UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS BOTUCATU

PALATABILIZANTES EM DIETAS DE LEITÕES DESMAMADOS: PREFERÊNCIA ALIMENTAR, DESEMPENHO, MORFOMETRIA E EXPRESSÃO GÊNICA (SGLT1) INTESTINAL

VINICIUS RICARDO CAMBITO DE PAULA

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

Botucatu, SP

Janeiro – 2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS BOTUCATU

PALATABILIZANTES EM DIETAS DE LEITÕES DESMAMADOS: PREFERÊNCIA ALIMENTAR, DESEMPENHO, MORFOMETRIA E EXPRESSÃO GÊNICA (SGLT1) INTESTINAL

VINICIUS RICARDO CAMBITO DE PAULA

Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Dr. Dirlei Antonio Berto
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcos Livio Panhoza Tse

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

Botucatu, SP

Janeiro – 2018

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

Paula, Vinicius Ricardo Cambito de, 1993-
P324p Palatabilizantes em dietas de leitões desmamados: preferência alimentar, desempenho, morfometria e expressão gênica (SGLT1) intestinal / Vinicius Ricardo Cambito de Paula. – Botucatu : [s.n.], 2018
68 f.: grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2018

Orientador: Dirlei Antonio Berto
Coorientador: Marcos Livio Panhoza Tse
Inclui bibliografia

1. Leitão(Suínos) – Alimentação e rações. 2. Aditivos alimentares. 3. Preferência alimentar. I. Berto, Dirlei Antonio. II. Tse, Marcos Livio Panhoza. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

Elaborada por Maria Lúcia Martins Frederico – CRB-8:5255
"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

DEDICATÓRIA

À Deus, por tudo.

Aos meus avós, Genésio e Zulmira.

À minha mãe, Regina e ao meu padrasto, Romeu.

Todo meu amor a vocês.

EPÍGRAFE

"Whatever happens tomorrow, we have had today. I will always remember it."

Emma Morley – One Day (David Nicholls)

AGRADECIMENTOS

À Deus, por tudo. À Ele, toda honra e toda glória.

À minha família, em especial, à minha mãe, Regina Marcia Cambito, ao meu padrasto, Romeu Linhares Fraga Junior, ao meu pai, Fabiano Ricardo Messias de Paula, aos meus avós, Genésio Cambito e Zulmira Simões Cambito, aos meus irmãos, Terezino Genésio Cambito de Paula, João Paulo Cambito Fraga e Mylena Caroline Sanches de Paula. Sem vocês, nada disso seria possível. Vocês são tudo para mim!

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia e à Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" pela oportunidade, crescimento e conhecimentos adquiridos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu admirado e respeitado orientador, Professor Doutor Dirlei Antonio Berto, pelo aceite em me orientar, por todo conhecimento a mim passado, paciência, confiança, dedicação, apoio e profissionalismo.

Ao meu estimado e amigo co-orientador, Professor Doutor Marcos Livio Panhoza Tse, pelo aceite em me co-orientar, por todos os ensinamentos a mim passado, dedicação, apoio e amizade.

Às Professoras Doutoras Ana Silvia Alves Meira Tavares Moura, Margarida Maria Barros, Ibiara Correia de Lima Almeida Paz e aos Professores Doutores Luiz Lehmann Coutinho (ESALQ – USP) e Messias Alves da Trindade Neto (FMVZ – USP) pelas valiosas contribuições, apoio e possibilidade de realização de parte das análises.

Aos companheiros e amigos do grupo de pesquisa em nutrição de suínos, Mayra Anton Dib Saleh, Filipe Garcia Telles, Silvia Letícia Ferreira e em especial à Patrícia Versuti Arantes Alvarenga.

Aos estagiários Yasmim Silva Viana, Sérgio Miranda Souza Júnior, Angélica Camargo dos Santos, Felipe Vermeulen Ferreira, Rodrigo Garcia Vasconcelos e Thainan Souza Germano de Oliveira.

Aos funcionários da Fazenda Lageado e da fábrica de ração, José Antonio Franco, Paulo Sérgio dos Santos, José Alexandre Ferreira Dessídio, Adriano Martins Deniz, Moisés dos Santos, Hudson Fernando Souza e Sandro Luiz Ribeiro.

Aos "irmãos" de casa, Evelyn Prestes Brito e Caio Cesar dos Ouros e aos amigos de pós-graduação Ianê Correia de Lima Almeida, Jéssica Moraes Cruvinel, Amanna Gonzaga Jacaúna, Marina Pagliai Ferreira da Luz, Aline Sampaio Aranha, Bruno Lala Silva, Hinglidj de Carvalho Müller, Raimundo Gonçalves Ferreira Netto e Caroline Cardoso de Oliveira.

E a todos que de alguma forma contribuíram para realização desta dissertação.

Muitíssimo obrigado!

BIOGRAFIA DO AUTOR

VINICIUS RICARDO CAMBITO DE PAULA, filho de Fabiano Ricardo Messias de Paula e Regina Marcia Cambito, nasceu em Maringá, Estado do Paraná, Brasil, no dia 16 de abril de 1993.

Em fevereiro de 2011, iniciou o curso de Zootecnia na Universidade Estadual de Maringá – UEM, graduando-se em janeiro de 2016.

Em março de 2016, iniciou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, nível de mestrado acadêmico, área de concentração Nutrição e Alimentação Animal, na Universidade Estadual de Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP, Campus de Botucatu, realizando estudos na área de nutrição de suínos.

No dia 16 de janeiro de 2018, submeteu-se à banca para defesa da Dissertação.

SUMÁRIO

Página

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Introdução 1
2. Revisão de Literatura 2
2.1. Idade do leitão ao desmame e seus possíveis efeitos 2
2.2. Palatabilidade e preferência alimentar 3
2.3. Receptores e quimiorreceptores de sabor 6
2.4. Palatabilizantes 8
2.5. Teoria dos efeitos dos palatabilizantes 12
3. Referências 15

CAPÍTULO II – PALATABILIZANTES EM DIETAS DE LEITÕES DESMAMADOS: PREFERÊNCIA ALIMENTAR, DESEMPENHO, MORFOMETRIA E EXPRESSÃO GÊNICA (SGLT1) INTESTINAL 24
Resumo 25
Abstract 26
Introdução 27
Material e Métodos 28
Experimento 1 – Preferência alimentar (Níveis comerciais de palatabilizante) 30
Experimento 2 – Desempenho e glicose (Níveis comerciais de palatabilizantes) 33
Experimento 3 – Preferência alimentar (Níveis de sacarina sódica) 35
Experimento 4 – Preferência alimentar (Níveis de sacarina sódica + neotame) 36
Experimento 5 – Preferência alimentar (Níveis do E3 e E4 de palatabilizantes) 38
Experimento 6 – Expressão gênica e morfometria intestinal 40
Expressão gênica do co-transportador 1 de glicose sódio dependente no jejuno 41
Morfometria intestinal 47
Resultados 48
Experimento 1 – Preferência alimentar (Níveis comerciais de palatabilizante) 48
Experimento 2 – Desempenho e glicose (Níveis comerciais de palatabilizantes) 48
Experimento 3 – Preferência alimentar (Níveis de sacarina sódica) 49
Experimento 4 – Preferência alimentar (Níveis de sacarina sódica + neotame) 50

SUMÁRIO

Página

Experimento 5 – Preferência alimentar (Níveis do E3 e E4 de palatabilizantes).... 50

Experimento 6 – Expressão gênica e morfometria intestinal 50

Discussão 51

Conclusões 57

Referências 58

CAPÍTULO III - IMPLICAÇÕES 62

1. Implicações 63

ANEXO 64

ÍNDICE DE TABELAS

Página

Tabela 1. Composição centesimal e nutricional das dietas referência pré-inicial 1 (PI1), pré-inicial 2 (PI2) e inicial (I) sem palatabilizante 32

Tabela 2. Ordem de fornecimento diário das dietas nas quatro divisórias do comedouro de cada uma das baias 33

Tabela 3. Ordem de fornecimento diário das dietas nas quatro divisórias do comedouro de cada uma das baias 36

Tabela 4. Ordem de fornecimento diário das dietas nas quatro divisórias do comedouro de cada uma das baias 38

Tabela 5. Ordem de fornecimento diário das dietas nas quatro divisórias do comedouro de cada uma das baias 40

Tabela 6. Identificação dos *primers* peptidil-prolil isomerase A (PPIA), proteína ribossomal L4 (RPL4), beta actina (ACTB) e co-transportador 1 de glicose sódio dependente (SGLT1) dos genes referência e gene alvo utilizados na RT-qPCR 44

Tabela 7. Consumo total de ração (CR) e consumo de ração diário (CRD) dos leitões dos 21 aos 33 dias de idade, alimentados com dietas contendo diferentes palatabilizantes 48

