON, A. L., RICHERT, B. T., & RADCLIFFE, J. S. Controlling Salmonella infection in weanling pigs through water delivery of direct-fed microbials or organic acids: Part II. Effects on intestinal histology and active nutrient transport. **Journal of Animal Science**, v. 90, n.8, p. 2599-2608, 2012.

CAPÍTULO IV - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse estudo, a inclusão de fitase, ácido butírico e ácido benzóico, foram particularmente favoráveis ao desempenho e à saúde intestinal dos leitões. Portanto, recomenda-se o uso desses ácidos orgânicos como alternativa aos antibióticos, uma vez que a União Europeia proibiu os antibióticos como promotores do crescimento por causar risco à saúde humana.

Os efeitos do ácido benzóico mostraram mais eficazes na fase pré-inicial, pois a acidificação causada pelo uso do ácido contribuiu para melhorar estabilidade do pH do sistema digestório e, conseqüentemente, favoreceu a produção de ácido clorídrico, aumentando a liberação de enzimas proteolíticas e o tempo de retenção gástrica. Estes fenômenos contribuíram com melhor taxa de crescimento dos leitões.

A hipótese de resistência bacteriana pela ampla utilização de ácidos orgânicos pode ser considerada problema e representa desafio para futuras pesquisas.

Mais investigações são necessárias para avaliar o uso de ácido benzóico e butírico sobre o escore fecal, a presença de *E. coli* e *Salmonella*, o pH do trato digestório e a histomorfometria intestinal, uma vez que diversos fatores influenciam no modo de ação desses aditivos e que estes ainda não estão bem fundamentados.

O microencapsulamento do ácido benzóico e butírico pode ser alvo de pesquisas para novas descobertas relacionadas à saúde intestinal e ao desempenho dos animais.

Para melhor constatação quanto aos efeitos dos ácidos benzóico e butírico, é importante pesquisar também os anticorpos do soro para avaliar a imunidade dos leitões, avaliar a morfologia da mucosa intestinal e tipificar as bactérias encontradas no sistema digestório.

O mercado produtor de suínos precisa de produtos alternativos aos antibióticos em busca de melhor produtividade, menores impactos ambientais e sem risco à saúde humana. Para tanto, os resultados encontrados nesse estudo mostram a importância e os efeitos positivos do ácido benzóico associado à fitase na dieta de leitões dos 6,7 aos 25 kg de peso vivo.