

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**ACIDIFICANTES EM DIETAS DE LEITÕES DESMAMADOS:
DESEMPENHO, PESO DE ORGÃOS, pH, MORFOMETRIA E
MICROBIOTA INTESTINAL**

HENRIQUE AUGUSTO TRAVAINI GRECCO

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Zootecnia como
parte das exigências para obtenção do
título de Mestre.

Botucatu - SP
Junho – 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**ACIDIFICANTES EM DIETAS DE LEITÕES DESMAMADOS:
DESEMPENHO, PESO DE ORGÃOS, pH, MORFOMETRIA E
MICROBIOTA INTESTINAL**

HENRIQUE AUGUSTO TRAVAINI GRECCO

Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Dr. Dirlei Antônio Berto

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Alessandro Borges Amorim

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Zootecnia como
parte das exigências para obtenção do
título de Mestre

Botucatu – SP

Junho – 2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

G781a Grecco, Henrique Augusto Travaini, 1987-
Acidificantes em dietas de leitões desmamados: desempenho , peso de órgãos, ph, morfometria e microbiota intestinal / Henrique Augusto Travaini Grecco. - Botucatu : [s.n.], 2014 ix, 65 f. : il., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2014

Orientador: Dirlei Antônio Berto
Coorientador: Alessandro Borges Amorim
Inclui bibliografia

1. Suíno - Nutrição. 2. Diarreia em animais. 3. Ácidos orgânicos. 4. Leitão (Suíno) - Desmame precoce. I. Berto, Dirlei Antônio. II. Amorim, Alessandro Borges. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia IV. Título.

DEDICO...

AOS MEUS PAIS, Carlos e Marta, pela educação que me deram, por todo o sacrifício para que eu tivesse sempre o melhor, não medindo esforços para o meu crescimento pessoal e profissional.

AS MINHAS IRMÃS, Érica e Elora, pelo companheirismo, amizade e alegrias divididas.

À amiga MAYRA SALEH, pela ajuda essencial na instalação e condução do experimento e pelas preciosas dicas.

OFEREÇO...

Ao grande profissional, co-orientador e amigo, ALESSANDRO BORGES AMORIM, por toda ajuda, ensinamentos, dicas, estatística, revisão, instalação e condução do experimento, em fim, sem sua ajuda, esse trabalho não teria saído.

**NÃO SOU NADA.
NUNCA SEREI NADA.
NÃO POSSO QUERER SER NADA.
À PARTE ISSO, TENHO EM MIM TODOS OS SONHOS DO MUNDO.**
TRECHO DO POEMA TABACARIA DE FERNANDO PESSOA, SOB HETERÔNIMO DE ÁLVARO
DE CAMPOS.

**A ESPERANÇA É A ÚLTIMA QUE MORRE.
O AMOR, O ÚNICO QUE SOBREVIVE.**
H.A.T.G.

AGRADEÇO...

À DEUS em primeiro lugar, que está sempre presente na minha vida, me abençoando com saúde e disposição para trabalhar, pela família maravilhosa e amigos fiéis que me concedeu.

À Universidade Estadual Paulista UNESP – Dracena e aos professores, pela minha formação profissional e pessoal.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia UNESP – Botucatu e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, por acreditarem no meu potencial para a realização do mestrado.

À empresa Agrocerec Multimix Nutrição Animal e ao gerente nacional de suínos Edmo de Carvalho, pela oportunidade de cursar o mestrado.

Ao meu gerente Joaquim Gonçalves e aos nutricionistas Leandro Rigueira e Fabrício dos Santos, por toda a ajuda durante o curso e o período experimental.

Ao professor e orientador, Dirlei Antonio Berto, por acreditar e confiar no meu trabalho, por toda a orientação, paciência e ensinamentos durante o mestrado. Tenho muito orgulho e satisfação de ter sido seu orientado e por ter trabalhado ao seu lado!!!

À todos os professores do programa de pós-graduação, pelos conhecimentos passados nas disciplinas que cursei.

Ao gerente da Granja Paraíso, Marcelo Machado, por ceder o espaço, os animais e todo o necessário para a realização e condução do Experimento I.

À todos os funcionários da Granja Paraíso, pela ajuda quando necessária, especialmente ao encarregado Leônidas, por todo auxílio prestado.

Ao ex-gerente do Centro de Pesquisas, João Carlos, por toda a ajuda essencial para a realização do experimento e à Beatriz Traldi, “Bia”, pelas ideias e pela motivação quando as coisas não corriam bem.

Aos funcionários do Centro de Pesquisas, principalmente ao encarregado da fábrica de rações, José Divino, o “seu Zé” e ao Gabriel e aos funcionários “Doidão”, “Shaolin” e Carlos, pela ajuda nas pesagens dos animais.

Ao amigo e companheiro de empresa, Gustavo de Souza, pelo companheirismo em Patrocínio e ajuda durante o experimento.

Aos funcionários do setor de suinocultura da fazenda Lageado, Franco, Adriano, Marcão e ao Paulinho, pelo auxílio no experimento, especialmente nos abates.

Aos funcionários do setor de pós-graduação (Seila Cristina Cassineli e Carlos Pazini) e do Departamento de Produção Animal (Renato), pelos auxílios prestados.

Aos novos amigos da REPÚBLICA DOMINA&CAMA, Cássio (XEM), Murilo (SERV), Augusto (T.G), Luiz Henrique (BRANK), Thiago (PARÁ), Guilherme (SMEAGOL), Luan (PARANGOLE), Carlos (PARAPHUZO), Lucas (SKELETO), Paulo (TUFÃO), Filipe (GUED´S), Gabriel (MOURÃO), Lucas (GOIANO) e a nossa cadela, AMARULA, por toda a amizade, risadas, churrascos, festas, apoio e por me acolherem na república durante o período de mestrado.

Aos novos amigos que fiz na UNESP – Botucatu. Meus agradecimentos pela amizade, risadas, churrascos, festas e afins.

À todas as pessoas que de alguma forma ajudaram nesse período.

E por último, mas não menos importante, aos GRANDES e ETERNOS AMIGOS, GUILHERME EMYGDIO MENDES PIMENTA e ERIKELLY ALINE RIBEIRO de SANTANA, pelos 9 anos de amizade, companheirismo, divisão de alegrias e tristezas. Com certeza, esse período em Botucatu foi muito melhor e mais gostoso na companhia de vocês. E se depender de mim, essa amizade será para sempre. Vocês terão que me aturar por muito tempo!!!

Meus sinceros agradecimentos!!!

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO I – Considerações Iniciais	1
1. Introdução	2
2. Revisão de literatura	4
2.1. Consequências do desmame	4
2.2. Alterações intestinais no desmame	6
2.3. Ácidos orgânicos de cadeia curta e seus sais	7
2.4. Ácido fórmico (CH ₂ O ₂) e seus sais	10
2.5. Ácido láctico (C ₃ H ₆ O ₃) e seus sais.....	11
2.6. Ácido fumárico (C ₄ H ₄ O ₄).....	12
2.7. Ácidos graxos de cadeia média	13
3. Justificativas e objetivos.....	14
4. Referências Bibliográficas.....	15
CAPÍTULO II – Adição de acidificantes em dietas de leitões desmamados: Desempenho, peso de órgãos, pH, morfometria e microbiota intestinal	28
1. Resumo.....	29
2. Abstract.....	30
3. Introdução	31
4. Material e Métodos	33
5. Resultados e Discussão	39
6. Conclusões	47
7. Referências Bibliográficas	47
CAPÍTULO III	64
IMPLICAÇÕES	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações Pré- Iniciais I, fornecidas aos leitões dos 21 aos 35 dias de idade	57
Tabela 2. Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações Pré- Iniciais II, fornecidas aos leitões dos 36 aos 49 dias de idade	58
Tabela 3. Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações Iniciais, fornecidas aos leitões dos 50 aos 62 dias de idade	59
Tabela 4. Valores médios de pH das rações Pré-Inicial I (PI), Pré-Inicial II (PII) e Inicial I (I) utilizadas no experimento 1	60
Tabela 5. Médias de consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) e de incidência de diarreia (ID) dos leitões dos 21 aos 35, 21 aos 49 e dos 21 aos 62 dias de idade.....	60
Tabela 6. Médias de pH dos conteúdos do estômago (E), jejuno (J), íleo (I), cólon (C) e reto (R) dos leitões	61
Tabela 7. Média do peso relativo (%) do estômago (E), intestino delgado (ID), intestino grosso (IG), ceco (C), fígado (F), pâncreas (P), baço (B) e rins (R) em relação ao peso vazio dos leitões	61
Tabela 8. Médias da altura de vilosidades (AV), largura de vilosidades (LV), profundidade de criptas (PC), relação AV:PC e área de absorção (AA) do duodeno dos leitões	62
Tabela 9. Médias da altura de vilosidades (AV), largura de vilosidades (LV), profundidade de criptas (PC), relação AV:PC e área de absorção (AA) do jejuno dos leitões	62
Tabela 10. Médias da contagem do número de unidade formadora de colônias (log ₁₀ /g) de coliformes totais (CT), <i>Escherichia coli</i> (EC) e de <i>Lactobacillus</i> (L) no ceco dos leitões	63

CAPÍTULO I
CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Introdução

A carne suína é a fonte de proteína animal mais produzida e consumida em todo mundo. No ano de 2013, segundo dados do Departamento de Agricultura dos EUA (USDA), publicados pela Abipecs (2013), a produção foi de 107.514 mil toneladas em equivalente carcaça e a cada ano a produção cresce. China, União Europeia, Estados Unidos, Brasil e Rússia são os cinco maiores produtores. Ao se tratar de consumo, o Brasil situa-se em 5º lugar, atrás da Rússia. Apesar de o Brasil ser o quinto maior consumidor, o consumo per capita ainda é pequeno frente aos outros países grandes produtores. Em 2013, esse consumo foi de 15,6 kg/habitante, bem abaixo da China, por exemplo, que fechou o mesmo ano com consumo de 37,3 kg/habitante (Abipecs, 2013).

Um dos fatores que contribui para o baixo consumo são os mitos ao redor da carne e do animal, que trata essa proteína como maléfica a saúde, com alto teor de gordura, com risco de o consumidor adquirir cisticercose ao ingeri-la, além da formação da imagem de que o suíno é um animal sujo. Devido a esse fator e ao baixo consumo, a Associação Brasileira dos Criadores de Suínos (ABCS), está desenvolvendo o Projeto Nacional de Desenvolvimento da Suinocultura (PNDS), com a missão de derrubar os mitos que envolvem a carne suína, investindo em marketing, cortes especializados, treinamento e palestras para funcionários de frigoríficos, visando o aumento do consumo per capita. A meta é chegar ao consumo de 18 kg/habitante até 2015 (ABCS, 2013).

Nos dias atuais, os consumidores estão cada vez mais exigentes em relação ao que consomem, preocupando-se não apenas com o preço, mas também com a procedência, bem-estar animal e a segurança alimentar. Essa realidade tem resultado em mudanças no setor suinícola, pois os produtores, aos poucos, vêm se adequando a esse novo cenário, passando a oferecer aos consumidores produtos com maior qualidade.

Além da busca pela qualidade, também existe grande preocupação dos criadores quanto a otimização e redução dos custos de produção dos suínos e da necessidade de se aumentar a produtividade. Sabe-se que o custo de produção, com alimentação, em granjas de ciclo completo, pode representar até 80% dos gastos totais (CONAB, 2012), levando os produtores a buscarem alternativas viáveis, que sejam benéficas a melhoria da relação custo:benefício na nutrição dos suínos.

O desmame é um dos períodos mais críticos na vida dos suínos, pois os animais são submetidos a várias fontes de estresse, dentre elas a quebra do vínculo materno-filial, mistura de lotes e a mudança na alimentação, que de líquida, normalmente, passa a ser sólida, acarretando comprometimento no desempenho dos leitões.

No desmame, o sistema digestório dos leitões ainda não está adaptado a realizar a digestão da dieta sólida constituída principalmente por alimentos de origem vegetal (SMINK, 2003). Diversos fatores contribuem para tanto, sendo um dos principais o valor do pH do conteúdo estomacal, que nessa fase encontra-se elevado, impedindo a ativação das enzimas proteolíticas (LINDEMAN, 1986), prejudicando o desempenho do leitão no pós-desmame e podendo aumentar a proliferação de microrganismos patogênicos no trato gastrointestinal, ocasionando diarreias e mortalidades dos leitões (TSILOYIANNIS et al., 2001).

Os problemas do pós-desmame na suinocultura, como má digestão e absorção dos ingredientes da dieta, incidência de diarreia e baixo desempenho são contornados via inclusão dos antibióticos melhoradores de desempenho às rações. O uso desses produtos propicia melhor saúde e aumento da produção dos leitões (MIGUEL et al., 2011), porém estes medicamentos vêm sofrendo restrição da utilização na alimentação de aves e suínos (MROZ, 2003). Desde 2006 foram proibidos na União Européia (BRUGALLI, 2003), principalmente devido o risco do desenvolvimento de resistência bacteriana e a resistência cruzada entre patógenos animais e humanos (OVERLAND et al., 2000; MENTEN, 2001).

Atualmente, o mercado consumidor demanda produtos livres de antibióticos, e uma das formas de reduzir o seu uso nas rações de leitões é buscar outros tipos de aditivos, com efeito positivo na criação, como os ácidos orgânicos e seus sais (MROZ, 2005). Os acidificantes atuam na redução do pH estomacal, favorecendo o processo de digestão e no controle da população de microrganismos, como *Escherichia coli* e *Salmonella spp.* (GEDEK et al., 1992; PARTANEN & MROZ, 1999). Também apresentam resultados positivos no desempenho de leitões, como melhoria no crescimento e conversão alimentar (BOLING et al., 2000; TSILOYIANNIS et al., 2001; MROZ, 2003) e em condições de estresse os acidificantes podem reduzir a taxa de mortalidade (TUNG & PETTIGREW, 2006). Além disso, esses aditivos garantem um produto final saudável, isento de resíduos, sem representar riscos à saúde do consumidor (SILVA & NÖRNBERG, 2003), dessa forma respeitando as exigências do

consumidor moderno e as crescentes demandas por segurança alimentar (GOMES et al., 2007).

2. Revisão de Literatura

2.1 – Consequências do desmame

Na tentativa de aumentar a produção, o desmame precoce é uma estratégia de manejo muito difundida na suinocultura e consiste na quebra antecipada do vínculo materno-filial, quando os leitões apresentam idade média de 21 a 28 dias, com a consequente transferência dos animais da maternidade para as instalações de creche, onde serão mantidos até 63 a 70 dias de idade.

Considerando que na natureza o desmame de suínos é um comportamento natural e gradual, havendo troca lenta da alimentação líquida pela sólida, pois de acordo com Hotzel & Machado Filho (2004) esse processo se completa entre 11 e 17 semanas de vida do leitão e o desmame precoce é uma prática de manejo que contribui para o aumento do estresse pós-desmame (LEIBBRANDT et al., 1976). Contudo, permite aumentar o número de leitões produzidos por matriz por ano (BRAUDE, 1978; MOITA et al., 1994; MORÉS et al., 1998).

Nas granjas tecnificadas, o desmame, portanto, é um evento que exerce grande impacto na vida do suíno, pois expõe os leitões a várias fontes de estresse, como a separação da mãe, mudança de ambiente, mistura de lotes e, principalmente, a mudança na alimentação, que de predominantemente líquida, leite materno, passa a ser sólida, principalmente com ingredientes de origem vegetal. Essas mudanças se refletem diretamente no seu desempenho, como baixo consumo de alimento, menor taxa de crescimento e aparecimento de diarreias (BOUDRY et al., 2004; WU et al., 2004), que podem estar correlacionados com a redução da quantidade de enterócitos maduros nas vilosidades, reduzindo assim a capacidade digestiva e absorptiva do intestino (BERTOL et al., 2001).

O leitão recém-desmamado enfrenta grandes obstáculos resultantes da mudança da alimentação. Seu organismo está adaptado a digerir os constituintes do leite materno, e possui fisiologia limitada para produzir quantidades suficientes de enzimas para digestão de alimentos de origem vegetal e baixa capacidade física de ingestão de alimentos e produção de ácido clorídrico no estômago, insuficiente para ativar as enzimas proteolíticas (MOLLY, 2001). O desmame precoce, possivelmente,

pode estar relacionado ao aparecimento de comportamentos anômalos orais que são direcionados a outros leitões desmamados, causando incômodos e eventuais ferimentos nos animais que recebem essa ação (HOTZEL & MACHADO FILHO, 2004).