Tabela 8. Consumo de ração diário (CRD), ganho de peso diário (GPD) e conversão alimentar (CA) dos leitões no primeiro período e no período total do experimento (N=120) 49

Tabela 9. Teores de glicose sanguínea de suínos alimentados com diferentes palatabilizantes aos 62 dias de idade (N=40) 49

Tabela 10. Consumo de ração (CR) e consumo de ração diário (CRD) dos leitões dos 23 aos 37 dias de idade, alimentados com dietas contendo níveis de sacarina sódica 49

Tabela 11. Consumo de ração (CR) e consumo de ração diário (CRD) dos leitões dos 26 aos 40 dias de idade, alimentados com dietas contendo níveis do palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame 50

ÍNDICE DE TABELAS

Página

Tabela 12. Consumo de ração (CR) e consumo de ração diário (CRD) dos leitões dos 26 aos 40 dias de idade, alimentados com dietas contendo diferentes palatabilizantes..... 50

Tabela 13. Altura de vilo (AV), profundidade de cripta (PC), relação AV:PC e área de superfície de vilo (A) do duodeno e jejuno, de leitões aos 40 dias de idade alimentados com dietas contendo diferentes palatabilizantes 51

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

Figura 1. Diagrama esquemático de um enterócito com os transportadores SGLT1 e GLUT5 (transportador de frutose) na membrana luminal e o transportador GLUT2 na membrana basal 13

Figura 2. Gel de agarose (1%) mostrando a integridade do RNA total das amostras 1 a 32 do jejuno de leitões, em que é possível visualizar as bandas estruturais 28S, 18S e 5,8S do RNA ribossômico. 65

Figura 3. Gel de agarose (1%) mostrando o teste com os *primers* em diferentes temperaturas de anelamento. 66

Figura 4. Eletroforese em gel de agarose (1%) mostrando o teste da amplificação do *primer* ACTB com cada amostra (1 a 32)..... 67

Figura 5. Curva de diluição do gene ACTB..... 68

Figura 6. Expressão relativa de mRNA do gene co-transportador 1 de glicose sódio dependente (SGLT1) no jejuno de leitões aos 40 dias de idade em resposta as dietas com adição de açúcar (DA), de sacarina sódica (DS) ou de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame (DSN), comparadas com a dieta referência sem palatabilizante (P>0,05). 51

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Introdução

A suinocultura exerce fundamental papel na produção de alimentos no mundo, pois a carne suína além de ser excelente fonte de proteína animal, possui alta aceitabilidade, sendo a mais consumida pela população mundial há anos. No ano de 2016, foram produzidas 109,969 milhões de toneladas de carne suína, sendo a China o país que mais contribuiu com essa produção, responsável por 48% desse total, enquanto o Brasil, quarto colocado, produziu 3,7 milhões de toneladas, representando 3,36% da produção mundial, ficando atrás apenas da União Europeia e Estados Unidos (USDA, 2017).

Mesmo o Brasil detendo boa representatividade no cenário mundial na produção da carne suína, o consumo per capita, que é de 13,7 kg/ano, ainda é considerado baixo, quando comparado com a China, União Europeia e Estados Unidos, que ultrapassam os 30 kg por pessoa/ano. (ANUALPEC, 2017).

Pelo fato dos consumidores, nos dias atuais, estarem mais exigentes em relação aos alimentos, prezando não só o baixo custo, mas também a qualidade e a procedência dos mesmos, o setor suinícola vem sofrendo mudanças de forma a atender os requisitos dos consumidores, buscando diminuir o custo de produção. O custo com alimentação na produção de leitões pode representar quase 70% do custo total de produção de uma unidade produtora de leitões (TALAMINI et al., 2006). Assim, busca-se alternativas que melhorem a relação custo:benefício na nutrição do suíno, para garantir a competitividade da cadeia suinícola e a constante melhora na produtividade.

Nesse contexto, como o desmame é um dos manejos mais estressantes na produção de suínos, os animais recém-desmamados apresentam baixa ingestão de ração, e, por isso, o uso de dietas com ingredientes altamente digestíveis e palatáveis, bem como o emprego de aditivos para torná-las mais atrativas, são práticas comumente realizadas.

A maioria dos mamíferos jovens, possui preferência inata por alimentos doces (FORBES, 2010), logo, o uso de alguns aditivos, naturais ou artificiais, nas rações de leitões, exerce função de palatabilizante, que diminuí a latência para início da ingestão de alimento após o desmame, resultando em benefícios no desempenho produtivo, fisiologia e expressão gênica dos leitões desmamados (MORAN et al., 2010; MARTINEZ et al., 2014; ZHU et al., 2016).

2. Revisão de Literatura

2.1 – Idade do leitão ao desmame e seus possíveis efeitos

A idade do leitão ao desmame na suinocultura industrial geralmente é praticado por volta dos 21 dias, que busca maior número de partos ao ano e, consequentemente, maior número de leitões nascidos; diferindo do desmame natural que ocorre entre a nona e a vigésima-segunda semana de idade, em média (PÉREZ, 2009).

Os leitões desmamados por volta da terceira semana de vida possuem o sistema enzimático do trato gastrintestinal adaptado à digestão do leite materno, que é abundante em gordura, lactose e caseína, que são facilmente digeridas (SOARES, 2004). Nessa idade, além do sistema imunológico não se encontrar completamente desenvolvido para enfrentar os desafios subsequentes, os leitões sofrem com outros efeitos da separação materna. Tais efeitos, incluem: separação de suas mães e irmãos, alojamento em um novo ambiente, onde há tensão social pela mistura com outros animais, adaptação a temperatura e umidade relativa da creche, adaptação a comedouros e bebedouros e, mudança na forma física da dieta, que geralmente passa a ser seca após o desmame (MEESE; EWBANK, 1973; SOUZA, 2007).

Quanto a nova alimentação, dentre os novos ingredientes dietéticos incluem-se os de origem vegetal. Todavia, os animais não possuem adaptação fisiológica para digestão, dessa nova dieta, em decorrência da ainda limitada produção de enzimas digestivas e de ácido clorídrico (FREITAS, 2011).

A atividade das enzimas sacarase, maltase e glicoamilase são aumentadas a partir do terceiro dia até o sétimo dia após o desmame de leitões e (KELLY et al., 1991), o que explica o fato de apresentarem baixa capacidade para digestão dos constituintes das rações, principalmente à base de alimentos de origem vegetal, quando são desmamados.

As situações de estresse que os leitões são expostos ao desmame, podem resultar em perturbações na função da barreira intestinal e aumento dos níveis de fator de liberação de corticotrofina, cortisol séricos (MOESER et al., 2007), atrofia dos vilos e aumento na profundidade das criptas (PLUSKE et al., 1997). Essas alterações podem acarretar perdas zootécnicas, como baixo ganho de peso, em decorrência dos animais apresentarem baixa ingestão de ração nos primeiros dias após o desmame (CHAMONE et al., 2010).

A limitada eficiência na digestão da nova dieta pode implicar em diarreia que pode se agravar em presença de bactérias patógenas. A diarreia pós-desmame geralmente está

relacionada com algumas espécies de Salmonella, como a S. entérica *Serovar Typhimurium* e *Escherichia coli*, sendo essa última mais comum no período logo após o desmame (PLUSKE et al., 2003). Avaliando diferentes idades ao desmame, Main et al. (2002) observaram melhores resultados para consumo de ração e ganho de peso, quando os leitões foram desmamados aos 21 dias de idade em relação a animais desmamados aos 12, 15 e 18 dias de vida, evidenciando que quanto mais jovens os leitões, maior a dificuldade de enfrentar eficientemente os problemas impostos pelo manejo do desmame.

Estudando os efeitos da idade ao desmame na quantificação de leucócitos e outras células relacionadas ao sistema de defesa do organismo de leitões, Barbosa (2016) encontrou valores dentro aos citados na literatura (13.000 a 16.500/mm^3), mas observou maior quantidade de monócitos em leitões aos 50 dias de idade quando foram desmamados aos 34 dias, comparado com aqueles desmamados aos 20 dias de idade. O estresse também pode suprimir a produção de leucócitos, a capacidade fagocítica, a secreção de citocinas inflamatórias (TAVARES et al., 2000), e alteração na ativação das plaquetas (BRYDON et al., 2006).

O sistema de criação confinado geralmente não possibilita que os suínos expressem determinados comportamentos que poderiam ajuda-los a minimizar alguns fatores estressores (MARTENDAL, 2009). A nutrição tem sido uma ferramenta utilizada na busca de contornar parte desses problemas, como o uso de rações com alta digestibilidade para leitões ainda na maternidade. Essa prática, tem como objetivo, não só melhorar o peso ao desmame, mas também facilitar a transição do consumo de leite para o consumo de ração na fase de creche (SUBALO et al., 2010). Assim, o uso de aditivos nas rações pré-iniciais busca tornar essas dietas mais atrativas e, consequentemente, determinar maior ingestão, visando amenizar o impacto do desmame na ingestão alimentar de leitões.