Nas primeiras semanas após o desmame a ocorrência de diarreias pode ser agravada, pois a baixa secreção de ácido clorídrico dificulta o controle de agentes patogênicos causadores da diarreia (BRAZ, 2007). A diarreia pode ter sua incidência intensificada quando o pH estomacal se eleva, pois favorece a proliferação de microrganismos patogênicos como a *Escherichia coli* e a *Salmonella* spp (VIOLA & VIEIRA, 2003).

A acidez estomacal tem a função de estabelecer barreira protetora no estômago contra microrganismos patogênicos e proporcionar pH adequado para ação das pepsinas. O valor de pH no estômago de leitões desmamados varia entre 3,8 e 4,3, limitando a proteólise gástrica, pois a pepsina gástrica é lentamente ativada em pH 4 e rapidamente ativada em pH 2 (WILSON & LEIBHOLZ, 1981). Além disso, o desmame provoca queda drástica na concentração de ácido láctico no estômago, devido a menor presença de lactose para os *Lactobacillus* (UTIYAMA, 2004). Animais adultos ajustam o pH gástrico por intermédio da secreção de ácido clorídrico pelas células parietais, entretanto, em leitões recém-desmamados a situação é diferente, pois esses animais apresentam pH estomacal mais elevado e mais variável em relação aos animais adultos (PUPA, 2008). Portanto, presume-se que a insuficiência digestiva e as desordens intestinais de leitões desmamados podem estar, parcialmente, relacionadas com a condição de não manterem o pH gástrico baixo e pelos efeitos que exerce sobre a ativação da pepsina, proliferação de coliformes e taxa de esvaziamento estomacal (ROSTAGNO & PUPA, 1998).

Estudos têm demonstrado os efeitos da idade, composição da dieta e época do desmame sobre o desenvolvimento da capacidade digestiva em leitões (HAMPSON & KIDDER, 1986; KITT et al., 2001). Apesar do sistema digestório dos leitões se desenvolver e suas estruturas se adaptarem à dieta, o desmame precoce exige medidas que ofereçam melhores condições de adaptação desses animais, especialmente nas duas primeiras semanas após o desmame. Durante essa fase é comum à utilização de ingredientes mais digestíveis, como produtos lácteos, além de alimentos processados.

Associado à melhoria do valor biológico da dieta, o aumento da inclusão de produtos lácteos pode favorecer a concentração dos nutrientes e a expressão do

potencial genético do animal (TRINDADE NETO et al., 2002). No entanto, segundo Utiyama (2004), por mais digestíveis e complexas que sejam as dietas, os leitões recém-desmamados não conseguem suprir suas exigências nutricionais, pois o seu consumo de ração, logo após o desmame, é relativamente baixo.

2.2. Alterações intestinais no desmame

Nos suínos, o intestino delgado é o principal local de digestão dos alimentos. A mucosa da parede do intestino delgado é revestida por uma série de projeções, as vilosidades, que por sua vez são constituídas por uma camada de tecido epitelial, onde predominam os enterócitos. O desenvolvimento dos enterócitos se dá durante sua migração da cripta para o ápice das vilosidades e a sua renovação leva de 3 a 4 dias (MOON, 1971).

Uni et al. (1998) atribuíram o desenvolvimento da mucosa intestinal a dois fatores: (I), renovação celular, caracterizada por proliferação e diferenciação, resultante das divisões mitóticas sofridas por células totipotentes localizadas na cripta; (II), perdas por descamação, que ocorrem naturalmente no ápice das vilosidades. De acordo com Macari (1998) e Sanches (2004) a área de absorção de nutrientes depende do tamanho das vilosidades, que está diretamente relacionado ao número de células que as compõem.

As alterações histológicas que ocorrem no intestino delgado como consequência do desmame são a atrofia das vilosidades e hiperplasia das criptas (CERA et al., 1988; COSTA et al., 2011), resultando na diminuição da capacidade digestiva e absorptiva do órgão (McCRACKEN et al., 1999), contribuindo para a ocorrência da diarreia pós-desmame. Molly (2001) observou reduções de até 59,0% na altura dos vilos e aumento de até 144,0% na profundidade das criptas de leitões, entre 3 a 7 dias pós-desmame. Hampson & Kidder (1986) encontraram redução de 25,0% na altura de vilosidades em apenas 24 horas após o desmame. Vente-Spreuwenberg et al. (2004) concluíram que essa redução está associada a ingestão insuficiente de alimentos, digestão incompleta ou devido a presença de fatores alergênicos contidos no farelo de soja das dietas.

A digestão incompleta de carboidratos e proteínas somados ao pH mais elevado do estômago, também pode propiciar meio rico em substratos para bactérias nos intestinos delgado e grosso, provocando desequilíbrio e favorecendo o crescimento de patógenos como, *Escherichia coli*, *Streptococcus* e *Clostridium* que

podem aderir-se à mucosa intestinal e, durante o processo de fermentação, produzir toxinas como cadaverina, putrescina, tiramina, histamina e outras aminas, agravando os danos ao epitélio intestinal (MOLLY, 2011). Cunningham (1992) afirmou que a integridade epitelial é fundamental para o desenvolvimento da capacidade digestiva dos leitões, e também para conferir uma barreira ao ataque de microrganismos.

2.3. Ácidos orgânicos de cadeia curta e seus sais

Os ácidos orgânicos se caracterizam por serem substâncias que possuem grupo carboxila na molécula, serem solúveis em água e apresentarem caráter ácido fraco (SCAPINELLO et al., 1998). São também denominados de ácidos carboxílicos, por conterem uma ou mais carboxilas na molécula (BRAZ, 2007). Estão presentes em plantas ou tecidos animais, sendo constituintes naturais dos mesmos ou obtidos por meio de processos fermentativos. Podem ser encontrados na forma livre e como sais de cálcio, potássio e sódio (GAUTHIER, 2002). Em suínos, os ácidos são produtos da fermentação microbiana, principalmente no intestino grosso (DIBNER & BUTTIN, 2002).

Os ácidos orgânicos, como o cítrico, acético e propiônico têm importância na alimentação humana, sendo utilizados como conservantes alimentícios, agindo na rápida acidificação do meio (DANNER et al., 2003). Também conferem cor, odor e sabor aos alimentos e bebidas (MROZ, 2005). Na nutrição animal, são usados ácidos fracos de cadeia curta (um a sete carbonos) que produzem menor quantidade de prótons por molécula ao se dissociarem, e apresentam efeitos fisiológicos relacionados com o sistema imune, com o esvaziamento gástrico e com a absorção de minerais e água (CRISTANI, 2008). Porém, a ação mais efetiva dos ácidos é, provavelmente, a atividade antimicrobiana, por meio da ação direta de sua forma não dissociada, ou pela alteração indireta da microbiota intestinal, em decorrência da produção de um meio favorável para multiplicação de bactérias lácticas que causam a acidificação no lúmen intestinal (TSILOYIANNIS et al., 2001). Segundo Papatsiros et al. (2012) nem todos os ácidos têm efeitos na microflora intestinal, sendo que os ácidos orgânicos com atividade antimicrobiana são aqueles de cadeia curta com até sete átomos.

Os ácidos são usados nas dietas para melhorar o crescimento e a conversão alimentar de leitões desmamados (PARTANEN & MROZ, 1999), mas as respostas têm grandes variações, que podem estar relacionadas às diferenças no tipo e dosagem

dos ácidos utilizados, composição da dieta basal e idade dos animais (RAVINDRAN & KORNEGAY, 1993).

O emprego dos ácidos orgânicos em dietas de leitões não é recente, pois pesquisas na década de 1960 foram conduzidas para estudar o controle da diarreia pós-desmame (SINDIRAÇÕES, 2005). Diversos mecanismos elucidando o modo de ação dos ácidos orgânicos e os benefícios de utilização em dietas para monogástricos já foram descritos (PARTANEN & MROZ, 1999; MROZ, 2005; TUNG & PETTIGREW, 2006).

A adição de sais e ácidos na dieta de suínos pode promover redução no pH (FOEGEDING & BUSTA, 1991) da capacidade tamponante, aumento da atividade proteolítica no estômago e efeito antimicrobiano (ROTH & KIRCHGESSNER, 1998), reduzindo a quantidade de coliformes e outros patógenos no trato digestório (MORÉS et al., 1990). Os ácidos de cadeia curta possuem efeitos especialmente contra bactérias gram-negativas como *E. coli*, *Clostridium* spp e *Salmonella* (SILVA JUNIOR, 2009), resultando em melhora no aproveitamento dos nutrientes da ração, no desempenho (VIOLA & VIEIRA, 2003) e saúde intestinal dos animais (RAVINDRAN & KORNEGAY, 1993; FREITAS et al., 2006; CRISTANI, 2008). Já as bactérias gram-positivas são mais susceptíveis aos ácidos com cadeias maiores e moléculas mais lipofílicas (CANIBE et al., 2001).

Em meios com pH acima de 5,0, as bactérias patogênicas se proliferam com maior eficiência, enquanto que em meios com pH na faixa de 3,5 a 4,0 são as bactérias benéficas que têm o desenvolvimento favorecido (BLANCHARD, 2000). Dessa forma, segundo Walsh et al. (2004), a utilização de acidificantes visa à redução do pH gástrico, selecionando dessa forma as bactérias benéficas ao organismo animal. Os acidificantes também têm influência sobre a fisiologia da mucosa intestinal evitando, diminuindo as alterações nas microvilosidades, na secreção pancreática e servem como substratos no metabolismo intermediário, contribuindo para melhorar a digestão, absorção e retenção de nutrientes da dieta (HARADA et al., 1986).

Février et al. (2001) e Canibe et al. (2001) relataram redução na contagem de coliformes no estômago de animais que receberam dietas suplementadas com diformiato de potássio, creditando essa redução à capacidade do ácido em se dissociar no interior da célula, suprimindo as enzimas e os transporte de nutrientes, porém não observaram o mesmo resultado para população de *E. coli*.

Martin & Willians (2002) sugeriram que dietas contendo acidificantes podem influenciar a microbiota intestinal, alterando as condições para um meio menos

apropriado para o crescimento de microrganismos patogênicos, ou até eliminando alguns patógenos. Segundo Freitag (2007), a eficiência do ácido em eliminar as bactérias depende do tempo de exposição, da temperatura ambiente e das propriedades específicas de cada ácido, como pKa, peso molecular e tamanho da cadeia.

Por outro lado, os sais dos ácidos orgânicos são formados a partir da substituição do íon hidrogênio por uma base, especialmente potássio, sódio e cálcio e de forma geral, podem apresentar alto poder higroscópico e também menores efeitos do que os ácidos de origem (FRANÇA, 2008). Waldroup et al. (1995) afirmaram que para suínos, a combinação de acidificantes apresenta efeitos mais acentuados. Canibe et al. (2001) sugeriram vantagens para os sais de ácidos orgânicos, pois em relação aos ácidos livres, são substâncias mais estáveis, produzem menos odor, facilitam o manuseio na indústria, são menos voláteis e corrosivos e mais solúveis em água. Mroz (2005) verificou que a inclusão de 0,9% a 1,8% de diformiato de potássio na dieta de suínos apresentou redução do pH da digesta do duodeno, sugerindo a passagem de forma ativa com poder antimicrobiano para ação na porção inicial do intestino delgado.

De acordo com Partanen & Mroz (1999) os efeitos dos ácidos orgânicos e seus sais na redução do pH e na atividade antimicrobiana dependem do seu grau de dissociação e do seu potencial acidificante (CANIBE et al., 2001), que está relacionado com a capacidade do ácido em ceder prótons H^+ . A dissociação depende do pH do meio em questão e é descrita pelo pKa (constante de dissociação) específico de cada ácido, que significa o valor de pH no qual ocorre taxa de 50% de dissociação. Dessa forma, quanto menor o valor de pKa, mais forte é o ácido e, conseqüentemente, sua habilidade em reduzir o pH do meio é maior. Quando o pH do lúmen for menor do que o pKa do ácido, a absorção será rápida. Porém, o pH intestinal é normalmente superior ao pKa dos ácidos, fazendo com que permaneçam na forma dissociada, pouco absorvida. No entanto, as trocas de Na-H pelas células do epitélio intestinal provocam reduções locais do pH, levando a uma alteração para a forma iônica dos ácidos, resultando na absorção pela bactéria (CANIBE et al., 2004). O pKa da maioria dos ácidos está situado em valores na faixa de 3 a 6,4 (FOEGEDING & BUSTA, 1991).

Os ácidos orgânicos de cadeia curta, por serem lipofílicos (FREITAG, 2007) podem difundir-se passivamente através da parede celular das bactérias, dissociar-se, quando o pH intracelular é superior à constante de dissociação (pKa), e promover a

diminuição do pH interno (CHIQUIERI, et al., 2008), liberando íons H^+ . Esse aumento na concentração de íons H^+ causará uma incompatibilidade para certas categorias de bactérias que não toleram variações de pH transmembranoso. As bactérias ativam um mecanismo de resistência a este tipo de estresse celular resultando no bombeamento dos íons H^+ para fora da bactéria pela ação da bomba ATPase, consumindo assim energia e suprimindo a bactéria (GAUTHIER, 2002), exercendo ação antimicrobiana. A atividade antimicrobiana aumenta com o comprimento das cadeias de carbono que constituem os ácidos (FOEGEDING & BUSTA, 1991).

2.4. Ácido fórmico (CH_2O_2) e seus sais

O ácido fórmico é um ácido orgânico líquido, altamente volátil, incolor a levemente avermelhado, solúvel em água, de cadeia curta, de caráter fraco e apresenta odor pungente (BASF, 2007) e valor de pKa de 3,77 (DAWSON et al., 1959). Desse modo, atualmente é utilizado na forma de sais de cálcio, sódio ou potássio, devido a maior facilidade de manuseio e por ser menos volátil (KIL et al., 2011). O ácido fórmico possui efeito bactericida, apresentando propriedade extra além da redução do pH (ação direta e indireta) (FRANÇA, 2008). As bactérias mais afetadas são as *gram*-negativas, por uma alteração do complexo enzimático intracelular, destruindo a membrana celular e, interferindo na duplicação de DNA (KRABBE, 2001).

Diversas pesquisas realizadas comprovam os efeitos benéficos do ácido fórmico no controle de microrganismos patogênicos como *E. coli* e *Salmonella spp.* (TSILOYIANNIS et al., 2001; KNARREBORG et al., 2002; CREUS et al., 2007) e melhoria no crescimento dos animais (MROZ et al., 2000; CANIBE et al., 2005).

O ácido fórmico comumente é utilizado nas rações combinado com o cálcio, resultando no formiato de cálcio, que é um constituinte natural dos tecidos e sangue dos animais (PARTANEN & MROZ, 1999) e não apresenta potencial acidificante, mas devido a sua baixa capacidade tamponante é utilizado nas dietas de leitões para reduzir fontes de cálcio com alto poder tampão, facilitando a redução do pH da digesta no estômago (VAN DAM, 2006).

Pallauf & Huter (1993) verificaram que a adição de formiato de cálcio na dieta de leitões desmamados resultou em ganho de peso diário 3,2% superior e em melhora de 3,7% na conversão alimentar, em relação ao uso do carbonato de cálcio. Também constataram benefícios do formiato de cálcio na digestibilidade da matéria orgânica, fibra bruta e dos extrativos não nitrogenados.

Outros estudos evidenciaram melhoria no ganho de peso e na conversão alimentar de leitões alimentados com dietas suplementadas com ácido fórmico (ECKEL et al., 1992; PARTANEN, 2001). Partanen et al. (2002), avaliando dietas contendo formiato de cálcio, observaram redução na frequência de diarreia e melhoria na conversão alimentar, comparado aos leitões que não receberam ração contendo acidificantes, mas não encontraram influência no crescimento dos animais. Entretanto, Lawlor et al. (2006) constataram pequena redução no pH da dieta contendo formiato de cálcio e menores ingestão de alimento e ganho médio diário de peso dos leitões.

A utilização de ácido fórmico deve ser moderada, pois o excesso de formiatos na dieta pode ocasionar distúrbios no perfil ácido-base de suínos, acarretando em acidose metabólica, que resulta na diminuição do consumo e do crescimento (GIESTING & EASTER 1991). O acúmulo de formiato pode ocasionar toxemia ocular e até morte (TEPLY, 1991).

2.5. Ácido láctico (C₃H₆O₃) e seus sais

O ácido láctico apresenta pKa de 3,86 (DAWSON et al., 1959) e é de cadeia curta e, por ser fraco, pode estar entre os ácidos mais efetivos disponíveis no mercado na prevenção de doenças (PARTANEN & MROZ, 1999). Possui solubilidade moderada e é encontrado na forma líquida (ROTH, 2000). Além disso, é normalmente produzido no intestino por *Lactobacillus* e bifidobactérias (SILVA JUNIOR, 2009). A ação antimicrobiana do ácido láctico é voltada principalmente contra bactérias, enquanto que fungos e leveduras são capazes de metabolizá-lo (FOEGEDING & BUSTA, 1991).

Maribo et al. (2000) observaram aumento na população de *Lactobacillus* no ceco e cólon e redução no pH do trato gastrointestinal. Tsioloyiannis et al. (2001), trabalhando com ácido láctico para leitões, observaram melhorias no consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar e menor incidência de diarreia quando comparados aos animais do tratamento controle. Silva (2002) encontrou melhora no ganho de peso médio diário de leitões ao suplementarem a dieta com 2,5% do ácido láctico, mas não notaram diferenças no consumo de ração e conversão alimentar comparado ao tratamento controle. Mikkelsen & Jensen (2004) relataram redução na contagem de coliformes e aumento de *Lactobacillus*.

Freitas et al. (2006) constataram melhoria na conversão alimentar de leitões no período de 21 a 35 dias, além de melhor consistência de fezes e controle de *E. coli* e

Streptococcus spp. trabalhando com 0,84% de ácidos orgânicos a base de ácido láctico na fase de 21 a 35 dias de idade e de 0,63% no período de 36 a 49 dias de idade. Creus et al. (2007) testando combinações de ácido láctico e fórmico, comprovaram redução na prevalência de *Salmonella spp* em suínos na fase de terminação. Valchev (2008) encontrou resultados positivos com uso de ácido láctico na dieta de suínos na fase de crescimento, como melhoria no ganho de peso diário, conversão alimentar e redução do número de microrganismos patogênicos, comparados aos animais do tratamento controle.

2.6. Ácido fumárico (C₄H₄O₄)

O ácido fumárico é dicarboxílico, possui quatro átomos de carbono e é uma molécula bastante estável à temperatura ambiente, com ponto de fusão de 286 a 287°C, apresentando-se sob a forma de cristais brancos não higroscópicos e pouco solúveis em água a 25°C (KIRCHGESSNER & ROTH, 1982, LÜDKE, 1993), inodoro (KIL et al., 2011), de caráter fraco e cadeia curta e apresenta pKa de 3,03 (ROTH, 2000), que possibilita sua ação como agente antimicrobiano no trato gastrointestinal de leitões (KNARREBORG et al., 2002).

Diversas pesquisas com leitões desmamados foram realizadas com inclusão de ácido fumárico nas rações, obtendo resultados positivos de desempenho (FALKOWSKY & AHERNE, 1984; GIESTING & EASTER, 1985; EDMONDS et al., 1985; LÜDKE, 1993).

Radecki et al. (1988) trabalhando com dietas para leitões desmamados, suplementadas com 1,5 e 3,0% de ácido fumárico encontraram melhoria no ganho de peso e conversão alimentar nos períodos iniciais (1-2 semanas), além de redução no pH da dieta. Em sua revisão, Partanen & Mroz (1999) relataram que o ácido fumárico, adicionado na dieta para leitões apresentou melhorias na digestão, absorção de nutrientes e controle de diarreia. Ribeiro et al. (2002) avaliando a inclusão de 1,0% de ácido fumárico na dieta inicial encontraram menor incidência de diarreia nos 10 primeiros dias após a desmama e maior consumo de ração, porém sem afetar o desempenho produtivo nas fases de crescimento e terminação, analisadas posteriormente. Atividade antimicrobiana do ácido fumárico contra *E. coli* e *Salmonella spp.* foi relatada por Tsiloyiannis et al. (2001) e Knarreborg et al. (2002).

Gabert & Sauer (1995), utilizando 1,5% ou 3,0% de ácido fumárico em dietas para leitões no período de 21 aos 49 dias de idade, não encontraram redução de pH

do duodeno e íleo e nem melhoria na digestibilidade ileal aparente. Gomes et al. (2011) testando dietas com 0,5% de ácido fumárico e combinações de ácido fumárico com propionato de cálcio não encontraram influência no ganho de peso diário, consumo de ração diário e conversão alimentar em leitões desmamados aos 15 dias. Os mesmos autores não encontraram diferença quanto ao pH das dietas acidificadas e o pH do estômago e jejuno, bem como diferenças na altura do epitélio do duodeno, jejuno e íleo dos leitões aos 38 dias de idade.

Teixeira et al. (2003) trabalharam com 1,5% de ácido fumárico na dieta de leitões desmamados e relataram melhoria no ganho de peso e conversão alimentar, bem como aumento no consumo de ração.

2.7. Ácidos graxos de cadeia média

Os ácidos graxos de cadeia média possuem baixa solubilidade em água, agem seguindo os mesmos princípios dos demais ácidos orgânicos, atuando na redução do pH e inibindo o crescimento bacteriano (VAN DAM, 2006). São encontrados em níveis mais elevados nos lipídios do leite de muitas espécies animais e na fração de óleo de várias plantas, incluindo cocos e sementes de palmeiras (ZENTEK et al., 2011) e possuem de seis a 12 átomos de carbono em sua molécula (WIELAND et al., 1993).

De acordo com Zentek et al. (2011) os ácidos graxos de cadeia média são eficientemente absorvidos e metabolizados quando utilizados na dieta de leitões, fornecendo energia prontamente utilizável e podem afetar a composição da microbiota intestinal e ter efeitos inibidores sobre as concentrações das bactérias na digesta, principalmente *Salmonella* ssp e coliformes. Desse modo, afetam positivamente o ganho de peso e a conversão alimentar dos animais, contribuindo para otimizar o desempenho zootécnico e o custo de produção (VIEIRA, 2011).

Os ácidos graxos são indispensáveis para os processos biológicos, como elaboração de novas células, reprodução e sistema imune (MACIEL, 2012) e segundo Nguyen et al. (2003), a composição em ácidos graxos da gordura corporal dos suínos é um reflexo direto da composição da sua dieta, podendo favorecer a qualidade nutricional da carne.

Odle et al. (1989) verificaram que os ácidos graxos de cadeia média podem ser utilizados por leitões recém nascidos, fornecendo energia e essa utilização se torna mais eficiente após o primeiro dia de vida. Azain (1993) estudou dietas para fêmeas gestantes e lactantes, contendo 10% de triglicerídeos de cadeia média e encontrou

redução na mortalidade pré-desmame, dobrando a taxa de sobrevivência de animais com baixo peso ao nascimento, em relação às fêmeas que receberam dieta controle. Esse dados corroboram aqueles obtidos por Zentek et al. (2011) que estudando inclusão de 15,0% de triglicerídeos de cadeia média na dieta de fêmeas encontraram redução na mortalidade de leitões recém nascidos e melhor desenvolvimento, especialmente de leitões com baixo peso ao nascimento.

Em estudo de Hanczakowska et al. (2011), leitões que receberam dieta com inclusão de 0,1% do ácidos cáprico e caprílico apresentaram maior ganho diário de peso e leitões alimentados com dieta contendo 0,2% ácido cáprico apresentaram maior altura de vilosidade do íleo.

Zentek et al. (2013) estudaram uma combinação de ácidos orgânicos de cadeia curta (0,416% de ácido fumárico e 0,328% de ácido láctico) com ácidos graxos de cadeia média (0,15% de ácidos cáprico e caprílico) na dieta de leitões e encontraram efeitos positivos na microbiota intestinal e redução do pH intestinal.

3. Justificativas e objetivos

Os ácidos orgânicos e seus sais são alvos recorrentes de pesquisas envolvendo suínos, especialmente em leitões após o desmame, visando à utilização nas dietas em substituição aos antibióticos, que vêm sofrendo restrições nos últimos anos. Neste sentido, o objetivo da pesquisa foi de avaliar os efeitos do ácido fumárico e de uma combinação de acidificantes a base de formiato de cálcio, lactato de cálcio e ácidos graxos de cadeia média (cáprico e caprílico) nas dietas, sobre o ganho diário de peso, consumo diário de ração e conversão alimentar, peso de órgãos, pH, morfometria e microbiota intestinal de leitões recém desmamados.

O **Capítulo II**, denominado “ACIDIFICANTES EM DIETAS DE LEITÕES DESMAMADOS: DESEMPENHO, PESO DE ÓRGÃOS, pH, MORFOMETRIA E MICROBIOTA INTESTINAL”, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na **CIÊNCIA RURAL – Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria**. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do ácido fumárico e de uma mistura de acidificantes a base de formiato de cálcio, lactato de cálcio e ácidos graxos de cadeia média (cáprico e caprílico) nas dietas, sobre o ganho diário de peso, consumo diário de ração e conversão alimentar, peso de órgãos, pH, morfometria e microbiota intestinal de leitões recém desmamados.

4. Referências bibliográficas

ABCS. Associação Brasileira dos Criadores de Suínos. Projeto Nacional do Desenvolvimento da Suinocultura. Disponível em: <<http://www.abcs.org.br/pnds/o-projeto>>. Acesso em: 27 março 2014.

ABIPECS. PRODUÇÃO mundial de carne suína. Disponível em: <<http://www.abipecs.org.br/pt/estatisticas/mundial/producao-2.html>>. Acesso em: 26 fev. 2014.

AZAIN, M. J. Effects of adding medium-chain triglycerides to sow diets during late gestation and early lactation on litter performance. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 3011-3019, 1993.

BASF. **Safety data sheet Formic acid 85%**. 2007. Disponível em: <http://worldaccount.basf.com/wa/NAFTA/Catalog/ChemicalsNAFTA/doc4/BASF/PRD/30056217/.pdf?title=&asset_type=msds/pdf&language=EN&validArea=US&urn=urn:documentum:ProductBase_EU:09007af88028fc33.pdf>. Acesso em: fev. 2014.

BERTOL, T. M.; MORES, N.; LUDKE, J.; FRANKE, M. R. Proteínas da soja processadas de diferentes modos em dietas para o desmame de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 150-157, 2001.

BLANCHARD, P. Less buffering... more enzymes and organic acids. **Pig Progress**, v. 16, p. 23-25, 2000.

BOLING, S. D.; WEBEL, D. M.; MAVROMICHALIS, I.; PARSONS, C. M.; BAKER, D. H. The effects of citric acid on phytate-phosphorus utilization in young chicks and pigs. **Journal of Animal Science**, p. 682-689, 2000.

BOUDRY, G.; PÉRON, V.; LE HUEROU-LURON, I.; LALLÈS, J. P.; SÈVE, B. Weaning induces both transient and long-lasting modifications of absorptive, secretory, and barrier properties of piglets intestine. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 2256-2262, 2004.

BRAZ, D. B. **Acidificantes como alternativas aos antimicrobianos melhoradores de desempenho de leitões na fase de creche**. 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

BRAUDE, R. Antibiotics in animal feeds in Great Britain. **Journal of Animal Science**, v. 46, p. 1425-1436, 1978.

BRUGALLI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Campinas. **Anais...** Campinas, 2003. p.167-182.

CANIBE, N.; STEIEN, S. H.; OVERLAND, M.; JENSEN, B. B. Effect of K-diformate in starter diets on acidity, microbiota, and the amount of organic acids in the digestive tract of piglets and on gastric alterations. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 2123-2133, 2001.

CANIBE, N. An overview if the effect of organic acids on gut flora na gut health, 2004. Disponível em: <http://www.afac.slu.se/Workshop%20Norge/organic_acids_canibe_et_al.pdf>. Acesso em: 07 jan. 2014.

CANIBE, N.; HØJBERG, O.; HØJSGAARD, 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.

CERA, K. R.; MAHAN, D. C.; CROSS, R. F.; REINHART, G. A.; WHITMOYER, R. E. Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in youg swine. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 574-584, 1988.

CHIQUIERI, J.; SOARES, R. T. R. N.; LYRA, M. S.; HURTADO NERY, V. L.; FONSECA, J. B. Ácidos orgânicos na alimentação de leitões desmamados. **Archivos de Zootecnia**, v. 58, p. 612, 2008.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Custo de produção**. 2012. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1274&t=>>>. Acesso em: 20 ago. 2013.

COSTA, L. B.; ALMEIDA, V. V.; BERENCHTEIN, B.; TSE, M. L. P.; ANDRADE, C.; MIYADA, V. S. Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como alternativas aos antibióticos para leitões desmamados. **Archivos de Zootecnia**, v. 60, p. 733-744, 2011.

CREUS, E.; PEREZ, J. F.; PERALTA, B.; BAUCCELLS, F.; MATEU, E. Effect of acidified feed on the prevalence of Salmonella in market-age pigs. **Zoonoses Public Health**, v. 54, p. 314-319, 2007.

CRISTANI, J. **Acidificantes e probióticos na alimentação de leitões recém-desmamados**. 2008. 57 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, 2008.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 450 p.

DANNER, H.; HOLZER, M.; MAYRHUBER, E.; BRAUN, R. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 562-567, 2003.

DAWSON, R. M. C.; ELLIOTT, D. C.; ELLIOTT, W. H.; JONES, K. M. **Data for biochemical research**. Oxford: Clarendon Press, 1959.

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.

ECKEL, B.; KIRCHGEßNER, M.; ROTH, F.X. Influence of formic acid on daily weight-gain, feed-intake, feed conversion rate and digestibility. Communication investigations about the nutritive efficacy of organic-acids in the rearing of piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 67, p. 93-100, 1992.

EDMONDS, M. S.; IZQUIERDO, O. A.; BAKER, D. H. Feed additive studies with newly weaned pigs: efficacy of supplemental cooper, antibiotics and organic acids. **Journal of Animal Science**, v. 60, p. 462-469, 1985.

FALKOWSKY, J. F.; AHERNE, F. X. Fumaric and citric acid as feed additives in starter pig nutrition. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 935-938, 1984.

FÉVRIER, C.; GOTTERBARM, G.; JAGHELIN-PEYRAUD, Y.; LEBRETON, Y.; LEGOUEVEC, F.; AUMAITRE, A. Effects of adding potassium diformate and phytase excess for weaned piglet. In: J. E. Lindberg and B. Ogle (ed.) Proc. 8th Symposium on Digestive Physiology of Pigs, Uppsala, Sweden. **CABI Publishing**, Wallingford, Oxon, UK. pp 192–194, 2001.

FOEGEDING, P. M.; BUSTA, F. F. Chemical food preservatives. In: BLOCK, S. S. (Ed.). **Disinfection, sterilization and preservation**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 802-832.

FRANÇA, M. I. **Uso de formiato de sódio e potássio em rações para frangos**. 2008. 53 f. Dissertação (Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

FREITAG, M. **Organic acids and salts promote performance and health in animal husbandry**. Acidifiers in animal nutrition: A guide for feed preservation and acidification to promote animal performance. Nottingham University Press, p. 01-13, 2007.

FREITAS, L. S.; LOPES, D. C.; FREITAS, A. F.; CARNEIRO, J. C.; CORASSA, A.; PENA, S. 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, p. 1711-1719, 2006.

GABERT, V. M.; SAUER, W. C. The effect of fumaric acid and sodium fumarate supplementation to diets for weanling pigs on amino acid digestibility and volatile fatty acid concentration in ileal digesta. **Animal Feed Science and Technology**, v. 53, p. 243-254, 1995.

GAUTHIER, R. The mode of action of acidifiers and the interest they generate in the growing-finishing phase. In: CURRENT DEVELOPMENTS IN PIG PRODUCTION, 2002, Maison-Alfort. **Anais...** Maisons-Alfort, 2002.

GEDEK, B.; KIRCHGESSNER, M.; EIDELSBURGER, U.; WIEHLER, S.; BOTT, A.; ROTH, F. X. Influence of formic acid on the microflora in different segments of the gastrointestinal tract. Nutritive value of organic acids in piglet rearing. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 67, p. 206-214, 1992.

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, p. 1288-1294, 1985.