2.2 – Palatabilidade e preferência alimentar

Uma das razões pelas quais os animais se alimentam é para atendimento das necessidades de energia do organismo (CURTIS, 1983). Fome e apetite são termos usados para descrever a vontade do animal em comer (MAGGIONI et al., 2009), entretanto, fome caracteriza um efeito que pode ocorrer no início da alimentação, entre ou antes das refeições, enquanto, apetite, se relaciona com o início da alimentação e com fatores fisiológicos que contribuem para o término da alimentação (VAN SOEST, 1994).

Os animais memorizam as consequências fisiológicas dos alimentos pelas propriedades sensoriais (aparência, sabor e textura) e podem então escolher alimentos

preferidos ou evitar aqueles com os quais já tiveram alguma experiência negativa (MAGGIONI et al., 2009).

Grande parte dos ingredientes que compõe as dietas de suínos são alimentos de origem vegetal. O milho moído e o farelo de soja são os dois maiores constituintes, representando mais de 60% da composição total das dietas. Os motivos que os levam a ocupar importante papel na formulação de rações para esses animais são seus valores nutricionais elevados, pois possuem boa composição química em nutrientes de interesse para o desenvolvimento dos suínos, bem como boa digestibilidade.

A variação existente na composição química dos alimentos pode ser oriunda de diversos fatores, como tipo de semente, clima, condição do solo, forma, frequência e níveis de adubação durante plantio e cultivo, processamento, armazenamento (KATO, 2005; VIEIRA et al., 2007), e densidade de plantio (VYN; TOLLENAAR, 1998). Nesse sentido, do que é composta e quais as quantidades dos nutrientes presentes nos ingredientes da ração é de grande interesse para os nutricionistas animais. Por exemplo, os componentes fibrosos do milho são fatores nutricionais importantes (ZILIC et al., 2011), uma vez que de acordo com Noblet e Perez (1993) a fração fibrosa juntamente com a mineral podem ter efeito de diluição da energia do alimento e influenciar a ingestão de ração. Segundo Berthoud e Seeley (2000), proteína exerce maior poder de saciedade que o carboidrato, que por sua vez é maior que o lipídeo.

Possuindo elevado valor biológico e boa composição química, certos alimentos, como o farelo de soja, que é considerado a principal fonte proteica da ração por possuir em média 45,4% de proteína bruta (ROSTAGNO et al., 2017), se não for processado corretamente pode ter seu valor nutricional diminuído. O farelo de soja apresenta alguns fatores anti-nutricionais. Dentre esses, os inibidores enzimáticos (tripsina, quimotripsina, amilase e carboxipeptidase) e lectinas que diminuem sua digestibilidade e palatabilidade, por consequência, a ingestão de ração (BENDER, 1987; XAVIER-FILHO; CAMPOS, 1989; DONG; PLUSKE, 2007).

Os suínos produzidos de forma industrial são geralmente alimentados com dietas em que não há possibilidade de escolha, o que leva a um pressuposto amplamente aceito de que os animais se adaptam a comer a dieta que lhes é oferecida, na medida em que essa seja balanceada nutricionalmente (ROURA; FU, 2017). Partindo dessa premissa, tem-se que a maioria dos nutrientes, com relevância na alimentação desses animais são bem controlados nas rações. Porém, apenas os nutrientes essenciais mais limitantes são

equilibrados em uma dieta comercial de suínos, e como os animais de comportam, em relação ao apetite e a escolha, ainda geram dúvidas (ROURA; FU, 2017).

Além da composição química e energética e da digestibilidade do alimento serem fatores determinantes no consumo de ração dos leitões, outro fator importante é a palatabilidade. O resultado da integração do paladar e de sinais de estado internos do sistema nervoso central (SNC), associados com instruções oriundas de experiências anteriores, resultam em uma resposta mensurável, a palatabilidade (GRILL; BERRIDGE, 1985). Um modelo teórico criado por Kissileff e Thornton (1982) mostra que a taxa inicial de consumo de um alimento em humanos é influenciada pela palatabilidade. De acordo com o modelo, a taxa inicial de alimentação, refletida no coeficiente linear da curva, aumenta com aumentos na palatabilidade dos alimentos.

Nem todos os animais possuem a mesma capacidade de percepção de sabor e odor, pois fatores anatômicos, fisiológicos e a idade podem influenciar essa capacidade. A anatomia dos animais e algumas características intrínsecas também exercem influência no hábito alimentar e sobre a preferência. Os suínos possuem língua alongada, estreita e pontiaguda localizada no assoalho da cavidade oral e subdivida em três partes: ápice, corpo e raiz (LEWIS; SOUTHERN, 2001; DYCE, 2004). Possui cerca de 15.000 papilas gustativas com formas específicas, sendo a maioria delas pertencentes a três tipos: as papilas fungiformes, papilas valadas e papilas foliadas (HALLEL, 2006; FRANDSON, 2011). Há também um número substancial de papilas de sabor não-lingual no palato, orofaringe, laringe, epiglote e no esôfago superior (BACHMANOV; BEAUCHAMP, 2007). Embora tenham a visão considerada desenvolvida, de forma geral, as aves possuem sentido muito pobre de paladar e olfato, por terem poucas papilas gustativas, diferentemente dos humanos, que possuem cerca de 9.000 papilas gustativas, dos bovinos que possuem cerca de 25.000, e das cabras que também possuem cerca de 15.000 (HALLEL, 2006).

Os receptores do paladar são os botões gustativos localizados nas papilas. Esses botões consistem de células de sustentação ou suporte, e de células receptoras ou gustativas. As vias aferentes mediadoras do paladar são organizadas de modo a enviar sinais, através do nervo lingual, até a medula oblonga (DYCE, 2004).

Em um estudo conduzido por Chamorro et al. (1993), javalis selvagens e suínos domésticos foram os animais que apresentaram maior número de poros por papila fungiforme e lateral já relatados na literatura, ressaltando que essas regiões devem ser importantes para a sensibilidade ao gosto. Entretanto, devido a vasta quantidade de

variáveis comportamentais, fisiológicas e neurológicas que influenciam a escolha de alimentos e o comportamento ingestivo, o entendimento dos mecanismos da alimentação, e suas alterações, é laborioso (OCHOA et al., 2015).

2.3 – Receptores e quimiorreceptores de sabor

A palavra "sabor", na linguagem comum, é frequentemente usada para descrever sensações decorrentes da cavidade oral. Mas, a definição biológica de sabor, ou gustação, inclui sensações medidas por um sistema especializado anatomicamente e fisiologicamente definido como sistema quimiossensorial gustativo (BACHMANOV; BEAUCHAMP, 2007). O sabor auxilia os animais a decidirem se um determinado alimento é benéfico e se deve ser consumido, ou se apresenta algum risco e deve ser rejeitado. Provavelmente, essa sensação evoluiu para garantir a escolha de alimentos adequados às exigências do organismo. Se no alimento houver ausência de compostos aversivos à sua ingestão, mas possuir sabor ou cheiro desagradável, ele será recusado e o período de latência para que inicie novamente seu consumo, após verificação da qualidade, será maior (MARTINEZ, 2012).

Os sentidos químicos de sabor e cheiro (*flavour*) são os responsáveis por determinar a ingestão de alimentos e são detectados por células quimiossensíveis do trato gastrintestinal. Essas, em função da composição química dos alimentos ingeridos, fazem conexão com os circuitos de retroalimentação, controlando o apetite, secreção intestinal, motilidade e a disposição de nutrientes periféricos (REIMANN et al., 2012).

O sistema gustatório do suíno incluí células receptoras de sabor (50 a 150 células) que se organizam em botões gustativos (TEMUSSI, 2009). As células receptoras de sabor possuem extremidades expostas à cavidade oral e interagem com os estímulos gustativos do alimento, gerando sinais que são transmitidos ao cérebro por nervos cranianos. Tais nervos, possuem ramificações em parte da língua, incluindo as papilas fungiformes, foliares e, possivelmente, nas papilas das regiões do palato mole, faringe, epiglote, laringe e esôfago superior e terminam no núcleo do trato solitário da medula (WITT et al., 2003). As projeções da ordem do núcleo do trato solitário da medula incluem, além da amídala e outras regiões, o hipotálamo (ROLLS; SCOTT, 2003).