GIESTING, D. W.; EASTER, R. A. Effect of protein source and fumaric acid supplementation on apparent ileal digestibility of nutrients by young pigs. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 2497-2503, 1991.

GOMES, F. E.; FONTES, D. O.; SALIBA, E. O. S. 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. 59, p. 1270-1277, 2007.

GOMES, F. E.; FONTES, D. O.; VASCONCELLOS, C. H. F.; SILVA, F. C. O. Ácido fumárico e sua combinação com ácido láctico ou propionato de cálcio em dietas de leitões recém-desmamados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, p. 678-686, 2011.

HAMPSON, D. J.; KIDDER, D. E. Influence of creep feeding and weaning on brush border enzyme activities in the piglets small intestine. **Research in Veterinary Science**, v. 40, p. 24-31, 1986.

HANCZAKOWSKA, E; SZEWCZYK, A; OKON, K. Effects of dietary caprylic and capric acids on piglet performance and mucosal epithelium structure of the ileum. **Journal of Animal and Feed Science**, v. 20, p. 556-565, 2011.

HARADA, E.; NIIYAMA, M.; SYUTO, B. Comparison of pancreatic exocrine secretion via endogenous secretin by intestinal infusion of hydrochloric acid and monocarboxylic acid in anesthetized piglets. **Japanese Journal of Physiology**, v. 36, p. 843- 856, 1986.

HOTZEL, J. M.; MACHADO FILHO, L. C. P. Bem-estar animal na agricultura do século XXI. **Revista de Etologia**, vol. 6, p. 3-15, 2004.

KIL, D. Y.; KWON, W. B.; KIM, B. G. Dietary acidifiers in weanling pig diets: a review. **Revista Colombiana de Ciências Pecuárias**, v. 24, p. 231-247, 2011.

KIRCHGESSNER, M.; ROTH, F. X. Fumaric acid as a feed additive in pig nutrition. **Pig News and Information**, v. 3, p. 259-263, 1982.

KITT, S. J.; MILLER, P. S.; LEWIS, A. **Factors affecting small intestine development in weanling pigs**. Nebraska: University of Nebraska, 2001. p. 33-35.

KNARREBORG, A.; MIQUEL, N.; GRANLI, T. Establishment and application of an in vitro methodology to study the effects of organic acids on coliform and lactic acid bacteria in the proximal part of the gastrointestinal tract of piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 99, p. 131-140, 2002.

KRABBE, E. L. Alternativas aos promotores de crescimento convencionais – Potencial e viabilidade. In: PRÉ SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO ANIMAL: AVES E SUÍNOS, 2001, Santa Maria. **Anais...** Concordia: Embrapa Suíno e Aves, 2001. p. 61-69.

LAWLOR, P. G.; LYNCH, P.B.; CAFFREY, P.J. Effect of fumaric acid, calcium formate and mineral levels in diets on the intake and growth performance of newly weaned pigs. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v. 45, p. 61-71, 2006. Disponível em <www.teagasc.ie/research/journalarchives/vol45no1/p61_71.pdf>. Acesso em: 8 ago. 2012.

LEIBBRANDT, V. D.; EWAN, R. C.; SPEER, V. C. Effect of age and calorie: protein ratio on performance and body composition of baby pigs. **Journal of Animal Science**, v. 40, p. 1070-1078, 1976.

LINDEMAN, M. D. Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme levels in piglets. **Journal of Animal Science**, v. 62, p. 1298-1307, 1986.

LÜDKE, J. V. **Efeito da inclusão de ácido fumárico em rações com dois níveis de derivados lácteos sobre o desempenho de leitões desmamados aos 23 dias de idade**. 1993. 164f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1993.

MACARI, M. Aspectos fisiológicos do sistema digestivo das aves. In: SEMANA ACADÊMICA VETERINÁRIA, 8., 1998, São Paulo. **Anais...** São Paulo: [s.n.], 1998. p. 4-18.

MACIEL, R. **Uso de óleos e gorduras nas rações**. 2012. Disponível em: <http://www.dzo.ufla.br/Roberto/uso_oleos_gorduras.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2012.

MARIBO, H.; JENSEN, B. B.; HEDEMANN, M. S. **Different doses of organic acids for weaned piglets. Denmark: The National Committee for Pig Production, Danish Bacon and Meat Council, 2000. (Report n. 469)**.

MARTIN, W.V.A.; WILLIAMS, B.A. Alternatives to use of antibiotics as growth promoters for monogastric animals. **Animal Biotechnology**, v.13, p.113-127, 2002.

McCRACKEN, B. A.; SPURLOK, M. E.; ROOS, M. A.; ZUCKERMANN, F. A.; GASKINS, H. R. Weaning anorexia may contribute to local inflammation in the piglet small intestine. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 613-619, 1999.

MENTEN, J. F. M. Aditivos alternativos na produção de aves: probióticos e prebióticos. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001. p. 141-157.

MIGUEL, W. C.; TRINDADE NETO, M. A.; BERTO, D. A.; KOBASHIGAWA, E.; GANDRA, E. R. S. Suplementação de acidificantes em rações de leitões desmamados: desempenho e digestibilidade. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, p. 141-146, 2011.

MIKKELSEN, D.; JENSEN, B.B. Effects of physical properties of feed on microbial ecology and survival of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in the pig gastrointestinal tract. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 3485-3942, 2004.

MOITA, A. M. S.; COSTA, P. M. A.; DONZELE, J. L.; ROSTAGNO, H. S.; SOARES, J. M.; TEIXEIRA, J. A. Exigência de proteína bruta de leitões de 12 a 28 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 23, p. 792-801, 1994.

MOLLY, K. Formulation to solve the intestinal puzzle. **Pig Progress**, v. 17, p. 20-22, 2001.

MOON, H. M. Epithelial cell migration in the migration of the suckling pig. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.137, p. 151-154, 1971.

MORÉS, N.; MARQUES, J. L. L.; SOBESTIANSKY, J.; OLIVEIRA, A.; COELHO, L. S. S. Influência do nível protéico e/ou acidificação da dieta sobre a diarreia pós-desmame em leitões causada por *Escherichia coli*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.10, p. 85-88, 1990.

MORÉS, N.; SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; MORENO, A. M. Manejo do leitão desde o nascimento até o abate. In: SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; SILVEIRA, P. R. S.; SESTI, A. C. (Ed.). **Suinocultura intensiva: produção, manejo e saúde do rebanho**. Brasília: Embrapa SPI; Concórdia: Embrapa CNPSA, 1998. cap. 7, p. 135-162.

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.

MROZ, Z. **Organics Acids of various origin and physico-chemical forms as potential alternatives to antibiotic growth promoters for pigs**. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON DIGESTIVE PHYSIOLOGY IN PIGS, 9., 2003, Houston. Houston, 2003. v.1, p. 267-293.

MROZ, Z. Organic acids as potential alternatives to antibiotic growth promoters for pigs. **Advances in Pork Production**, v. 16, p. 169-182, 2005.

NGUYEN, L. Q.; NUIJENS, M. C. G. A.; EVERTS, H.; SALDEN, N.; BEYNEN, A. C. Mathematical relationships between the intake of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids and their contents in adipose tissue of growing pigs. **Meat Science**, v. 65, p. 1399-1406, 2003.

ODLE, J.; BENEVENGA, N. J.; CRENSHAW, T. D. Utilization of medium-chain triglycerides by neonatal piglets: II. Effects of even- and odd-chain triglyceride consumption over the first 2 days of life on blood metabolites and urinary nitrogen excretion. **Journal of Animal Science**, v. 67, p. 3340-3351, 1989.

OVERLAND, M.; GRANLI, T.; KJOS, N.P.; FJETLAND, O.; STEIEN, S.H.; STOKSTAD, M. Effect of dietary formates on growth performance, carcass traits, sensory quality, intestinal microflora, and stomach alterations in growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1875-1884, 2000.

PALLAUF, J.; HUTER, J. Studies on the influence of calcium formate on growth, digestibility of crude nutrients, nitrogen balance and calcium retention in weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 43, p. 65-76, 1993.

PAPATSIROS, V. G.; CHRISTODOULOPOULOS, G.; FILIPPOPOULOS, L. C. The use of organic acids in monogastric animal (swine and rabbits). **Journal of Cell and Animal Biology**, v. 6, p. 154-159, 2012.

PARTANEN, K. H.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**, v. 12, p. 117-145, 1999.

PARTANEN, K. Organic acids - their efficacy and modes of action in pigs. In: PIVA, A.; BACH KNUDSEN, K. E.; LINDBERG, J. E. (Ed.). **Gut environment of pigs**. Nottingham: Nottingham University Press, 2001. p. 201-217.

PARTANEN, K.; SILJANDER-RASI, H.; SUOMI, K. Dietary preferences of weaned piglets offered diets containing organic acids. **Agricultural and Food Science in Finland**, v. 11, p. 107-119, 2002.

PUPA, J. M. R. Saúde intestinal de leitões. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE SUINOCULTURA, 1., 2008, Chapecó. **Anais...** Chapecó: Embrapa Suínos e Aves, 2008. p. 13-27.

RADECKI, S. V.; JUHL, M. R.; MILLER, E. R. Fumaric and citric acids feed additives in starter pig diets: effect on performance and nutrient balance. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 2598-2605, 1988.

RAVINDRAN, V.; KORNEGAY, E.T. Acidification of weaner pig diets: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 62, p. 313-322, 1993.

RIBEIRO, P. R.; KRONKA, R. N.; THOMAZ, M. C.; CASTILLO SOTO, W. L.; SILVA, L. P. G.; KRONKA, S. N.; HANNAS, M. I. Adição de ácido fumárico em rações de suínos e seus efeitos nas fases inicial e crescimento/terminação. **ARS Veterinária**, v. 18, p. 70-77, 2002.

ROSTAGNO, H. S., PUPA, J. M. R. Fisiologia da digestão e alimentação de leitões. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO E MANEJO DE LEITÕES, 1998, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 1998. p. 60-87.

ROTH, F. X.; KIRCHGESSNER, M. Organic acids as feed additives for young pigs: Nutritional and gastrointestinal effects. **Journal of Animal Feed Science**, v. 7, p. 25-33, 2000.

SANCHES, A. L. **Probiótico, prébiótico e simbiótico em rações de leitões ao desmame**. 2004. 63 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

SCAPINELLO, C.; FARIA, H. G.; FURLAN, A. C.; PEDRO, M. R. S. Influência de diferentes níveis de ácido fumárico ou ácido acético sobre o desempenho de coelhos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, p. 945-950, 1998.

SILVA JUNIOR, A. Interações químico-fisiológicas entre acidificantes, probióticos, enzimas e lisofosfolipídios na digestão de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 238-245, 2009.

SILVA, L. P.; NÖRNBERG, J. L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. **Ciência Rural**, v. 33, p. 55-65, 2003.

SILVA, M. C. Efeito da adição de acidificantes e suas combinações na alimentação de leitões desmamados sobre o desempenho. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002.

SINDIRAÇÕES. **Guia de aditivos**. São Paulo, 2005. 44 p.

SMINK, W. Oregano oil boost. **Pig Progress**, v.19, p.24-26, 2003.

TEIXEIRA, M. P.; SILVA, G. F.; LOPES, D. C.; CORASSA, A.; TEIXEIRA, A. O.; BÜNZEN, S.; PENA, S. M.; GATTAS, G.; COSTA, L. F. Avaliação de ácidos orgânicos e inorgânicos em dietas para leitões desmamados aos 21 dias de idade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais ...** Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. 1 CD-ROM.

TEPLY, T. R. The toxicity of methanol. **Life Sciences**, v. 48, p. 1031-1041, 1991.

TRINDADE NETO, M. A.; BARBOSA, H. P.; PETELINCAR, I. M.; SCHAMMAS, E. A. Dietas para leitões nas fases de creche e diferentes idades ao desmame. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 687-695, 2002.

TSILOYIANNIS, V. K.; KYRIAKIS, S. C.; VLEMMAS, J. The effect of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhoea. **Research in Veterinary Science**, v. 70, p. 287-293, 2001.

TUNG, C. M.; PETTIGREW, J. E. **Critical review of acidifiers**. Illinois: University of Illinois, 2006. p. 1-52.

UNI, Z.; GANOT, S.; SKLAN, D. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. **Poultry Science**, v. 77, n. 1, p. 75-82, 1998.

UTIYAMA, C. E. **Utilização de agentes antimicrobianos, probióticos, prebióticos e extratos vegetais como promotores de crescimento de leitões recém-desmamados**. 2004. 94 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

VALCHEV, G. Organic acids in combined forages for growing pigs. **Biotechnology in Animal Husbandry**, v. 24, p. 121-128, 2008.

VAN DAM, H. Organic acids and their salts. **Pig Progress**, v.22, n.8, p. 26-28, 2006.

VENTE-SPREEUWENBERG, M. A. M.; VERDONK, J. M. A. J.; BAKKER, G. C. M.; BEYNEN, A. C.; VERSTEGEN, M. W. A. Effect of dietary protein source on feed intake and small intestinal morphology in newly weaned piglets. **Livestock Production Science**, v. 86, p. 169-177, 2004.

VIEIRA, N. S. **Ácidos graxos de cadeia média (AGCM) na produção animal**. Disponível em: <<http://pt.engormix.com/MA-avicultura/nutricao/artigos/acidoss-graxos-cadeia-media-t803/141-p0.htm>>. Acesso em: 8 ago. 2013.

VIOLA, E. S.; VIEIRA, S. L. Ácidos orgânicos e suas combinações em dietas de suínos. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2., 2003, Cascavel. **Anais...** Cascavel: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2003. p. 153-182.

WALSH, M. C.; PEDDIREDDI, L.; RADCLIFFE, J. S. **Acidification of nursery diets and the role of diet buffering capacity**. Ohio: The Ohio State University, 2004. p. 25-36. Disponível em: <<http://porkinfo.osu.edu/2004%20swine%20Doc.pdf>>. Acesso em: 8 ago. 2012.

WALDROUP, A.; KANIAWATO, S.; MAUROMOUSTAKOS, A. Performance charactersitics and microbiological aspects of broiler fed diets supplemented witch organic acids. **Journal of Food Protection**, p. 482-489, 1995.

WIELAND, T. M.; LIN, X.; ODLE, J. Utilization of medium-chain triglycerides by neonatal pigs: effects of emulsification and dose delivered. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 1863-1868, 1993.

WILSON, R. H.; LEIBHOLZ, J. Digestion in the between 7 and 35 d of age 3. The digestion of nitrogen in pigs given milk and soya-bean proteins. **British Journal of Nutrition**, p. 337-346, 1981.

WU, G.; KNABE, D. A.; KIM, S. W. Arginine nutrition in neonatal pigs. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 2783-2790, 2004.

ZENTEK, J.; BUCHHEIT-RENKO, S.; FERRARA, F.; VAHJEN, W.; VAN KESSEL, A. G.; PIEPER, R. Nutritional and physiological role of medium-chain triglycerides and medium-chain fatty acids in piglets. **Animal Health Research Reviews**, v. 12, p. 83-93, 2011.

ZENTEK, J.; FERRARA, F.; PIEPER, R.; TEDIN, L.; MEYER, W.; VAHJEN, W. Effects of dietary combinations of organic acids and medium chain fatty acids on the gastrointestinal microbial ecology and bacterial metabolites in the digestive tract of weaning piglets. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 3200-3210, 2013.