Toda a informação gerada pelo estímulo do sabor, provavelmente, serve para integrar o cérebro com sinais interoceptivos (saciedade, fome, apetite especializado), sinais exteroceptivos (visão, olfação, somatossensação) e gerar respostas comportamentais ao estímulo do sabor. Quando processado por completo, a percepção do

sabor resulta em diversos aspectos como a qualidade, intensidade, localização, persistência e aspectos hedônicos (prazer ou desagrado) (BACHMANOV; BEAUCHAMP, 2007). O valor hedônico de um alimento altamente palatável e sua vasta disponibilidade pode substituir os mecanismos fisiológicos relacionado à homeostase energética (EGECIOGLU et al., 2011; LAFORTUNA et al., 2014).

Atualmente, há consenso de que as sensações do paladar humano podem ser divididas em cinco categorias: amargo, azedo, salgado, doce e umami. As várias categorias existentes de diferentes paladares implicam que cada categoria possui um mecanismo de codificação específico mediado por receptores de gosto especializados, uma vez que existem dados que suportam essa hipótese (BACHMANOV; BEAUCHAMP, 2007).

A percepção de sabor de alguns mono e oligossacarídeos na língua são dependentes de receptores de sabor acoplados a proteínas G, compreendendo receptores das famílias tipo 1, membros 2 e 3 (T1R2 e T1R3) (CHANDRASHEKAR et al., 2006), que respondem a concentrações de glicose e uma série de edulcorantes artificiais, ativando uma proteína G especializada, denominada gustducina (REIMANN et al., 2012). Além disso, estudos revelam que existem receptores de sabor doce no intestino delgado que podem modular a absorção de carboidratos (DYER et al., 2005).

Em uma extensa revisão sobre os receptores de sabor e seus genes, Bachmanov e Beauchamp (2007) informaram que esses receptores funcionam como quimiorreceptores que se comunicam com estímulos gustativos, ou ligantes, e então, iniciam um sinal aferente transmitido ao cérebro, resultando na percepção do gosto. Alguns ligantes de sabor não permeiam facilmente as membranas celulares, por isso, acredita-se que os receptores de sabor sejam parte das membranas das células receptoras de sabor. De acordo com essa hipótese, os receptores das famílias T1R e T2R pertencem a uma superfamília de receptores acoplados a proteína G na membrana plasmática. No entanto, alguns outros estímulos gustativos (sódio, prótons e alguns compostos amargos e doces) podem penetrar nas membranas celulares e podem interagir com alvos intracelulares para ativar as células receptores de sabor e, então, a definição do que seria um receptor de sabor para tais ligantes é menos clara.

De acordo com Bachmanov e Beauchamp (2007), mesmo que várias proteínas tenham sido sugeridas como receptoras de sabor, nem todas foram aceitas completamente, pois acredita-se que uma molécula funcione como um receptor de sabor quando atende certos critérios. A identidade molecular do receptor candidato deve ser

estabelecida, sua expressão nas células receptoras de sabor deve ser confirmada, os ligantes apropriados devem ser identificados e as alterações na função do sabor resultantes de mudanças no receptor do gosto devem ser demonstradas (BACHMANOV; BEAUCHAMP, 2007). Além disso, os receptores são capazes de gerar informações como osmolaridade, volume e pH do alimento para o SNC (MAGGIONI et al., 2009)

A adaptação na capacidade absortiva de nutrientes é alcançada através da modulação na expressão e atividade de transportadores de nutrientes especializados, encontrados na membrana dos enterócitos (SHIRAZI-BEECHEY, 2004) e por incretinas que podem ser secretadas e auxiliar na saúde intestinal, nos processos de digestão e absorção.

A expressão de alguns desses transportadores ou a liberação de alguns hormônios podem ser influenciadas por compostos carboidratos ou palatabilizantes não nutritivos (MORAN et al., 2010; SHIRAZI-BEECHEY et al., 2011; MACE; MARSHALL, 2012).

2.4 - Palatabilizantes

Na instrução normativa (IN) número 13 de 30 de novembro de 2004 foram estabelecidas regulamentações técnicas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. Eles podem ser divididos em categorias, de acordo com suas funções e propriedades (BRASIL, 2004). Os palatabilizantes, como aditivos, enquadram-se na categoria de aditivos sensoriais, que incluí qualquer substância adicionada ao produto para melhorar ou modificar as propriedades sensoriais destes ou as características visuais dos produtos. Dentro dos grupos funcionais dos aditivos sensoriais estabelecidos pela IN, encontram-se os corantes e pigmentantes (substâncias que conferem ou intensificam a cor dos alimentos), os aromatizantes (substâncias que conferem ou intensificam o aroma dos alimentos) e os palatabilizantes (produtos naturais obtidos mediante processos físicos, químicos, enzimáticos ou microbiológicos apropriados, a partir de materiais de origem vegetal ou animal, ou de substâncias definidas quimicamente, cuja adição aos alimentos aumenta sua palatabilidade e aceitabilidade).

Além da categorização dos palatabilizantes em aditivos sensoriais, alguns deles também poderiam se enquadrar na categoria de aditivos zootécnicos, uma vez que melhoram os parâmetros de produtividade, pois, existem estudos que corroboram tal ação (ALIMOV et al., 1993; YUANXIAO et al., 2011; BUDIÑO et al., 2014; MARTINEZ et al., 2014; WANG et al.; 2014; ZHU et al., 2016).

Sendo assim, o uso de adoçantes como palatabilizantes nas dietas de leitões recém-desmamados, com a finalidade de torná-las mais atrativas e, consequentemente, aumentar sua aceitabilidade e consumo, tem sido estudado. Os adoçantes, também chamados de edulcorantes, possuem alta capacidade de adoçar em pequenas quantidades, tornando-os interessantes substitutos da sacarose, uma vez que, dependendo do composto, seu poder edulcorante pode ser superior (TORLONI et al., 2007). O alto poder edulcorante de alguns produtos os torna interessantes para a indústria, que busca diminuir os custos com a produção, além de facilitar a formulação de rações, devido à menor inclusão percentual na composição. Os edulcorantes são divididos em dois grupos: um de alta intensidade e outro de baixa intensidade (GOMES et al., 2007). Diferem quanto suas características de estabilidade em diferentes condições de pH e temperatura, ausência de sabor residual (CAMPOS, 2000) e poder edulcorante. São diversas as opções de palatabilizantes adicionados às dietas de leitões nas fases pré-inicial e inicial. Dentre eles, pode se destacar o açúcar que, além da finalidade de servir como palatabilizante, consiste em fonte concentrada e prontamente utilizada de energia.

A produção de cana-de-açúcar no Brasil vem crescendo a cada ano, tendo sido produzidas 560.364 mil toneladas em 2012 e 665.586 em 2016, o que atribui ao país o título de maior produtor do vegetal no mundo (AGRIANUAL, 2017). A produção de açúcar no país acompanha esse crescimento, porém, o preço nos últimos anos tem aumentado. No estado de São Paulo, nos últimos cinco anos, o preço da saca de 50kg de açúcar aumentou cerca de 47%, pois em 2012 custava R$54,85 reais e em 2016 o preço alcançou R$80,67 reais (AGRIANUAL, 2017).

O açúcar, ou sacarose, é um dos compostos comumente utilizados como palatabilizante na dieta de leitões recém-desmamados por sua alta aceitabilidade. É formado por dois monossacarídeos que são os mais comuns encontrados na natureza: uma molécula de aldoexose, a D-glicose, e uma molécula de cetoexose, a D-Frutose (NELSON; COX, 2011). O açúcar também tem efeito conservante, modula a resposta inflamatória e é bacteriostático e bactericida, devido a sua alta osmolaridade (RAHAL et al., 1983; NAKAO et al., 2006).

Pesquisas utilizando solução de sacarose em neonatos humanos, apontaram maior alívio da dor em procedimentos de punção capilar ou venosa, bem como melhores respostas dos indicadores fisiológicos de frequência cardíaca, especialmente na diminuição do tempo de recuperação (GASPARDO et al., 2005). Esses achados podem sugerir efeitos benéficos também para os leitões uma vez que, além do estresse do

desmame, os animais sofrem com manejos de contenção para aplicações de vacinas, medicamentos e procedimentos. Acredita-se que por sua alta osmolaridade, o açúcar pode tornar meios inadequados para crescimento e sobrevivência de bactérias (WEISS et al., 1984), entretanto, quando presente no lúmen intestinal em altas concentrações, pode alterar o meio e causar desequilíbrios intestinais, como diarreias (BUNZER et al., 2008).