CAPÍTULO II

ACIDIFICANTES EM DIETAS DE LEITÕES DESMAMADOS: DESEMPENHO, PESO DE ÓRGÃOS, pH, MORFOMETRIA E MICROBIOTA INTESTINAL

ACIDIFIERS IN WEANED PIGLETS DIETS: PERFORMANCE, ORGAN WEIGHTS, pH, MORPHOMETRY AND INTESTINAL MICROBIOTA

Acidificantes em dietas de leitões desmamados: desempenho, peso de órgãos, pH, morfometria e microbiota intestinal

Acidifiers in weaned piglets diets: performance, organ weights, pH, morphometry and intestinal microbiota

RESUMO

Dois experimentos (E) foram realizados com o objetivo de avaliar os efeitos do ácido fumárico e de uma mistura de acidificantes a base de formiato de cálcio, lactato de cálcio e ácidos graxos de cadeia média (cáprico e caprílico) nas dietas de leitões, sobre o desempenho e frequência de diarreia (E 1), peso relativo de órgãos, pH, morfometria e microbiota intestinal (E 2). Foram utilizados 192 (E 1) e 24 (E 2) leitões, desmamados com idade média de 21 dias, distribuídos num delineamento experimental de blocos completamente ao acaso com arranjo fatorial 2x2 (ausência e presença de ácido fumárico x ausência e presença da mistura de acidificantes) dos tratamentos, seis repetições de oito e de um animal por parcela, respectivamente, para o E 1 e E 2. No E 1, com duração de 41 dias, os tratamentos foram: Controle: sem produto acidificante + 40ppm de colistina; AF: Presença de ácido fumárico e ausência da mistura de acidificantes; MA: Presença da mistura de acidificante e ausência do ácido fumárico e AF+MA: Presença do ácido fumárico e da mistura de acidificantes. No E 2, com duração de 14 dias, foi utilizada a dieta Pré Inicial I e avaliados os mesmos tratamentos do E 1. Não houve efeito dos tratamentos ($P>0,05$) no desempenho, incidência de diarreia, pH gastrintestinal e morfometria do duodeno dos leitões, porem, a adição da mistura de acidificantes reduziu ($P<0,05$) o peso relativo do intestino grosso e a adição

do ácido fumárico aumentou o peso relativo do pâncreas e reduziu ($P < 0,05$) a altura de vilosidade do jejuno e a contagem de coliformes totais e *Escherichia coli* no ceco. A inclusão de ácido fumárico e da mistura de acidificantes nas dietas de leitões desmamados contendo antibiótico melhorador de desempenho não se justifica, contudo, o ácido fumárico exerce ação inibitória sobre a população de coliformes totais e de *Escherichia coli*.

Palavras-chave: ácidos orgânicos, diarreia, desmame, nutrição, suíno.

ABSTRACT

Two experiments (E) were conducted to evaluate the effects of fumaric acid and an organic acid blend compound of calcium formate, calcium lactate and medium chain fatty acids (capric and caprylic) in piglets diets on performance and frequency of diarrhea (E 1), relative organ weight, pH, morphometry and intestinal microbiota (E 2). One hundred and ninety two (E 1) and twenty four (E 2) piglets weaned at 21 days, distributed in a randomized block design with a 2x2 factorial arrangement of treatments (absence x presence of fumaric acid and absence x presence of acidifying product), six replications of eight and one pig per pen were used, respectively, for E 1 and E 2. In E 1, lasting 41 days, the treatments were: Control – No acidifying + 40 ppm of colistin sulfate; AF – Presence of fumaric acid and absence of acidifying product; MA – Presence of acidifying product and absence of fumaric acid and AF+MA: presence of fumaric acid and acidifying product. In E 2, lasting 14 days, Pré-Starter I diet was used and assessed the same treatments of E 1. There were no treatment effects ($P > .05$) in performance, incidence of diarrhea, gastrointestinal pH and morphometry of the duodenum of piglets, however, the addition of organic acid blend reduced ($P < .05$) the

relative weight of the large intestine and the addition of fumaric acid increased the relative weight of the pancreas and decreased ($P < .05$) the villus height of jejunum and number of total coliforms and *Escherichia coli* in the cecum. The inclusion of fumaric acid and the organic acid blend in the diets of weaned piglets containing antibiotic is not justified, however, fumaric acid exerts an inhibitory effect on the population of coliforms and *Escherichia coli*.

Key-words: organic acids, diarrhea, weaning, nutrition, pig.

INTRODUÇÃO

O desmame precoce representa uma das práticas de manejo mais críticas na vida do suíno, pois impõe desafios para os leitões, que resultam em menor desempenho, baixo consumo de ração e surgimento de diarreia são os principais fatores que contribuem para o baixo desempenho (BARNETT et al., 1989).

A adaptação da mudança na forma física e da constituição da dieta é complicada em leitões desmamados precocemente, pois seu sistema digestório é apto a secretar as enzimas lactase, proteases e lipase, que realizam a digestão eficiente dos constituintes do leite materno, mas não está adaptado para digerir e aproveitar de forma adequada os nutrientes da dieta sólida. Segundo VENTE-SPREEUWENBERG et al. (2003) a ração fornecida aos leitões após o desmame é composta, basicamente, por carboidratos de origem vegetal, especialmente amido, como principal fonte de energia, possuindo alto teor de matéria seca. Outro fator importante é a presença de grandes quantidades de farelo de soja, que pode provocar reações de hipersensibilidade (LI et al., 1990), o que resulta em modificações nas estruturas do intestino, (nas vilosidades) prejudicando a digestão dos alimentos e a absorção dos nutrientes.

A limitada capacidade digestiva dos leitões no pós-desmame tem como uma das causas a produção gástrica insuficiente de ácido clorídrico, que resulta na elevação do pH e na menor atividade das enzimas proteolíticas. O ácido láctico, produzido pela fermentação da lactose, é o principal responsável pela acidificação do estômago do leitão lactente e, segundo BARROW et al. (1977) esse ácido atua como inibidor na produção de HCl.

Tendo em conta essa realidade, os nutricionistas visam à inclusão de ingredientes mais digestíveis nas dietas dos leitões, como produtos de origem láctea. Porém, por mais elaboradas que sejam, as dietas por si só não contornam de forma satisfatória os problemas pós-desmame, sendo necessário o uso de aditivos melhoradores de desempenho.

Apesar da eficiência comprovada, o uso de antibióticos como melhoradores de desempenho tem seu uso cada vez mais limitado no Brasil e foram totalmente proibidos na União Europeia desde janeiro de 2006, devido ao risco da ocorrência de resíduos na carne e do surgimento de microrganismos resistentes (COSTA et al., 2011). Dessa forma, tem aumentado a busca e o interesse por produtos alternativos que exerçam atividade antimicrobiana e, ao mesmo tempo, sejam seguros para o consumidor (BLANK et al., 2001), como os ácidos orgânicos e seus sais, pois segundo CHERRINGTON et al. (1991) esses produtos não deixam resíduos na carcaça e não promovem o aparecimento de bactérias resistentes. Para suínos, os ácidos mais utilizados são o acético, fórmico, propiônico, láctico, fumárico e cítrico (PARTANEN, 2002).

A eficiência dos ácidos orgânicos em melhorar o desempenho de leitões já foi comprovada por outros estudos (GIESTING & EASTER, 1985; RADECKI et al., 1988; RADCLIFFE et al., 1998).

Desse modo, o objetivo da pesquisa foi avaliar os efeitos do ácido fumárico e de uma combinação de acidificantes a base de formiato de cálcio, lactato de cálcio e ácidos graxos de cadeia média (cáprico e caprílico) nas dietas, sobre o ganho diário de peso, consumo diário de ração e conversão alimentar, peso de órgãos, pH, morfometria e microbiota intestinal de leitões recém desmamados.

MATERIAL E MÉTODOS

EXPERIMENTO I

O experimento foi realizado nas instalações de creche de uma granja comercial na cidade de Patos de Minas – MG. A unidade de creche era dividida em três salas, construídas em alvenaria, com pé-direito de 2,40m, possuindo oito baias cada uma, totalizando vinte e quatro baias. Cada baia possui 4,64m², dois bebedouros tipo chupeta e um comedouro semiautomático, com capacidade para sete leitões, piso parcialmente ripado e não suspensas. Foram utilizados 144 leitões machos (castrados) e 48 fêmeas, totalizando 192 animais, da genética Agroceres PIC, desmamados com média de 21 dias de idade e peso inicial médio de 6,80±0,89kg. O controle de temperatura no interior de cada uma das salas de creche foi realizado com o manejo das cortinas laterais e das campânulas de aquecimento. Para aferição da temperatura, foram utilizados termômetros de máxima e mínima. A média das temperaturas mínimas e máximas, foi de 23,7°C e 31,3°C durante o experimento.

O experimento teve duração de 41 dias, período em que os leitões receberam três tipos de dietas (Tabelas 1, 2 e 3) de acordo com o sistema de arraçamento por fases: Dieta pré-inicial I (PI) nos primeiros 14 dias pós desmame; Dieta pré-inicial II (PII) nos 14 dias seguintes e Dieta Inicial (I) nos últimos 13 dias do experimento. No início do experimento e a cada troca de dieta, o peso dos animais foi aferido de forma individual. Os tratamentos avaliados foram: DC - Dietas PI, PII e I sem produto acidificante; AF - Dietas PI, PII e I contendo 0,8, 0,4 e 0,2% de ácido fumárico, respectivamente; MA - Dietas PI, PII e I contendo 0,3, 0,3 e 0,2% da mistura de acidificantes, respectivamente; AF+MA - Dietas PI, PII e I contendo 0,8, 0,4 e 0,2% de ácido fumárico e 0,3, 0,3 e 0,2% da mistura de acidificantes, respectivamente. Nas dietas PI e PII havia a presença de 40 ppm de colistina, em todos os tratamentos. Nas dietas Iniciais, havia a presença de 120 ppm de halquinol, em todos os tratamentos. O produto acidificante utilizado na ração é composto por uma mistura dos sais formiato de cálcio e lactato de cálcio e de ácidos graxos de cadeia média (cáprico e caprílico). Para a inclusão do acidificante e do sulfato de colistina nas rações foi retirada quantidade equivalente de inerte (caulim). As rações formuladas atenderam as exigências nutricionais propostas por ROSTAGNO et al. (2011), exceto para cálcio e foram fornecidas à vontade.

O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso com quatro tratamentos, seis repetições e oito animais por unidade experimental, segundo arranjo fatorial dos tratamentos (ausência ou presença de ácido fumárico x ausência ou presença da mistura de acidificantes). As variáveis consideradas para formação dos blocos foram o peso e o sexo dos animais.

Os parâmetros avaliados foram o consumo diário de ração, ganho diário de peso e a conversão alimentar, nos períodos experimentais de 0 a 14, 0 a 28 de 0 a 42 dias pós desmame. Durante os primeiros 14 dias do experimento foi avaliada a incidência de diarreia, duas vezes ao dia, sempre pelo mesmo observador. Considerou-se diarreia quando, visualmente, as fezes apresentavam consistência fluída. Os valores de incidência de diarreia, calculados como percentual médio dos animais com diarreia na baia (p), foram submetidos à transformação angular: $p' = \arcsen[\sqrt{(p/100)}]$, para posterior análise de variância. Vale ressaltar que os animais foram alojados em baias que não passaram por desinfecção prévia, sendo desafiados sanitariamente.

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o procedimento GLM (General Linear Models) do SAS (Statistical Analysis System) 9.0 (2002).

O pH das dietas foi avaliado de acordo com a seguinte metodologia: 5g da amostra de ração foi pesada em Becker de 100mL. Em seguida foi adicionando aproximadamente 25mL de água deionizada e realizada a mistura com bastão de vidro. Após a homogeneização, a amostra ficou em repouso por 30 minutos. Em seguida, foi realizada leituras no peagômetro (AOAC, 1990).

EXPERIMENTO II

O experimento II foi realizado na Unidade Experimental de Suínos da FMVZ UNESP, Câmpus de Botucatu – SP. Foram utilizados 12 leitões machos (castrados) e 12 fêmeas, de genética comercial, desmamados com média de 21 dias de idade e peso inicial médio de $6,46 \pm 0,24$ kg, alojados em sala de creche em baias metálicas suspensas de 1,0 x 1,75 m. As baias possuem piso ripado e são equipadas com comedouros, bebedouros tipo chupeta e campânulas de aquecimento.

O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso com quatro tratamentos, seis repetições e um animal por unidade experimental. O experimento teve duração de 14 dias, período em que os animais receberam a dieta Pré-Inicial I (PI) (Tabela 1) e os tratamentos foram os mesmos definidos no experimento I.

No 14º dia do experimento todos os leitões foram abatidos, após insensibilização elétrica. Imediatamente após o abate, o trato gastrointestinal (com conteúdo) foi pesado em conjunto e na sequência foram pesados vazios o estômago, intestino delgado, ceco, intestino grosso, fígado, pâncreas, baço e rins para avaliação do peso relativo.

Para a retirada dos órgãos digestivos foi realizada uma incisão longitudinal na cavidade abdominal. Os órgãos foram lavados para retirada do conteúdo da digesta e colocados sobre peneiras para drenagem do excesso de umidade e em seguida pesados para determinação do peso absoluto e, com base no peso do animal vazio (peso vivo menos conteúdo de digesta), foram calculados os pesos relativos dos órgãos.

Também foi realizada a medição do pH dos conteúdos do estômago, jejuno, íleo e cólon imediatamente após o abate dos animais, com auxílio de um medidor de pH portátil, modelo mPA 210 P.

O ceco de cada animal foi retirado com conteúdo e armazenado em caixas de isopor contendo gelo, para posterior análise em laboratório. Para a contagem de coliformes totais e *Escherichia coli* foram colhidos 10 g do conteúdo do ceco, sendo a seguir adicionados 90 mL de solução salina 0,85% e realizada a homogeneização em “stomacher” por dois minutos, obtendo-se assim a diluição 10⁻¹. A partir desta, foram preparadas diluições decimais seriadas, sendo que de cada uma delas foi transferido 1 mL para placas de *Petrifilm* ECTM e, em seguida, incubadas a 35 °C por 24 h (AOAC, 2000). A contagem de *Lactobacillus* spp foi realizada a partir das diluições decimais seriadas, descritas para a contagem de *Escherichia coli*, transferindo-se 0,1 mL para placas de Petri contendo meio Man-Rogosa-Sharpe (semeadura de superfície), sendo as mesmas incubadas a 30 °C por cinco dias em estufa com atmosfera contendo 5% de gás carbônico (DOWNES & ITO, 2001). Os dados de população microbiana foram expressos em log na base 10.

Para as análises de morfometria intestinal, foram coletadas amostras de aproximadamente 1,5 cm da porção inicial do duodeno e do jejuno, que foram imersas em solução fixadora de formol 10,0%, onde permaneceram por 48 horas. Ao final das 48 horas, as amostras foram lavadas em álcool etílico 70,0%, e em seguida desidratadas em álcool etílico com concentrações crescentes. Após esse processo, foram recortados fragmentos de cerca de 1,0 cm de cada segmento, diafanizados em benzol e incluídos em parafina. Para cada animal, foram realizados quatro cortes semi-seriados de 5 µm de espessura de cada segmento (duodeno e jejuno).

Após processados, os cortes histológicos foram colocados em lâminas, corados com hematoxilina e eosina, e analisados em microscópio de luz para altura e largura média de vilosidades e profundidade média de criptas, utilizando software Leica Qwin.

Para cada animal e cada segmento foram realizadas 30 leituras para cada parâmetro estabelecido. O resultado final foi a média das 30 leituras.

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para avaliação da densidade de vilosidades. Amostras do duodeno e do jejuno, coletadas após o abate, foram fixadas em glutaraldeído 3,0%, lavadas em solução tampão cacodilato de sódio 0,1M e pH 7,2 e pós fixadas em tetróxido de ósmio a 1,0%.

Após essa etapa, as amostras foram lavadas no mesmo tampão e desidratadas em séries crescentes de etanol. Em seguida, foi realizada a embebição dos tecidos em solução de acetato de isoamila por três horas.

A secagem do material foi realizada obtendo-se o ponto crítico com dióxido de carbono (CO₂) líquido, em secadora de ponto crítico modelo SEM 850. Para a metalização com ouro foi utilizado o aparelho DENTON VACUM modelo Desk II.

As amostras foram montadas sobre suporte de cobre de um centímetro de diâmetro e espessura, utilizando-se fita adesiva metálica e em seguida foram observadas e eletronicografadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM 5410, operado a 15kv. Foram feitas quatro eletronicografias por amostra para contagem das vilosidades e posterior cálculo da densidade de vilosidades (vilosidades/mm²) e área de absorção (mm²).

Para a determinação da área de absorção, foi utilizada a metodologia descrita por SKRZYPEK et al. (2010). A área de absorção foi calculada e multiplicada pelo número de vilos, de acordo com a seguinte fórmula:

$A = \pi r^2 + 2\pi rh$, em que r é a média do raio do vilo (largura do vilo/2) e h é a altura média do vilo.

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o procedimento GLM (General Linear Models) do SAS (Statistical Analysis System) 9.0 (2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

EXPERIMENTO I

O uso de acidificantes determinou redução nos valores de pH das dietas estudadas, sendo essa redução de forma crescente para a mistura de acidificantes, ácido fumárico e a combinação do ácido fumárico com a mistura de acidificantes (Tabela 4).