Outro palatabilizante bastante utilizado e estudado na dieta de leitões é a sacarina, que possui como nomenclatura química 1,1-dioxo-1,2-benzotiazol-3-ona (GARDNER et al., 2012), e pode chegar a ser de 300 a 500 vezes mais doce que o açúcar para humanos (TORLONI et al., 2007). É um palatabilizante que não oferece efeito energético, somente doçura aos alimentos (QUIROGA, 2013). A sacarina é lentamente absorvida no intestino e rapidamente excretada pelos rins, sem ser metabolizada (MANHANI et al., 2014) e, portanto, não afeta os níveis de insulina no sangue (PINTO, 2014). Entretanto, Suez et al. (2014) avaliando o uso de sacarina para ratos, constataram disbiose no intestino dos animais e, por consequência, intolerância à glicose.

Em estudo realizado por Glaser et al. (2000), foram testados quinze carboidratos, sete polióis e doze compostos naturais e artificiais usados como adoçantes em alimentos para humanos, com a finalidade de avaliar a preferência de leitões de 2 a 4 meses de idade e comparar com a preferência de humanos. Os autores constataram que existe diferença na sequência de preferência e na percepção do sabor doce entre humanos e leitões. Como no caso da sacarina sódica que foi cerca de 65 vezes menos doce para os leitões do que é para humanos.

Avaliando o comportamento alimentar de leitões recém-desmamados que receberam dieta sem adoçante ou contendo 0,015% de dois edulcorantes a base de sacarina sódica e neoesperidina dihidrochalcona (Sucram C-150 e Sucram 3D), Sterk et al. (2008) não observaram diferenças no consumo de ração durante o período experimental de 19 dias. Entretanto, Martinez et al. (2014), estudaram os efeitos do uso de 0,015% de edulcorante à base de sacarina e neoesperidina dihidrochalcona e de 3% de açúcar em dietas de leitões recém-desmamados, constatando maior consumo de ração e ganho de peso para os leitões que consumiram a dieta com edulcorante dos 21 aos 35 dias de idade. Os autores também observaram que os animais alimentados com dieta contendo edulcorante apresentaram maior peso relativo de estômago, e que essa dieta apresentou melhor viabilidade econômica em relação à dieta com açúcar e a dieta controle.

O neotame é outro palatabilizante não-nutritivo de alto potencial para utilização na dieta de leitões na fase pós-desmame. Derivado do aspartame, que pode ser de 30 a 60

vezes mais doce do que o açúcar para humanos, o neotame, (L-fenilalanina, N-[N-(3,3-dimetilbutil)-L-a-aspartil], 1-éster metílico) é o adoçante mais potente já descoberto, e o seu poder edulcorante pode chegar de 7.000 a 13.000 vezes mais doce que a sacarose para humanos, além de apresentar características como: ser estável em altas temperaturas, não ser carcinogênico, não teratogênico, não mutagênico e não tóxico (AGUILAR, 2007). O composto cristalino branco que pode ser obtido com neotame na forma de anidro ou, mais comumente, como hidreto, além das características supracitadas, ainda apresenta vantagem de ser estável em condições de armazenamento a seco (NOFRE; TINTI, 2000). Sua vida útil é estimada em anos em temperatura ambiente, uma vez que o composto, na forma de hidreto, não é higroscópico (NOFRE; TINTI, 2000). Ainda, de acordo com os autores, o palatabilizante tem notável sabor doce limpo, próximo à sacarose, não apresentando sabor residual amargo ou metálico que geralmente ocorrem nos outros adoçantes artificiais conhecidos.

Objetivando avaliar os efeitos da inclusão de neotame na dieta de leitões sobre características de desempenho produtivo, preferência alimentar, parâmetros hematológicos e bioquímicos, Zhu et al. (2016) observaram que os animais apresentaram preferência pela ração com adição de 30 mg/kg, ao invés da ração sem inclusão do palatabilizante. Detectaram melhoria do consumo de ração e ganho de peso quando o palatabilizante é incluído na ração, sugerindo que o melhor nível de inclusão do produto na dieta de leitões dos 21 aos 43 dias de idade seria de 18,0 a 20,4 mg/kg. Os autores não encontraram diferenças nos demais parâmetros avaliados e verificaram que até a dose de 500mg/kg na ração, o neotame não causou efeitos maléficos à saúde dos animais. Todavia, pesquisas avaliando o uso de neotame na alimentação de leitões na fase pós-desmame são limitadas e seus efeitos na base molecular ainda são desconhecidos.

Além da sacarina sódica e do neotame, outros edulcorantes puros ou na forma de misturas têm sido estudados para suínos. Munro et al., (2000) compararam uma dieta controle, com uma contendo 5% de sacarose e outras três com diferentes níveis do palatabilizante extraído da estévia (18,3, 167 e 334mg/kg) em leitões e não observaram diferenças no ganho de peso dos animais. Porém, observaram maior consumo de ração dos animais alimentados com dieta com açúcar, comparados àqueles que receberam dieta controle, mas com piora na conversão alimentar. Costa et al., (2003) quando avaliaram o uso 0,02 e 0,03% de inclusão de palatabilizantes a base de sacarina sódica e de dextrose em dietas simples e complexas, para leitões dos 6 aos 18 kg, não verificaram efeitos no desempenho e peso dos órgãos dos animais.

Apesar dos edulcorantes serem bastante utilizados na prática, particularmente, nas dietas de leitões, as respostas no estimulo no consumo de ração têm se mostrado inconsistentes. Isto talvez, possa ser atribuído aos níveis de inclusão utilizados nas dietas, normalmente, estabelecidos considerando-se o poder edulcorante para humanos, o que pode não ser equivalente para os suínos (GLASER et al., 2000).

2.5 – Teoria dos efeitos dos palatabilizantes

A importância do manejo de desmame na suinocultura é reconhecida e suas consequências são estudadas há anos. No intuito de amenizar os efeitos deletérios causados por essa prática, o uso de palatabilizantes na ração dos animais tem se mostrado benéfico em aspectos que vão além dos parâmetros zootécnicos geralmente avaliados.

Açúcares e palatabilizantes não nutritivos são primeiramente sentidos pelo receptor de sabor doce acoplado a proteína G, que é funcionalmente apresentado como heterodímero T1R2+T1R3, que se faz presente nas papilas gustativas da cavidade oral (TREESUKOSOL et al., 2011) e também nas partes distais do trato gastrintestinal (LIU et al., 2013). A detecção dessas substâncias doces por esses receptores faz com que se desencadeie uma série de eventos que leva a liberação de determinados hormônios intestinais, como o peptídeo insulinotrópico dependente de glicose (GIP), peptídeo semelhante a glucagon 1 (GLP-1), peptídeo semelhante a glucagon 2 (GLP-2) e a serotonina. Estes desempenham papeis críticos no controle de várias funções gastrintestinais e sua comunicação com o cérebro (REHFELD, 2004; SHIRAZI-BEECHEY et al., 2011).

O GIP é uma incretina liberada pelas células enteroendócrinas K, e atua na liberação de insulina dependente de glicose. Com estímulos dos quimiosensores do intestino, aumenta a atividade da lipase lipoproteica e lipogênese, juntamente com a insulina no tecido adiposo, além de aumentar a expressão da proteína inibidora de apoptose e inibir a expressão da proteína pró-apoptose da família do gene Bcl-2 (BAX) (LITVAK, 2010).

O GLP-1 e o GLP-2 são incretinas co-secretadas pelas células enteroendócrinas L, que atuam diretamente na saúde intestinal, uma vez que suprimem a apoptose celular e proteólise, estimulam a proliferação celular, exercem efeito trófico específico sobre o trato gastrintestinal, promovendo aumento da massa e da espessura da mucosa e melhorando a altura dos vilos. São secretados em resposta a estímulos nutricionais, hormonais e neurais (BURRIN et al., 2003). Os estímulos nutricionais que afetam a

secreção desses hormônios, além de carboidratos, incluem compostos não nutritivos presentes nas dietas, como os adoçantes artificiais (KAJI et al., 2013).

A serotonina é um neurotransmissor e seus níveis no cérebro estão relacionados a alterações de comportamento e humor, ansiedade, agressividade, depressão, sono, fadiga e supressão de apetite. Os mecanismos bioquímicos precisos pelos quais os neurônios serotoninérgicos controlam estas funções ainda não são totalmente esclarecidos. Existem, tanto em humanos como em animais, evidências de que a síntese de serotonina cerebral possa ser modulada dieteticamente através da oferta de macronutrientes, destacando-se, principalmente, a ingestão de carboidratos, proteínas e aminoácidos, como o triptofano (ROSSI; TIRAPEGUI, 2004).

Os suínos possuem a capacidade de absorver apenas carboidratos na forma de monossacarídeos, portanto, os carboidratos dietéticos são digeridos a compostos como glicose, galactose e frutose no intestino delgado através da amilase pancreática e das dissacaridases. A passagem das moléculas de glicose e galactose para dentro dos enterócitos é feita a partir do acoplamento com uma molécula de sódio (oriunda da bomba de sódio-potássio), e então são transportadas pelo co-transportador de glicose 1, sódio dependente (Na+/glucose co-transporter 1, o SGLT1), através de um gradiente eletroquímico. Quando são acumuladas no enterócito, são transferidas para a circulação sistêmica através da membrana basolateral por outro transportador, o GLUT2 (Figura 1) (SHIRAZI-BEECHEY, 1995; WRIGHT et al., 2007).

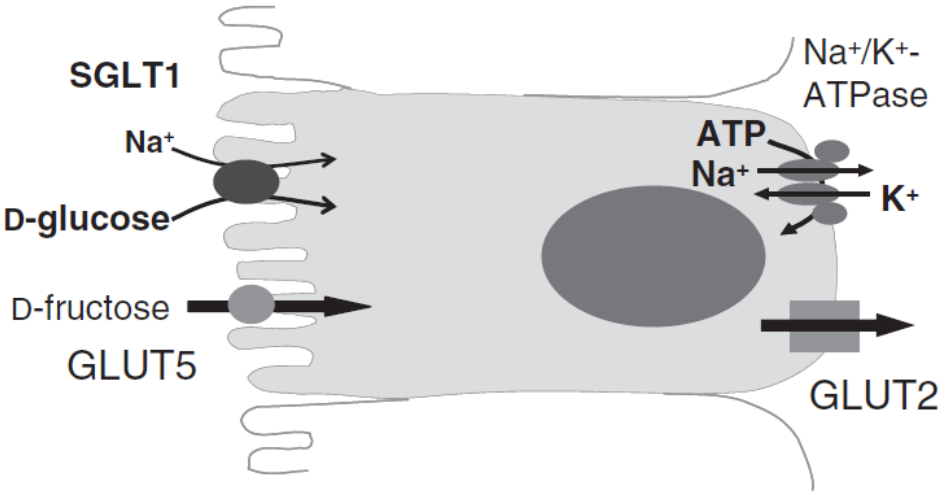

Figura 1. Diagrama esquemático de um enterócito com os transportadores SGLT1 e GLUT5 (transportador de frutose) na membrana luminal e o transportador GLUT2 na membrana basal (SHIRAZI-BEECHEY et al., 2011).

Os estudos sugerem que o SGLT1 é o principal transportador de carboidratos dietéticos no lúmen intestinal para o interior dos enterócitos, e a regulação dessa proteína é essencial para prover glicose ao organismo, ressaltando, assim, a importância que pode ter nas implicações nutricionais e clínicas (SHIRAZI-BEECHEY et al., 2011).

A expressão do SGLT1 ocorre na membrana da borda em escova das células dos vilos do intestino delgado, e seus níveis decrescentes de expressão obedecem a seguinte ordem: jejuno, duodeno, íleo e não há expressão no intestino grosso (BALEN et al., 2008; BINDER, 2010; MORAN et al., 2010; SHIRAZI-BEECHEY et al., 2011). A regulação da expressão do SGLT1 pode sofrer modulação pelos monossacarídeos presentes no lúmen intestinal (DYER et al., 1997), bem como de formas análogas à glicose por exemplo (DYER et al., 2003).

Os sensores presentes nas membranas das células no lúmen do intestino, responsáveis por detectar os compostos carboidratos (T1R2+T1R3), também são responsáveis por modular a expressão de SGLT1 em função de açúcares da dieta (DYER et al., 2005). De acordo com Parker et al., (2010) a secreção de GLP-1 pelas células L e GIP pelas células K ocorre em função da absorção de açúcar pela proteína SGLT1, sendo ela a provável mediadora das respostas diretas das células K e L aos açúcares no lúmen.

Moran et al. (2010) avaliaram o efeito da adição de sacarina sódica e neoesperidina sobre a expressão do SGLT1 nos vilos e nas criptas do intestino delgado de leitões recém-desmamados, constatando que os animais que consumiram esses palatabilizantes, aumentaram em 2,0 vezes a abundância de RNAm SGLT1, em 1,6 vezes a abundância de proteína SGLT1 e em 1,8 vezes a taxa inicial de transporte de glicose sódio dependente, quando comparados aos animais que consumiram dieta sem edulcorantes.

O Capítulo 2, intitulado "**Palatabilizantes em dietas de leitões desmamados: preferência alimentar, desempenho, morfometria e expressão gênica (SGLT1) intestinal**" apresenta-se de acordo com as normas do periódico Brazilian Journal of Animal Science, sob responsabilidade editorial da Sociedade Brasileira de Zootecnia; e teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão dos palatabilizantes sacarose, sacarina sódica e sacarina sódica associada a neotame em dietas de leitões desmamados, sobre a preferência alimentar, desempenho produtivo, glicose sanguínea, morfometria e expressão gênica do co-transportador de glicose 1 sódio dependente intestinal.

3. Referências

AGUILAR, F. Neotame as a sweetener and flavour enhancer. **The European Food Safety Authority Journal**, Chichester. v.581, p.1-43, 2007.

ALIMOV, T.; KONTESEVENKO, V.; KOZYR, Z. et al. Supplements to diet for piglets. In: **Nutrition Abstracts and Reviews-série B.** 1993. p.571.

ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA. AGRIANUAL: **Cana**. São Paulo, p.193-216, 2017.

ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA. ANUALPEC: **Suínos e outros**. São Paulo, p.193, 2017.

BACHMANOV, A. A. e BEAUCHAMP, G. K. Taste Receptor Genes. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto. v.27, p.389–414, 2007.

BALEN, D.; M. LJUBOJEVIC, D.; BRELJAK, et al. Revised imrnunolocalization of the Na+-D-glucose cotransporter SGLTl in rat organs with an improved antibody. **American Journal of Physiology. Cell Physiololgy**, Bethestda. v.295, n.2, p.475- 489, 2008.

BARBOSA, L. S. **Comportamento, fisiologia e desempenho de leitões desmamados com diferentes idades submetidos ao labirinto tipo cruzeta com parede de madeirite**. 2016. 108p. Dissertação (Mestre em Ciências) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.

BENDER, A. E. Effects on nutritional balance: antinutrients. In: Watson, D.H. **Natural toxicants in food: progress and prospects**. 1st ed. London: Ellis Horwood International Publishers, 1987. p.110-124.

BERTHOUD, H. R. e SEELEY, R. J. **Neural and metabolic control of macronutrient intake**. 1st ed. Boca Raton: CRC Press, 2000. 509p.

BINDER, H. J. Role of colonie short-chain fatty acid transport in diarrhea. **Annual Review of Physiology**, Palo Alto. v.72, p.297-313, 2010.

BRASIL, Instrução Normativa nº13, 30 de nov. 2004. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30/nov. 2004.

BRYDON, L.; MAGID, K.; STEPTOE, A. Platelets, coronary heart disease, and stress. **Brain, Behavior and Immunity**, Maryland Heights. v.20, p. 113–119, 2006.

BUDIÑO, F. E. L.; LUCCHESI, L.; OTSUK, I. P. Uso de edulcorante como palatabilizante na dieta de leitões desmamados. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa. v.71, n.1, p.58-62, 2014.

BÜNZEN, S.; SALGUERO, S.; ALBINO, L. F. T. et al. **Recente avanços na nutrição de suínos**. In: Simpósio Brasil Sul de Suinocultura, Chapecó, 2008.

BURRIN, D. G.; STOLL, B.; GUAN, X. Glucagon-like peptide-2 functions in domestic animals. **Domestical Animals Endocrinology**, Philadelphia. v.24, p.103–22, 2003.

CAMPOS, M. B. Chocolates sem adição de açúcar: matériasprimas, formulações, processo de produção e análise sensorial. In: Manual Técnico do Seminário Produtos Diet e Light, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas, 2000. p.154.

CAPOULAS, J. I. **Efeitos de duas idades de desmame (21 e 28 dias) na produtividade dos leitões e das porcas**. 2015. 89 p. Dissertação (Engenharia Zootécnica/Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária/Instituo Superior de Agronomia, Univerdidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.

CHAMONE, J. M. A.; MELO, M. T. P.; AROUCA, C. L. C. et al. Fisiologia digestiva de leitões. **Nutritime (Revista eletrônica**), Viçosa. v.7, n.5, p.1353-1363, 2010.

CHAMORRO, C. A.; DE PAZ, P.; FERNANDEZ, J. G. et al. Fungiform papillae of the pig and the wild boar analyzed by scanning electron microscopy. **Scanning Microscopy**, Chicago. v.7, n.1, p.313–320, 1993.

CHANDRASHEKAR, J.; HOON, M. A.; RYBA, N.J. et al. The receptors and cells for mammalian taste. **Nature**, London. v.444, p.288-294, 2006.