Não houve interação e nem efeito dos fatores principais ($P > 0,05$) sobre o consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP), conversão alimentar (CA) e índice de diarreia (ID) dos leitões (Tabela 5) em nenhum dos períodos estudados.

Esses resultados corroboram aqueles obtidos por GOMES et al. (2011) que constataram que a adição de 0,5% de ácido fumárico e sua combinação com ácido láctico (0,5%) e propionato de cálcio (0,5%) não melhorou o desempenho de leitões desmamados aos 15 dias. Do mesmo modo, ZENTEK et al. (2013) também não encontraram efeito no crescimento de leitões após o desmame quando receberam dieta contendo mistura de ácidos graxos de cadeia média (cáprico e caprílico).

Por outro lado, a adição nas dietas de leitões desmamados de ácidos orgânicos e seus sais isoladamente, como ácido fumárico (GIESTING & EASTER, 1991), ácido láctico (TSILOYIANNIS et al., 2001; SILVA, 2002), formiato de cálcio (PARTANEN & MROZ, 1999; BOSI et al., 2005), ou em combinação como ácido láctico, ácido fórmico e ácido fosfórico (FREITAS et al., 2006) têm resultado em benefícios no desempenho, enquanto outras pesquisas tem demonstrado respostas negativas no

desempenho de leitões resultantes do uso de ácido fórmico (MANZANILLA et al., 2004) e mistura de ácidos fumárico e fórmico (GOMES et al., 2007).

A divergência nas respostas ao uso de acidificantes nas dietas de leitões recém-desmamados pode estar relacionada às diferenças na composição em matérias primas das dietas experimentais.

No presente estudo, as dietas oferecidas durante todo o experimento tinham alta inclusão de proteínas de origem animal e de lactose, que pode ser utilizada como substrato pelos microrganismos presentes no trato digestivo, como *Lactobacillus*, para a produção de ácido láctico, que exerce função de redução do pH. OWSLEY et al. (1988) observaram que a utilização de dietas mais simples, a base de milho e farelo de soja e com menor inclusão de produtos lácteos, favoreceu a manifestação dos efeitos positivos determinados pela inclusão de acidificante.

Outros fatores determinantes das variações nos resultados de pesquisas com acidificantes são a palatabilidade das dietas, que pode inibir ou estimular o consumo, capacidade tamponante e nível de adição de acidificantes nas dietas e idade do animal (RAVINDRAN & KORNEGAY, 1993). No presente estudo, pode-se considerar que a adição dos ácidos orgânicos às dietas não influenciou na palatabilidade, uma vez que o consumo de ração foi dentro do esperado, não havendo diferença entre os tratamentos.

A adição dos antibióticos e de agentes antimicrobianos, com cobre e zinco, também influenciou na ausência de respostas dos acidificantes, pois atuam de forma similar a esses produtos. Outro fator importante foi o peso elevado de desmame dos leitões, que pode significar animais mais maduros e sadios, reduzindo a resposta por parte dos ácidos orgânicos.

A disponibilização da ração para os leitões ainda na maternidade auxilia no desenvolvimento das atividades das enzimas digestivas, melhorando o aproveitamento da dieta pelos leitões desmamados (LINDEMANN et al., 1986). Os animais deste experimento receberam ração pré-inicial na maternidade, o que pode ter contribuído para a ausência de respostas aos acidificantes, uma vez que, segundo RADECKI et al. (1988) essa prática de manejo pode afetar a eficiência dos ácidos orgânicos, já que o consumo da ração ainda na maternidade pode acelerar o amadurecimento do sistema digestório dos leitões, promovendo melhor adaptação ao desmame.

Não foi observada diferença ($P>0,05$) na frequência de diarreia entre os animais nos diferentes tratamentos (Tabela 5). Resultados contrários foram obtidos por TSILOYIANNIS et al. (2001), que trabalhando com dietas suplementadas com ácido láctico, ácido cítrico e antibiótico melhorador de desempenho verificaram redução na incidência de diarreia.

FREITAS et al. (2006), observaram redução na incidência de diarreia em leitões que receberam dietas contendo 0,84% de ácidos orgânicos e MAZZONI et al. (2004) e BOSI et al. (2005), trabalhando com dietas suplementadas com formiato de cálcio encontraram redução na severidade e escore de diarreia em leitões desmamados, contrariando os resultados do presente estudo, que por sua vez, concorda com os obtidos por RISLEY et al. (1993) e BRAZ et al. (2011), que também avaliaram dietas contendo combinações de ácidos orgânicos para leitões e não observaram diferença na ocorrência de diarreia.

A média de temperatura foi considerada alta durante o período experimental ($27,5^{\circ}\text{C}$), submetendo os animais a um estresse térmico, o que, provavelmente, contribuiu para agravar o quadro de diarreia. Apesar disso, o desempenho dos animais

foi satisfatório. A diarreia, um dos problemas mais graves em leitões desmamados, é caracterizada pela perda de solutos e água, levando à depleção de eletrólitos, desequilíbrio ácido-básico e desidratação, que pode ser fatal se não tratada adequadamente (ZLOTOWSKI et al., 2008). A utilização de aditivos, como os ácidos orgânicos e seus sais visa reduzir ou até eliminar os problemas de diarreia pós-desmame, atuando no controle de bactérias patogênicas (ROSELLI et al., 2005).

O fato dos animais terem sido alojados em baias que não passaram por desinfecção, ou seja, foram alojados em situação de desafio sanitário, nesse caso considerado baixo, pois a construção ficou fechada, sem animais, no presente experimento, sugere que a utilização da mistura de acidificantes ou do ácido fumárico foram ineficientes em reduzir a frequência de diarreia em leitões mantidos nessa situação de baixo desafio sanitário.

EXPERIMENTO II

Não houve interação ácido fumárico x mistura de acidificantes para os valores de pH do estômago, jejuno, íleo, cólon e reto. Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) nas variáveis analisadas entre os leitões submetidos aos diferentes tratamentos (Tabela 6).

O pH do estômago variou de 3,10 a 3,68, valores que estão dentro da faixa de atuação da pepsina, que é de 1 a 4 (YAMAMOTO, 1975). GOMES et al. (2011) trabalhando com dietas suplementadas com 0,5% de ácido fumárico e 0,5% ácido fumárico + 1,0% ácido láctico encontraram valores de pH gástrico de 4,13 e 4,23 respectivamente, em leitões com 38 dias de idade, porém sem diferença estatística.

A ausência de efeitos do uso de acidificantes nas dietas sobre o pH da digesta do estômago (RISLEY et al., 1992; FREITAS et al., 2006; BOSI et al., 2007; BRAZ et al., 2011), duodeno (BOSI et al., 2007), jejuno (RISLEY et al., 1992) e íleo (GABERT & SAUER, 1995; BOSI et al., 2007), a semelhança do que observado no presente experimento, sugere não ser esse o modo de ação mais eficiente dos acidificantes. Entretanto, algumas pesquisas têm demonstrado eficiência dos acidificantes em reduzir o pH da digesta no estômago (THOMLINSON & LAWRENCE, 1981; BOLDUAN et al., 1988; MARIBO et al., 2000), ceco (MARIBO et al., 2000) e cólon (MARIBO et al., 2000; NAMKUNG et al., 2004).

A redução do pH da digesta limita o desenvolvimento de microrganismos patogênicos, como a *E. coli*, que não sobrevive em condições de pH ácido (BARCELOS & SOBESTIANSKY, 1998), mas normalmente cresce em faixa de pH variando de 5,0 a 9,0 (ZILBERSTEIN et al., 1984).

As diferenças nos valores de pH encontrados nos segmentos do trato digestório podem ocorrer em função do local em que foram realizadas as determinações, bem como da técnica utilizada e do tempo após a ingestão de alimentos (FERREIRA, 1986). No presente estudo a coleta foi realizada logo após o abate dos animais, que não foram submetidos a período de jejum.

Outro fator que pode ter influenciado nas respostas dos acidificantes foi a inclusão da lactose às rações. A lactose é utilizada como substrato pelos *Lactobacillus* para produção de ácido lático, que por sua vez exerce a função de redução de pH.

Não houve efeito da interação e nem do ácido fumárico ou da mistura de acidificantes ($P > 0,05$) sobre os pesos relativos do estômago, intestino delgado, ceco, fígado, baço e rins, contudo, a adição de ácido fumárico na dieta determinou menor

peso relativo do pâncreas ($P=0,009$) enquanto adição da mistura de acidificantes resultou em maior peso relativo do intestino grosso ($P=0,009$) (Tabela 7).

Resultados semelhantes foram encontrados por BHANDARI et al. (2008), que ao adicionarem mistura de ácidos orgânicos na dieta de leitões não verificaram efeito sobre o peso relativo do baço. O peso dos órgãos varia em função do consumo de energia e/ou proteína (RAO & MCCRACKEN, 1992). As dietas utilizadas neste experimento foram isoproteicas e com teores semelhantes de energia metabolizável, o que poderia justificar o fato de não terem sido encontradas diferenças nos pesos relativos do estômago, intestino delgado, ceco, fígado, baço e rins.

Não houve efeito da interação ácido fumárico x mistura de acidificantes para nenhuma das variáveis morfométricas e nem efeito dos fatores principais ($P>0,05$) sobre a altura de vilosidades (AV) do duodeno e sobre a largura de vilosidades (LV), profundidade de cripta (PC), relação altura de vilosidades:profundidade de cripta (AV:PC) e área de absorção do duodeno e do jejuno (Tabelas 8 e 9).

A altura das vilosidades do jejuno de leitões alimentados com dieta contendo ácido fumárico foi menor ($P=0,009$) em relação aos animais que receberam dieta sem ácido fumárico, entretanto, a área de absorção do jejuno (Tabela 9) foi semelhante, indicando que a presença de ácido fumárico na dieta determinou aumento na densidade de vilos.

Ao avaliarem as inclusões de 0,5 e 1,0% de ácido fumárico na dieta GOMES et al. (2007) não encontraram efeito nas características morfométricas do intestino delgado de leitões. Em contrapartida, BOSI et al. (2007) trabalhando com formiato de cálcio, relataram maiores valores de altura das vilosidades no intestino delgado de leitões desmamados com idade de 21 dias.

Ocorre redução na altura das vilosidades no intestino de leitões desmamados, acentuando-se no terceiro e sétimo dias pós-desmame (CERA et al., 1988) e a intensidade das alterações intestinais está mais associada à qualidade dos ingredientes utilizados na formulação das dietas (LI et al., 1990) e a quantidade de alimento ingerido (VAN BEERS-SCHREURS et al., 1998).

As reduções na altura das vilosidades ocorrem principalmente devido ao aumento na taxa de descamação celular (THOMAZ et al., 2002) predispondo os animais a má absorção dos nutrientes, diarreia e possível desidratação (SCANDOLERA et al., 2005). Valores mais elevados de relação altura de vilosidade/profundidade de cripta indicam presença de maior quantidade de enterócitos maduros e funcionais (TUCCI et al., 2011), o que resulta em melhor digestão e absorção de nutrientes da dieta, além de indicar menores injúrias da mucosa intestinal.

Durante o período experimental, os animais foram mantidos em ambiente controlado, com boas condições de temperatura e higiene, além de receberem ração pré-inicial com alta inclusão de lactose, o que ajuda a amenizar o estresse do desmame, resultando em menores alterações da mucosa intestinal (FIGUEIREDO et al., 2003; THOMAZ et al., 2011).

A capacidade de absorção de nutrientes é proporcional à densidade e ao tamanho das vilosidades, ou seja, à área de absorção (MACARI, 1995). SKRZYPEK et al. (2010) trabalharam com leitões do nascimento até os 14 dias de idade e estimaram valores médios para área de absorção do duodeno e jejuno de, respectivamente, 9,3 e 14,4 mm²/mm² para os leitões com 14 dias de idade, valores que foram superiores aos encontrados no presente estudo, para leitões com idade média de 35 dias. Entretanto,

também verificaram que a área de absorção intestinal aumentou rapidamente até por volta do sétimo dia de idade e se reduziu no 14º dia de vida.

A utilização de ingredientes que contêm fatores antinutricionais e/ou proteínas antigênicas na dieta promove alterações na mucosa intestinal, incluindo danos às vilosidades, que prejudicam a absorção de nutrientes (CHAMONE et al., 2010). As dietas utilizadas no presente experimento eram compostas, em sua maioria, por ingredientes de alta digestibilidade, o que pode ter contribuído para a ausência de efeitos do uso dos acidificantes para a maioria das variáveis analisadas.

Não houve interação ácido fumárico x mistura de acidificantes para a contagem de microrganismos e nem efeito sobre a contagem de *Lactobacillus* (Tabela 10), contudo, os animais que receberam a dieta contendo ácido fumárico apresentaram menor contagem ($P < 0,05$) de coliformes totais e *E. Coli*, comprovando a capacidade antimicrobiana do ácido. Com a redução na contagem de coliformes totais, era esperada redução também na contagem de *E. Coli*, uma vez que esses microrganismos constituem a maior parte dos coliformes totais. Esses resultados são contrários aos obtidos por RISLEY et al. (1992), que não verificaram redução na contagem de *E. coli* no ceco de leitões desmamados que receberam dieta contendo 1,5% de ácido fumárico. No entanto, estão de acordo com resultados de pesquisas em que a presença de acidificantes nas dietas de leitões desmamados determinou redução na contagem de *E. coli* nas fezes (TSILOYIANNIS et al., 2001; KNARREBORG et al., 2002).

A ausência de repostas a mistura de acidificantes confirma os resultados obtidos por WALSH et al. (2007) que avaliaram uma combinação de ácidos orgânicos e não verificaram redução na quantidade de *E. coli* no conteúdo fecal de leitões desmamados, bem como aqueles observados por TORRALLARDONA et al. (2007) que estudaram

dieta com inclusão de 1,8% de formiato de cálcio para leitões desmamados e não encontraram diferença na contagem de *E. coli* no ceco e íleo em relação aos demais tratamentos. BHANDARI et al. (2008) trabalhando com leitões desmamados aos 17 dias de idade e analisando combinações de ácidos orgânicos na dieta, também não encontraram diferenças na contagem de *E. coli* no íleo e no ceco, entre os diferentes tratamentos, ressaltando que o número baixo de repetições e a variabilidade inerente ao pós-desmame pode ter ocasionado a falta de respostas. Além disso, a falta de respostas na redução de coliformes totais e *E. coli* pode, em parte, ser explicada pela baixa inclusão da mistura de acidificantes às dietas (0,3%) no presente experimento.

CONCLUSÃO

Considerando as respostas de desempenho, pH da digesta, peso relativo de órgãos e morfometria intestinal, a inclusão de ácido fumárico e da mistura de acidificantes nas dietas de leitões desmamados contendo antibiótico melhorador de desempenho não se justifica, contudo, o ácido fumárico exerce ação inibitória sobre a população de coliformes totais e de *Escherichia coli*.

REFERÊNCIAS

- AOAC. **Official methods of analysis**. Washington, 1990. v. 15.
- AOAC. Method 998.08. In: **Official methods of analysis of AOAC international**. Washington, 2000. p.39-40.
- BARCELOS, D.; SOBESTIANSKY, J. **Uso de antimicrobianos em suinocultura**. Goiânia: UFG, 1998. 107 p.

BARROW, P. A.; FULLER, R.; NEWPORT, M. J. Changes in the microflora and physiology of the anterior intestinal tract of pig weaned at 2 days with special reference to the pathogenesis of diarrhea. **Infection and Immunity**, v.18, p.586-595, 1977.

BARNETT, K. L.; KORNEGAY, E. T.; RISLEY, C. R.; LINDEMANN, M. D.; SCHURIG, G. G. Characterization of creep feed composition and its subsequent effects on immune response, scouring index and performance of weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v.67, p.2698-2708, 1989.

BHANDARI, S. K.; XU, B.; NYACHOTI, C. M.; GIESTING, D. W.; KRAUSE, D. O. Evaluation of alternatives to antibiotics using an *Escherichia coli* K88+ model of piglet diarrhea: Effects on gut microbial ecology. **Journal of Animal Science**, v.86, p.836-847, 2008.

BLANK, R.; SAUER, W. C.; MOSENTHIN, R.; ZENTEK, J.; HUANG, S.; ROTH, S. Effect of fumaric acid supplementation and dietary buffering capacity on the concentration of microbial metabolites in ileal digesta of young pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v.81, p.345-353, 2001.