COSTA, L. L., LIMA, J. A. F.; FIALHO, E. T. et al. Palatabilizantes em dietas para leitões de 6 a 18 kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa. v.32, n.6, p.1633-1638, 2003.

CURTIS, S. E. **Environmental management in animal agriculture**. Ames the Iowa State University, 1983. 402p.

DONG, G.Z.; PLUSKE, J.R. The Low Feed Intake in Newly-weaned Pigs: Problems and Possible Solutions. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul. v. 20, p.440-452, 2007.

DYCE, K. M.; WENSING, C. J. G.; SACK, W. O. **Tratado de anatomia veterinária**. 3rd ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004, p.338-743.

DYER, J.; AL-RAMMAH, M.; WATERFALL, L. et al. Adaptive response of equine intestinal Na+/glucose co-transporter (SGLT1) to an increase in dietary soluble

carbohydrate. **Pflügers Archiv: European Journal of Physiology**, Heidelberg. v. 458, p.419-430, 2009.

DYER, J.; SALMON, K. S. H.; ZIBRIK, L. et al. Expression of sweet taste receptors of the T1R family in the intestinal tract and enteroendocrine cells. **Biochemical Society Transactions**, London. v.33, n.1, p.302-305, 2005.

EGECIOGLU, E.; SKIBICKA, K. P.; HANSSON, C. et al. Hedonic and incentive signals for body weight control. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, New York. v.12, p.141–151, 2011.

FORBES, J.M. Ingestão alimentícia e seleção em suínos: uma verdade impalatável. **In**: III SIMPÓSIO BRASIL SUL DE SUINOCULTURA. Chapecó, 2010. Anais... Chapecó: Abraves. 2010, 144 p. p. 15-22.

FRANDSON, R. D.; WILKE, W. L.; FAILS, A. D. **Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda**. 7th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011, p.191.

FREITAS, B.V. **Utilização de complexo enzimático na dieta de leitões**. 2011. 61 p. Dissertação (Nutrição e Produção Animal) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, São Paulo, Brasil.

GARDNER, C.; GIDDING, S. S.; JOHNSON, R. K. et al. Nonnutritive sweeteners: current use and health perspectives. **Circulation**, Prague. v.126, n.4, p.509-519, 2012.

GASPARDO, C. M.; LINHARES, M. B. M.; MARTINEZ, F. E. A eficácia da sacarose no alívio de dor em neonatos: revisão sistemática da literatura. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro. v.81, n.6, p.435-442, 2005.

GLASER, D.; WANNER, M.; TINTI, J. M. et al. Gustatory responses of pigs to various natural and artificial compounds known to be sweet in man. **Food Chemistry**, Amsterdam. v.68, p.375-385, 2000.

GOMES, C. R.; VISSOTTO, F. Z.; FADINI, A. L. et al. Influência de diferentes agentes de corpo nas características reológicas e sensoriais de chocolates diet em sacarose e light em calorias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas. v.27, n.3, p.614-623, 2007.

GRILL, H. J. e BERRIDGE, K. C. Taste reactivity as a measure of the neural control of palatability. **Progress in Psychobiology and Physiological Psychology**, San Diego. v.11, p.1-61, 1985.

HALLEL, H. Edulcorantes: comparación de productos naturales, artificiales y de alta intensidade. Aditivos y promotores del crecimiento. <http://www.produccion-

animal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/15edulcorantes.pdf.>Accesso em outubro de 2016.

KAJI, I.; AKIBA, Y.; KAUNITZ, J. D. Involvement of gut chemosensing in the regulation of mucosal barrier function and defense mechanisms. **Journal of Animal Science**, Cary. v.91, p.1957–1962, 2013.

KATO, R. W. **Energia metabolizável de alguns ingredientes para frangos de corte em diferentes idades**. 2005. 108p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

KELLY, D., SMITH, J. A., McCRAKEN, K. J. Digestive development of the early weaned pig - Effect of continuous nutrient supply on the development of the digestive tract and on changes in digestive enzyme activity during the first week post-weaning. **British Journal of Nutrition**, Cambridge. v.5, n.2, p.169-180, 1991.

KENNEDY, J. M.; BALDWIN, B. A. Taste preferences in pigs for nutritive and non-nutritive sweet solutions. **Animal Behaviour**, London. v.20, p.706-708, 1972.

KISSILEFF, H. R. e THORNTON, J. Facilitation and inhibition in the cumulative food intake curve in man. In: Morrison, A. L e STRICK, P. (Eds.). **Changing concepts of the nervous system**. New York: Academic Press, 1982. p.585- 607.

LAFORTUNA, C. L.; TABOZZI, S. A.; GIOVANNA, R. Functional brain imaging and its application to uncover mechanisms driving food intake in humans. **Journal of Biomedical Graphics and Computing**, Toronto. v.4, n.3, p.10-27, 2014.

LEWIS, A. J e SOUTHERN, L. L**. Swine nutrition.** 2nd ed. New York: CRC Press, 2001, 976p.

LITVAK, G. **Vitamins and Hormones - Incretins and Insulin Secretion**. 1st ed. San Diego: Elsevier. 2010, 461p.

LIU, Y.; IPHARRAGUERRE, I. R.; PETTIGREW, J. E. Potential applications of knowledge of gut chemosensing in pig production. **Journal of Animal Science**, Cary. v.91, p.1982–1990, 2013.

MACE, O. J. e MARSHALL, F. Gut chemosensing and the regulation of nutrient absorption and energy supply. **Journal of Animal Science**, Cary. v.91, p.1932–1945, 2012.

MAGGIONI, D.; MARQUES, J. A.; ROTTA, P. P. Ingestão de alimentos. **Semina**, Londrina. v.30, n.4, p.963-974, 2009.

MAIN, R. G.; DRITZ, S. S.; TOKACH, M. D. et al. Effects of weaning age on pig performance in three-site production. **Kansas Swine Industry Day Report of Progress**. v.920, p.35-41, 2002.

MANHANI, T. M.; CAMPOS, M. V. M.; DONATI, F. P. Sacarose, suas propriedades e os novos edulcorantes. **Revista Uniara**, Araraquara. v.17, n. 1, p. 113-125, 2014.

MARTENDAL, A. **O desenvolvimento do comportamento ingestivo e social de leitões lactentes**. 2009. 84p. Dissertação (Mestre em Agroecossistemas) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

MARTINEZ, J. F. **Palatabilizantes em dietas de leitões recém-desmamados.** 2012. 73p. Dissertação (Mestre em Zootecnia). Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

MARTINEZ, J. F.; AMORIM, A. B.; FARIA, D. E. et al. Palatabilizantes em dietas de leitões recém-desmamados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte. v.66, n.4, p.1207-1215, 2014.

MEESE, G. B. e EWBANK, R. The establishment and nature of the dominance hierarchy in the domestic pigs. **Animal Behaviour**, London. v.21, p.326-334, 1973.

MOESER, A. J.; KLOK, C. V.; RYAN, K. T. et. al. Stress signaling pathways activated by weaning mediate intestinal dysfunction in the pig. **American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology**, Bethesda. v.292, p.173–181, 2007.

MORAN, A. W.; AL-RAMMAHI, M. A.; ARORA, D. K. et al. Expression of Na1/glucose co-transporter 1 (SGLT1) is enhanced by supplementation of the diet of weaning piglets with artificial sweeteners. **British Journal of Nutrition**, Cambridge. v.104, p.637-646, 2010.

MUNRO, P. J.; LIRETTE, A.; ANDERSON, D. M. et al. Effects of a new sweetener, Stevia, on performance of newly weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa. v.80, n.3, p.529-531, 2000.

NAKAO, H.; YAMAZAKI, M.; TSUBOI, R. et al. Mixture of sugar and povidone—iodine stimulates wound healing by activating keratinocytes and fibroblast functions. **Archives of Dermatological Research**, Heidelberg. v.298, p.175-182, 2006.

NELSON, D. L. e COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5th ed. Porto Alegre: Artmed, 2011, p.236-237.

NOBLET, J. e PERES, J. M. Prediction of digestibility of nutrients and energy values of pigs diets from chemical analysis. **Journal of Animal Science**, Cary. v.71, n.12, p.3389-3398, 1993.

NOFRE, C. e TINTI, J. M. Neotame: discovery, properties, utility. **Food Chemistry**, Amsterdam. v.69, p.245-257, 2000.

OCHOA, M.; Lalle`s, J. P.; Malbert, C. H.; Laillet, D. V. Dietary sugars: their detection by the gut–brain axis and their peripheral and central effects in health and diseases. **European Journal of Nutrition**, Heidelberg. v.54, P.1-24, 2015.

PARKER, H. E.; REIMANN, F.; GRIBBLE, F. M. Molecular mechanisms underlying nutrient-stimulated incretin secretion. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, Cambridge. v.12, n.5, p.1-17, 2010.