BOLDUAN, VON G.; JUNG, H.; SCHNEIDER, R.; BLOCK, J.; KLENKE, B. Influence of propionic- and formic acid on piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 59, p. 72-78, 1988.

BOSI, P.; SARLI, G.; CASINI, L.; DE FILIPPI, S.; TREVISI, P.; MAZZONI, M.; MERIALDI, G. Effect of dietary addition of free or fat-protected calcium formate on growth, intestinal morphology and health of *Escherichia coli* k88 challenged weaning pigs. **Italian Journal Animal Science**, v.4, p.452-454, 2005.

BOSI, P.; SARLI, G.; CASINI, L.; DE FILIPPI, S.; TREVISI, P.; MAZZONI, M.; MERIALDI, G. The influence of fat protection of calcium formate on growth and

intestinal defence in *Escherichia coli* K88-challenged weanling pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.139, p.170-185, 2007.

BRAZ, D. B.; COSTA, L. B.; BERENCHTEIN, B.; TSE, M. L. P.; ALMEIDA, V. V.; MIYADA, V. S. Acidificantes como alternativa aos antimicrobianos promotores do crescimento de leitões. **Archivos de Zootecnia**, v.60, p.745-756, 2011.

CERA, K. R.; MAHAN, D.C.; CROSS, R.F. Effect of age, weaning and post-weaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. *The Journal of Animal Science*, v.66, n.2, p.574-584, 1988.

CHAMONE, J. M. A.; MELO, M. T. P.; AROUCA, C. L. C.; BARBOSA, M. M.; SOUZA, F. A.; SANTOS, D. Fisiologia digestiva de leitões. *Nutritime*, v.7, n.5, p.1353-1363, 2010.

CHERRINGTON, C. A.; HINTON, M.; MEAD, G. C.; CHOPRA, I. Organic acids: chemistry, antibacterial activity and practical applications. **Advances in Microbial Physiology**, n.32, p.87-108, 1991.

COSTA, L. B.; ALMEIDA, V. V.; BERENCHTEIN, B.; TSE, M. L. P.; ANDRADE, C.; MIYADA, V. S. Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como alternativas aos antibióticos para leitões desmamados. **Archivos de Zootecnia**, v.231, n.60, p.733-744, 2011.

DOWNES, F. P.; ITO, K. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: APHA, 2001. 676 p.

FERREIRA, A. S. **Estimativa de produção e composição de leite de porca e aleitamento artificial de leitões**. 1986. 121 f. Tese (Doutorado em Nutrição de Monogástricos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1986.

FIGUEIREDO, A. N.; MIYADA, V. S.; UTIYAMA, C. E.; LONGO, F. A. Ovo em pó na alimentação de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p. 1901-1911, 2003.

FREITAS, L. S.; LOPES, D. C.; FREITAS, A. F.; CARNEIRO, J. C.; CORASSA, A.; PENA, S. M.; COSTA, L. F. Avaliação de ácidos orgânicos em dietas para leitões de 21 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecni**, v.35, p.1711-1719, 2006.

GABERT, V. M.; SAUER, W. C. The effect of fumaric acid and sodium fumarate supplementation to diets for weanling pigs on amino acid digestibility and volatile fatty acid concentration in ileal digesta. **Animal Feed Science and Technology**, v. 53, p. 243-254, 1995.

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, p. 1288-1294, 1985.

GIESTING, D. W.; EASTER, R. A. Effect of protein source and fumaric acid supplementation on apparent ileal digestibility of nutrients by young pigs. **Journal of Animal Science**, v.69, p.2497-2503, 1991.

GOMES, F. E.; FONTES, D. O.; SALIBA, E. O. S. 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.59, n.5, p.1270-1277, 2007.

GOMES, F. E.; FONTES, D. O.; VASCONCELLOS, C. H. F.; SILVA, F. C. O. Ácido fumárico e sua combinação com ácido láctico ou propionato de cálcio em dietas de leitões recém-desmamados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.3, p.678-686, 2011.

KNARREBORG, A.; MIQUEL, N.; GRANLI, T. Establishment and application of an in vitro methodology to study the effects of organic acids on coliform and lactic acid bacteria in the proximal part of the gastrointestinal tract of piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v.99, p.131-140, 2002.

LI, D. F.; NELSSSEN, J. L.; REDDY, P. G.; BLECHA, F.; HANCOCK, J. D.; ALLEE, G. L.; GOODBAND, R. D.; KLEMM, R. D. Transient hypersensitivity to soybean meal in the early-weaned pig. **Journal of Animal Science**, v.68, n.6, p.1790-1799, 1990.

LINDEMANN, M. D.; CORNELIUS, S. G.; KANDELGY, S. M.; MOSER, R. L.; PETTIGREW, J. E. Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme levels in the piglet. **Journal of Animal Science**, v.62, n.5, p.1298-1307, 1986.

MACARI, M. Mecanismos de proliferação e reparação da mucosa gastrintestinal em aves. In: SIMPÓSIO DE COCCIDIOSE E ENTERITE, 1., 1995, Campinas. **Anais... Campinas**, 1995.

MANZANILLA, E. G.; PEREZ, J. F.; MARTIN, M.; KAMEL, C.; BAUCCELLS, F.; GASA, J. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v.82, p.3210-3218, 2004.

MARIBO, H.; JENSEN, B. B.; HEDEMANN, M. S. **Different doses of organic acids for weaned piglets. Denmark: The National Committee for Pig Production, Danish Bacon and Meat Council**, 2000. (Report n. 469).

MAZZONI, M.; LALATTA COSTERBOSA, G.; CASINI, L.; PETROSINO, G.; TREVISI, P.; DE FILIPPI, S.; BOSI, P. La morfologia dello stomaco come parâmetro di valutazione dell'impiego di acidificante nella dieta del suino in svezzamento. **Società Italiana delle Scienze Veterinarie**, v.56, p.240, 2004.

NAMKUNG, H.; LI, M.; GONG, J.; YU, H.; COTTRILL, M.; LANGE, C. F. M. Impact of feeding blends of organic acids and herbal extracts on growth performance, gut microbiota and digestive function in newly weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v.84, p.697-704, 2004.

OWSLEY, W. F.; HAYDON, K. D.; JONES, R. D. Effects of organic acid addition and diet complexity on performance of pigs weaned at 28 days. **Journal of Animal Science**, v.66, p.41, 1988.

PARTANEN, K. H.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**, v.12, p.177-145, 1999.

PARTANEN, K. H. Using organic acids in pig feeding as an alternative to antibiotics feed additives. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS E TECNOLOGIA NA PRODUÇÃO DE RAÇÕES, 2002, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2002. p.45-62.

RADCLIFFE, J. S.; ZHANG, Z.; KORNEGAY, E. T. The effects of microbial phytase, citric acid, and their interaction in a corn-soybean meal-based diet for weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v.76, n.7, p.1880-1886, 1998.

RADECKI, S. V.; JUHL, M. R.; MILLER, E. R. Fumaric and citric acids feed additives in starter pig diets: effect on performance and nutrient balance. **Journal of Animal Science**, v.66, n.6, p.2598-2605, 1988.

RAO, D. S.; McCracken, K. J. Energy: protein interactions in growing boars on high genetic potential for lean growth: 1 effects on growth, carcass characteristics and organ weights. **Animal Production**, v.54, p.75-82, 1992.

RAVINDRAN, V.; KORNEGAY, E. T. Acidification of weaner pig diets: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.62, p.313-322, 1993.

RISLEY, C. R.; KORNEGAY, E. T.; LINDEMANN, M. D.; WOOD, C. M.; EIGEL, W. N. Effects of feeding organic acids on selected intestinal content measurements at varying times postweaning in pigs. **Journal of Animal Science**, v.70, p.196-206, 1992.

RISLEY, C. R.; KORNEGAY, E. M.; LINDEMANN, M. D.; WOOD, C. M.; EIGEL, W. N. Effect of feeding organic acids on gastrointestinal digesta measurements at various times post-weaning in pigs challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Canadian Journal of Animal Science**, v.73, p.931-940, 1993.

ROSELLI, M.; FINAMORE, A.; BRITTI, M. S.; BOSI, P.; OSWALD, I.; MENGHERI, E. Alternatives to in-feed antibiotics in pigs: evaluation of probiotics, zinc or organic acids as protective agents for the intestinal mucosa. A comparison of in vitro and in vivo results. **Animal Research**, n.54, p.203-218, 2005.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2011. 252 p.

SCANDOLERA, A. J.; THOMAZ, M. C.; KRONKA, R. N.; FRAGA, A. L.; BUDIÑO, F. E. L.; ROBLES-HUAYNATE, R. A.; RUIZ, U. S.; CRISTANI, J. Efeitos de fontes protéicas na dieta sobre morfologia intestinal e desenvolvimento pancreático de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, supl., p.2355-2368, 2005.

SILVA, M. C. Efeito da adição de acidificantes e suas combinações na alimentação de leitões desmamados sobre o desempenho. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002.

SKRZYPEK, T.; VALVERDE PIEDRA, J. L.; SKRZYPEK, H.; KAZIMIERCZAK, W.; SZYMANCZYK, S. E.; ZABIELSKI, R. Changes in pig small intestinal absorptive área during the first 14 days of life. **Livestock Science**, v.133, p.53-56, 2010.

STATISTICAL ANALYSIS SISTEM. **SAS language reference**. Version 9.0. Cary, 2002.

THOMAZ, M. C.; TUCCI, F. M.; KRONKA, R. N. Efeitos da adição de glutamina, ácidos graxos poliinsaturados ou parede celular de levedura na dieta de leitões desmamados sobre a estrutura do intestino delgado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnica, 2002.

THOMAZ, M. C.; HANNAS, M. I.; KRONKA, R. N.; TUCCI, F. M.; SCANDOLERA, A. J.; BUDIÑO, F. E. L. Plasma suíno e ovo inteiro em rações de leitões desmamados sobre a estrutura e ultra-estrutura da mucosa intestinal. **ARS Veterinária**, v.27, n.4, p.246-254, 2011.

THOMLINSON, J. R.; LAWRENCE, T. L. J. Dietary manipulation of gastric pH in the profilaxis of enteric disease in weaned pigs. Some field observations. **Veterinary Record**, v.109, p.120-122, 1981.

TORRALLARDONA, D.; CONDE, R.; BADIOLA, I.; POLO, J. Evaluation of spray dried animal plasma and calcium formate as alternatives to colistin in piglets experimentally infected with *Escherichia coli* k99. **Livestock Science**, v.108, p.303-306, 2007.

TSILOYIANNIS, V. K.; KYRIAKIS, S. C.; VLEMMAS, J.; SARRIS, K. The effect of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhea. **Research in Veterinary Science**, v.70, p.287-293, 2001.

TUCCI, F. M.; THOMAZ, M. C.; NAKAGHI, L. S. O.; HANNAS, M. I.; SCANDOLERA, A. J.; BUDIÑO, F. E. L. Efeito da adição de agentes tróficos na dieta de leitões desmamados sobre a estrutura e ultraestrutura do intestino delgado e sobre o desempenho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.4, p.931-940, 2011.

VAN BEERS-SCHREWS, H. M. G.; NABUURS, M. J. A.; VELLENGA, N.; VAN DER KALSBEK, V. H. J.; WENSING, T.; BREUKINK, H. J. Weaning and the weanling diet influence the villous height and crypt depth in the small intestine of pigs and alter the concentrations of short-chain fatty acids in the large intestine and blood. **The Journal of Nutrition**, v.128, n.6, p.947-953, 1998.

VENTE-SPREEUWENBERG, M. A. M.; VERDONK, J. M. A. J.; VERSTEGEN, M. W. A.; BEYNEN, A. C. Villus height and gut development in weaned piglets receiving diets containing either glucose, lactose or starch. **British Journal of Nutrition**, v.90, n.4, p.907-913, 2003.

WALSH, M. C.; SHOLLY, D. M.; HINSON, R. B.; TRAPP, S. A.; SUTTON, A. L.; RADCLIFFE, J. S.; SMITH II, J. W.; RICHERT, B. T. Effects of acid LAC and Kem-Gest acid blends on growth performance and microbial shedding in weanling piglets. **Journal of Animal Science**, v.85, p.459-467, 2007.

YAMAMOTO, A. Proteolytic enzymes. In: REED, G. **Enzymes in food processing**. 2. ed. London: Academic, 1975. p.123-179.

ZENTEK, J.; FERRARA, F.; PIEPER, R.; TEDIN, L.; MEYER, W.; VAHJEN, W. Effects of dietary combinations of organic acids and medium chain fatty acids on the gastrointestinal microbial ecology and bacterial metabolites in the digestive tract of weaning piglets. **Journal of Animal Science**, v.91, p. 3200-3210, 2013.

ZILBERSTEIN, D.; AGMON, V.; SCHULDINER, S.; PADAN, E. 1984. Escherichia coli intracellular pH, membrane potential, and cell growth. *Journal of Bacteriology*, v.158, p.246-252, 1984.

ZLOTOWSKI, P.; DRIEMEIER, D.; BARCELLOS, D. E. S. N. Patogenia das diarreias dos suínos: modelos e exemplo. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.36, p.81-86, 2008.

Tabela 1 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações Pré-Iniciais I, fornecidas aos leitões dos 21 aos 35 dias de idade.

Ingredientes	Tratamentos			
	Controle	AF ¹	MA ²	AF+MA ³
Milho	31,70	31,70	31,70	31,70
Farelo de soja	25,00	25,00	25,00	25,00
Resíduo bolacha/biscoito	10,00	10,00	10,00	10,00
Plasma sanguíneo	1,20	1,20	1,20	1,20
Soro de leite	12,00	12,00	12,00	12,00
Concentrado energético ⁴	3,00	3,00	3,00	3,00
Levedura de cana-de-açúcar	1,00	1,00	1,00	1,00
Milho pré-gelatinizado	3,37	3,37	3,37	3,37
Extrusado de soja e vísceras ⁵	8,00	8,00	8,00	8,00
Premix vit. e mineral ⁶	0,40	0,40	0,40	0,40
Fosfato bicálcico (18%)	1,08	1,08	1,08	1,08
Calcário calcítico (37%)	0,25	0,25	0,25	0,25
Sal comum	0,21	0,21	0,21	0,21
Edulcorante ⁷	0,30	0,30	0,30	0,30
Inerte	1,10	0,30	0,80	-
Ácido fumárico	-	0,80	-	0,80
Mistura de acidificantes ⁸	-	-	0,30	0,30
Colistina 4%	0,10	0,10	0,10	0,10
Óxido de zinco (73%)	0,29	0,29	0,29	0,29
Sulfato de cobre	0,07	0,07	0,07	0,07
L-Lisina (80%)	0,49	0,49	0,49	0,49
DL-Metionina (99%)	0,22	0,22	0,22	0,22
L-Treonina (98%)	0,17	0,17	0,17	0,17
L-Triptofano (99%)	0,03	0,03	0,03	0,03
Total kg	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis Nutricionais Calculados				
Energia metabolizável, kcal/kg ⁹	3411	3411	3411	3411
Proteína bruta, %	21,86	21,86	21,86	21,86
Cálcio, %	0,69	0,69	0,69	0,69
Fósforo disponível, %	0,46	0,46	0,46	0,46
Lisina digestível, %	1,46	1,46	1,46	1,46
Metionina digestível, %	0,52	0,52	0,52	0,52
Treonina digestível, %	1,12	1,12	1,12	1,12
Triptofano digestível, %	0,24	0,24	0,24	0,24
Lactose total, %	10,00	10,00	10,00	10,00

¹Ácido fumárico ²Mistura de acidificantes ³Ácido fumárico + mistura de acidificante ⁴Energipig: milho integral moído, soja integral extrusada, farelo de bolacha, germen de milho, aroma de baunilha, lecitina de soja, aditivo enzimático, ácido propiônico, glutamato monossódico, etoxiquin, B.H.T ⁵Energy ⁶Níveis de garantia por kg de ração: Vit. A – 4.000 U.I.; Vit. D3 – 220 U.I.; Vit. E – 22 mg; Vit. K – 0,5 mg; Vit B2 – 3,75 mg; Vit. B12 – 20 µg; Pantotenato de cálcio – 12 mg; Niacina – 20 mg; Colina – 60 mg; Iodo – 140 µg; Selênio – 300 µg; Manganês – 10 mg; Zinco – 100 mg; Cobre – 10 mg; Ferro – 99 mg. Valores nutricionais dos ingredientes, propostos por ROSTAGNO et al. (2011). ⁷Flavofix: Níveis de garantia por kg de ração: neosperidina – 1.200,00mg/kg.; sacarina sódica – 58,20g/kg.; aroma de baunilha – 25,00g/kg ⁸AgAcid: formiato de cálcio, lactato de cálcio, ácidos graxos de cadeia média (capríco e caprílico) ⁹Valores calculados desconsiderando a contribuição energética do ácido fumárico e da mistura de acidificantes.

Tabela 2 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações Pré-Iniciais II, fornecidas aos leitões dos 36 aos 49 dias de idade.

Ingredientes	Tratamentos			
	Controle	AF ¹	MA ²	AF+MA ³
Milho	45,70	45,70	45,70	45,70
Farelo de soja	27,00	27,00	27,00	27,00
Resíduo bolacha/biscoito	7,00	7,00	7,00	7,00
Plasma sanguíneo	0,25	0,25	0,25	0,25
Soro de leite	6,00	6,00	6,00	6,00
Concentrado energético ⁴	2,00	2,00	2,00	2,00
Levedura de cana-de-açúcar	0,50	0,50	0,50	0,50
Milho pré-gelatinizado	1,94	1,94	1,94	1,94
Extrusado de soja e vísceras ⁵	5,00	5,00	5,00	5,00
Premix vit. e mineral ⁶	0,40	0,40	0,40	0,40
Fosfato bicálcico (18%)	1,38	1,38	1,38	1,38
Calcário calcítico (37%)	0,13	0,13	0,13	0,13
Sal comum	0,40	0,40	0,40	0,40
Edulcorante ⁷	0,30	0,30	0,30	0,30
Inerte	0,70	0,30	0,40	-
Ácido fumárico	-	0,40	-	0,40
Mistura de acidificantes ⁸	-	-	0,30	0,30
Colistina 4%	0,10	0,10	0,10	0,10
Óxido de zinco (73%)	0,30	0,30	0,30	0,30
Sulfato de cobre	0,07	0,07	0,07	0,07
L-Lisina (80%)	0,45	0,45	0,45	0,45
DL-Metionina (99%)	0,19	0,19	0,19	0,19
L-Treonina (98%)	0,15	0,15	0,15	0,15
L-Triptofano (99%)	0,02	0,02	0,02	0,02
Total kg	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis nutricionais calculados				
Energia metabolizável, kcal/kg ⁹	3352	3352	3352	3352
Proteína bruta, %	20,24	20,24	20,24	20,24
Cálcio, %	0,63	0,63	0,63	0,63
Fósforo disponível, %	0,45	0,45	0,45	0,45
Lisina digestível, %	1,31	1,31	1,31	1,31
Metionina digestível, %	0,48	0,48	0,48	0,48
Treonina digestível, %	0,81	0,81	0,81	0,81
Triptofano digestível, %	0,22	0,22	0,22	0,22
Lactose total, %	5,00	5,00	5,00	5,00

¹Ácido fumárico ²Mistura de acidificantes ³Ácido fumárico + mistura de acidificante ⁴Energipig: milho integral moído, soja integral extrusada, farelo de bolacha, gérmen de milho, aroma de baunilha, lecitina de soja, aditivo enzimático, ácido propiônico, glutamato monossódico, etoxiquin, B.H.T ⁵Energy ⁶Níveis de garantia por kg de ração: Vit. A – 4.000 U.I.; Vit. D3 – 220 U.I.; Vit. E – 22 mg; Vit. K – 0,5 mg; Vit B2 – 3,75 mg; Vit. B12 – 20 µg; Pantotenato de cálcio – 12 mg; Niacina – 20 mg; Colina – 60 mg; Iodo – 140 µg; Selênio – 300 µg; Manganês – 10 mg; Zinco – 100 mg; Cobre – 10 mg; Ferro – 99 mg. Valores nutricionais dos ingredientes, propostos por ROSTAGNO et al. (2011). ⁷Flavofix: Níveis de garantia por kg de ração: neosperidina – 1.200,00mg/kg.; sacarina sódica – 58,20g/kg.; aroma de baunilha – 25,00g/kg ⁸AgAcid: formiato de cálcio, lactato de cálcio, ácidos graxos de cadeia média (cáprico e caprílico) ⁹Valores calculados desconsiderando a contribuição energética do ácido fumárico e da mistura de acidificantes.

Tabela 3 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações Iniciais, fornecidas aos leitões dos 50 aos 62 dias de idade.

Ingredientes	Tratamentos			
	Controle	AF ¹	MA ²	AF+MA ³
Milho	62,07	62,07	62,07	62,07
Farelo de soja	31,00	31,00	31,00	31,00
Concentrado energético ⁴	3,00	3,00	3,00	3,00
Fosfato bicálcico (18%)	0,97	0,97	0,97	0,97
Milho pré-gelatinizado	0,74	0,74	0,74	0,74
Premix vit. e mineral ⁵	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,50
Edulcorante ⁶	0,30	0,30	0,30	0,30
Calcário calcítico (37%)	0,26	0,26	0,26	0,26
Inerte	0,40	0,20	0,20	-
Ácido fumárico	-	0,20	-	0,20
Mistura de acidificantes ⁷	-	-	0,20	0,20
Halquinol, 60%	0,02	0,02	0,02	0,02
L-Lisina (80%)	0,16	0,16	0,16	0,16
DL-Metionina (99%)	0,03	0,03	0,03	0,03
L-Treonina (98%)	0,03	0,03	0,03	0,03
Total kg	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis nutricionais calculados				
Energia metabolizável, kcal/kg ⁸	3284	3284	3284	3284
Proteína bruta, %	20,18	20,18	20,18	20,18
Cálcio, %	0,78	0,78	0,78	0,78
Fósforo disponível, %	0,40	0,40	0,40	0,40
Lisina digestível, %	1,09	1,09	1,09	1,09
Metionina digestível, %	0,32	0,32	0,32	0,32
Treonina digestível, %	0,68	0,68	0,68	0,68
Triptofano digestível, %	0,19	0,19	0,19	0,19

¹Ácido fumárico ²Mistura de acidificantes ³Ácido fumárico + mistura de acidificante ⁴Energipig: milho integral moído, soja integral extrusada, farelo de bolacha, germen de milho, aroma de baunilha, lecitina de soja, aditivo enzimático, ácido propiônico, glutamato monossódico, etoxiquin, B.H.T ⁵Níveis de garantia por kg de ração: Vit. A – 4.000 U.I.; Vit. D3 – 220 U.I.; Vit. E – 22 mg; Vit. K – 0,5 mg; Vit B2 – 3,75 mg; Vit. B12 – 20 µg; Pantotenato de cálcio – 12 mg; Niacina – 20 mg; Colina – 60 mg; Iodo – 140 µg; Selênio – 300 µg; Manganês – 10 mg; Zinco – 100 mg; Cobre – 10 mg; Ferro – 99 mg. Valores nutricionais dos ingredientes, propostos por ROSTAGNO et al. (2011). ⁶Flavofix Níveis de garantia por kg de ração: neosperidina – 1.200,00mg/kg.; sacarina sódica – 58,20g/kg.; aroma de baunilha – 25,00g/kg ⁷AgAcid: formiato de cálcio, lactato de cálcio, ácidos graxos de cadeia média (capríco e caprílico) ⁸Valores calculados desconsiderando a contribuição energética do ácido fumárico e da mistura de acidificantes.

Tabela 4 – Valores médios de pH das rações Pré-Inicial I (PI), Pré-Inicial II (PII) e Inicial (I) utilizadas no Experimento 1.

Ácido Fumárico	Mistura de Acíficantes	Pré	Pré	Inicial
		Inicial I	Inicial II	I
Ausente	Ausente	6,29	6,27	6,17
	Presente	6,08	6,16	6,14
Presente	Ausente	5,32	5,32	5,83
	Presente	5,26	5,24	5,75

Tabela 5 - Médias de consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) e de incidência de diarreia (ID) dos leitões dos 21 aos 35, 21 aos 49 e dos 21 aos 62 dias de idade.

Ácido Fumárico	Mistura de Acíficantes	Variáveis									
		CDR (g)			ID (%)	GDP (g)			CA		
		21-35 dias	21-49 dias	21-62 dias	21-35 dias	21-49 dias	21-62 dias	21-35 dias	21-49 dias	21-62 dias	
Ausente	Ausente	270	555	770	13,46	228	383	457	1,19	1,45	1,69
	Presente	252	530	725	12,02	206	388	440	1,23	1,37	1,65
Presente	Ausente	250	526	742	12,50	200	361	437	1,25	1,46	1,70
	Presente	263	542	768	13,94	215	375	458	1,23	1,44	1,68
Médias dos fatores											
- Ácido Fumárico (AF)											
	Ausente	261	542	748	12,74	217	385	448	1,20	1,41	1,68
	Presente	256	534	756	13,22	208	368	448	1,24	1,45	1,69
- Mist.e Acidificantes (MA)											
	Ausente	260	540	748	12,98	214	372	447	1,22	1,45	1,69
	Presente	258	536	756	12,98	211	381	449	1,23	1,41	1,66
AF x MA		NS ¹	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV (%)		13,5	10,7	8,71	24,66	16,2	9,95	8,52	5,70	4,61	3,45

¹ Não significativo (P>0,05).

Tabela 6 - Médias de pH dos conteúdos do estomago (E), jejuno (J), íleo (I), cólon (C) e reto (R) dos leitões.

Ácido Fumárico	Mistura de Acíficantes	E	J	I	C	R
Ausente	Ausente	3,42	6,02	6,80	6,15	6,25
	Presente	3,82	5,58	6,78	6,12	6,48
Presente	Ausente	3,10	5,62	6,88	6,02	6,43
	Presente	3,47	5,72	6,77	6,03	6,27
Médias dos fatores						
- Ácido Fumárico (AF)						
	Ausente	3,62	5,80	6,79	6,13	6,37
	Presente	3,28	5,67	6,83	6,03	6,35
- Mist.e Acidificante (MA)						
	Ausente	3,26	5,82	6,84	6,08	6,34
	Presente	3,64	5,65	6,78	6,08	6,38
AF x MA		NS ¹	NS	NS	NS	NS
CV (%)		21,48	7,55	3,47	5,53	3,76

¹ Não significativo (P>0,05).

Tabela 7 - Médias do peso relativo (%) do estomago (E), intestino delgado (ID), intestino grosso (IG), ceco (C), fígado (F), pâncreas (P), baço (B) e rins (R) em relação ao peso vazio dos leitões.

Ácido Fumárico	Mistura de Acíficantes	E	ID	IG	C	F	P	B	R
Ausente	Ausente	0,98	5,26	1,65	0,27	2,67	0,26	0,20	0,64
	Presente	0,98	5,64	1,77	0,32	2,72	0,26	0,19	0,63
Presente	Ausente	0,91	5,37	1,64	0,29	2,65	0,25	0,22	0,61
	Presente	0,90	5,51	1,77	0,28	2,68	0,23	0,20	0,58
Médias dos fatores									
- Ácido Fumárico (AF)									
	Ausente	0,98	5,45	1,71	0,29	2,69	0,26 ^a	0,19	0,63
	Presente	0,91	5,44	1,70	0,29	2,66	0,24 ^b	0,21	0,60
- Mist.e Acidificante (MA)									
	Ausente	0,95	5,31	1,64 ^b	0,28	2,66	0,26	0,21	0,62
	Presente	0,94	5,58	1,77 ^a	0,30	2,70	0,25	0,19	0,60
AF x MA		NS ¹	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV (%)		14,20	7,48	5,64	16,72	12,60	9,91	14,21	11,31

^{a, b} Valores seguidos de letras distintas na coluna diferem entre si (P=0,009). ¹ Não significativo (P>0,05).

Tabela 8 - Médias da altura de vilosidades (AV), largura de vilosidades (LV), profundidade de criptas (PC), relação AV:PC e área de absorção (AA) do duodeno dos leitões.

Ácido Fumárico	Mistura de Acíficantes	AV (µm)	LV (µm)	PC (µm)	AV:PC	AA (mm ² /mm ²)
Ausente	Ausente	336	161	196	1,77	10,35
	Presente	374	154	216	1,80	9,06
Presente	Ausente	345	148	194	1,84	8,00
	Presente	318	154	179	1,85	7,26
Médias dos fatores						
- Ácido Fumárico (AF)						
	Ausente	355	157	206	1,78	9,71
	Presente	331	151	187	1,85	7,63
- Mist.e Acidificante (MA)						
	Ausente	340	155	195	1,81	9,18
	Presente	346	154	197	1,82	8,16
AF x MA		NS ¹	NS	NS	NS	NS
CV (%)		16,41	13,64	13,24	14,36	43,40

¹ Não significativo (P>0,05).

Tabela 9 - Médias da altura de vilosidades (AV), largura de vilosidades (LV), profundidade de criptas (PC), relação AV:PC e área de absorção (AA) do jejuno dos leitões.

Ácido Fumárico	Mistura de Acíficantes	AV (µm)	LV (µm)	PC (µm)	AV:PC	AA (mm ² /mm ²)
Ausente	Ausente	337	125	182	1,89	4,89
	Presente	374	115	190	2,03	6,10
Presente	Ausente	302	120	162	1,90	6,29
	Presente	295	121	176	1,75	6,68
Médias dos fatores						
- Ácido Fumárico (AF)						
	Ausente	356 ^a	120	186	1,96	5,50
	Presente	298 ^b	121	169	1,82	6,48
- Mist.e Acidificante (MA)						
	Ausente	319	122	172	1,90	5,59
	Presente	335	118	183	1,89	6,39
AF x MA		NS ¹	NS	NS	NS	NS
CV (%)		19,84	11,04	11,16	13,70	38,54

^{a, b} Valores seguidos de letras distintas na coluna diferem entre si (P=0,009). ¹ Não significativo (P>0,05).

Tabela 10 - Médias da contagem do número de unidades formadoras de colônias (log 10/g) de coliformes totais (CT), *Escherichia coli* (EC) e de *Lactobacillus* (L) no ceco dos leitões.

Ácido Fumárico	Mistura de Acíficantes	CT	EC	L
Ausente	Ausente	7,15	7,02	8,78
	Presente	6,91	6,50	8,51
Presente	Ausente	5,98	5,27	8,56
	Presente	5,71	5,80	8,30
Médias dos fatores				
- Ácido Fumárico (AF)				
	Ausente	7,04 ^a	6,76 ^a	8,64
	Presente	5,84 ^b	5,53 ^b	8,43
- Mist.e Acidificante (MA)				
	Ausente	6,57	6,15	8,67
	Presente	6,31	6,15	8,41
AF x MA		NS ¹	NS	NS
CV (%)		19,37	22,87	6,72

^{a, b} Valores seguidos de letras distintas na coluna diferem entre si (P=0,009). ¹ Não significativo (P>0,05).

CAPÍTULO III
IMPLICAÇÕES

A inclusão de acidificantes nas dietas influenciou no peso relativo do intestino grosso e pâncreas, além de alteração na altura de vilosidade do jejuno e menor contagem de coliformes totais e *E. coli* no tratamento com presença do ácido fumárico. No entanto, não houve influência dos tratamentos para as demais variáveis analisadas. Tais resultados podem ser creditados à composição das dietas, como a inclusão de antibiótico melhorador de desempenho, alta qualidade de ingredientes e altos níveis de lactose. Portanto, seria interessante realizar estudos para avaliar os efeitos da inclusão desses acidificantes em dietas sem antibiótico melhorador de desempenho, trabalhar com rações menos complexas e com menores níveis de inclusão de produtos lácteos, condições que poderiam aumentar as respostas dos acidificantes.

Além disso, seria interessante avaliar os acidificantes testados em condições mais próximas da realidade comercial de produção, com maior quantidade de animais por baia e com menores cuidados no que se refere ao controle de temperatura e ao manejo diário com os animais, aumentando o desafio sanitário.

Os ácidos orgânicos e seus sais são alvos recorrentes de estudo na nutrição animal, especialmente de suínos, porém mais pesquisas são necessárias, pois ainda não estão totalmente esclarecidas as condições para que ocorra ação mais eficiente desses aditivos.