PÉREZ, M. G. T. **The umami teste in pigs: L-amino acid preferences and in vivo recognition by the receptor dimer pt1r1/pt1r2 expressed in porcine teste and non-taste tissues**. 2009. 193p. Thesis (PhD in Veterinary) - Autonomous University of Barcelona, Cerdanyola del Vallès, 2009.

PINTO, D. E. **Efeito da suplementação isocalórica de sacarina e sacarose no ganho de peso, ingestão calórica, tolerância à glicose e consumo basal de oxigênio em ratos wistar**. 2014. 68p. Dissertação (Mestrado em Medicina). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J.; WILLIAMS, I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, Amsterdam. v.51, p.215-236, 1997.

PLUSKE, J. R.; LE DIVIDICH, J.; VERSTEGEN, M. W. A. **Weaning the pig: Concepts and consequences**. Wageningen Academic Publishers, 2003, 432 p.

QUIROGA, A. L. B. Dossiê edulcorantes: Edulcorantes. **Food Ingredients Brasil**, São Paulo. v.14, n.24, p.28-52, 2013.

RAHAL, F.; MIMICA I.; PEREIRA, V. et al. O açúcar no tratamento local das infecções de feridas cirúrgicas. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro. v.10, p.135-136, 1983.

REHFELD, J. E. A centenary of gastrointestinal endocrinology. **Hormone and Metabolic Research**, Stuttgart. v.36, n.11-12, p.735-741, 2004.

REIMANN, F.; TOLHURST, G.; GRIBBLE, F. M. G-protein-coupled receptors in intestinal chemosensation. **Cell Metabolism**, Cambridge. v.15, p.421-431, 2012.

ROLLS, E. T. e SCOTT, T. R. Central taste anatomy and neurophysiology. In: Doty, R. L. (Ed.). **Handbook of Olfaction and Gustation**. New York: Marcel Dekker, 2003. p.679-705.

ROSSI, L. e TIRAPEGUI, J. Implicações do Sistema Serotoninérgico no Exercício Físico. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, Humaitá. v.48, n.2, p.227-233, 2004.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos – Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Imprensa Viçosa: Universitária/UFV, 2017. 488p.

ROURA, E. e FU, M. Taste, nutrient sensing and feed intake in pigs (130 years of research: then, now and future). **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam. In press. 13p. 2017.

SHIRAZI-BEECHEY, S. P. Molecular biology of intestinal glucose transport. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge. v.8, p.27-41, 1995.

SHIRAZI-BEECHEY, S. P. Molecular Mechanisms Controlling Transmembrane Transport. In: Boles, E. e Kramer, R. (Eds.). **Topics in Current Genetics**. Heidelberg: Springer, 2004. p.1-22.

SHIRAZI-BEECHEY, S. P.; MORAN, A. W.; BRAVO, D. et al. Intestinal glucose sensing and regulation of glucose absorption: Implications for swine nutrition. **Journal of Animal Science**, Cary. v.89, p.1854–1862, 2011.

SOARES, T.G. **Efeitos da desmama com 12, 15 e 18 dias de idade sobre o desempenho de leitões**. 2004. 75 p. Tese (Medicina Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gearsi, Brasil.

SOUZA, G. P. P. **A influência do ambiente físico e social no bem-estar de leitões desmamados**. 2007. 86p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2007.

STERK, A.; SCHLEGEL, P.; MUL, A. J. et al. Effects of sweeteners on individual feed intake characteristics and performance in group-housed weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Cary. v.86, p.2990-2997, 2008.

SUBALO, R. C.; TOKACH, M. D.; DRITS, S. S. et al. Effects of varying creep feeding duration on the proportion of pigs consuming creep feed and neonatal pig performance. **Journal of Animal Science**, Cary. v.88, p.3154–3162, 2010.

SUEZ, J.; KOREM, T.; ZEEVI, D. et al. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. **Nature**, London. v.514, n.7521, p.181-186, 2014.

TALAMINI, T. J. D.; MARTINS, F. M.; ARBOIT, C. et al. Custos agregados da produção integrada de suínos nas fases de leitões e de terminação. **Custos e Agronegócio**, Recife. v.2 p.64-83, 2006.

TAVARES, M. L.; SOARES-FORTUNATO, J. M.; LEITE-MOREIRA, A. F. et al. Stress – Respostas fisiológicas e fisiopatológicas. **Revista Portuguesa de Psicossomática**, Lisboa. v.2, n.2, p.51-65, 2000.

TEMUSSI, P. A. Sweet, bitter and umami receptors: a complex relationship. **Trends in Biochemical Science**, Oxford. v.34, n.6, p.296-302, 2009.

TORLONI, M. R.; NAKAMURA, M. U.; MEGALE, A. et al. O uso de adoçantes na gravidez: uma análise dos produtos disponíveis no Brasil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro. v.29, n.5, p.267-275, 2007.

TREESUKOSOL, Y.; SMITH, K. R.; SPECTOR, A. C. The functional role of the T1R family of receptors in sweet taste and feeding. **Physiology and Behavior**, Philadelphia. v.105, p.14–26, 2011.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Livestock and Poultry: World Markets and Trade**. Foreign Agricultural Service/Office of Global Analysis, 26p. October 12, 2017.

VAN SOEST, P. J. **Intake**. In: Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Cornell: University Press, 1994, 488p.

VIEIRA, R. O.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. F. et al. Composição química e energia metabolizável de híbridos de milho para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa. v.36, n.4, p.832-838, 2007.

VYN, T. J. e TOLLENAAR, M. Changes in chemical and physical quality parameters of maize grain during three decades of yield improvement. **Field Crops Research**, Amsterdam. v.59, p.135-140, 1998.

WANG, L. S.; SHI, Z.; SHI, B. M.; et al. Effects of dietary stevioside/rebaudioside A on the growth performance and diarrhea incidence of weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam. v.187, p.104-109, 2014.

WEISS, R. G.; NECTOUX FILHO, J. L; FALLEIRO, R. P. et al. Tratamento da ferida operatória infectada: açúcar uma nova opção. **Revista da Associação Médica do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre. v.28, n.4, p.337-42, 1984.

WITT, M.; REUTTER, K.; MILLER, IJ. Morphology of peripheral taste system. In: Doty, R. L. (Ed.). **Handbook of Olfaction and Gustation**. New York: Marcel Dekker, 2003, p.651-677.

WRIGHT, E. M.; HIRAYAMA, B. A.; LOO, D. F. Active sugar transport in health and disease. **Journal of Internal Medicine**, Chichester. v.261, p.32-43, 2007.

XAVIER-FILHO, J. e CAMPOS, F. A. P. **Proteinase inhibitors**. In: CHEEK, P.R. 3rd ed. **Toxicants of plant origin**. Boca Raton: CRC Press, 1989. p.1-27.

YUANXIAO, W.; GENLAI, Z.; ZHIYONG, L. et al. Study on the application of stevioside in weaned piglets. **Chinese Journal of Animal Science**, Beijing. v.04, 2011.

ZHU, L.; WAN G.; DONG, B. et al. Effects of sweetener neotame on diet preference, performance and hematological and biochemical parameters of weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam. v. 214, pag. 86-94, 2016.

ZILIC, S.; MILASINOVIC, M.; TERZIC, D. Grain characteristics and composition of maize specialty hybrids. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madrid. v.9, n.1, p.230-241, 2011.

CAPÍTULO II

PALATABILIZANTES EM DIETAS DE LEITÕES DESMAMADOS: PREFERÊNCIA ALIMENTAR, DESEMPENHO, MORFOMETRIA E EXPRESSÃO GÊNICA (SGLT1) INTESTINAL

Palatabilizantes em dietas de leitões desmamados: preferência alimentar, desempenho, morfometria e expressão gênica (SGLT1) intestinal

RESUMO – O estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos do uso de palatabilizantes em dietas de leitões recém-desmamados sobre a preferência alimentar, desempenho, glicose sanguínea, morfometria e expressão gênica intestinal do co-transportador 1 da glicose sódio dependente (SGLT1). Para isso foram realizados seis experimentos (E1 a E6), em que nos E1, E3, E4 e E5 foram utilizados 32 leitões cada, com média de 21 dias de idade para avaliação de preferência alimentar das seguintes dietas: E1 - dieta sem palatabilizante, dieta com 5% de açúcar, dieta com 0,025% de sacarina sódica e dieta com 0,025% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame; E3 - dieta referência sem palatabilizante e dietas referências com inclusão de 0,015, 0,025 ou 0,035% de sacarina sódica; E4 - dieta referência sem palatabilizante e dietas referências com inclusão de 0,015, 0,025 ou 0,035% de sacarina sódica associada a neotame e E5 - dieta sem palatabilizante, dieta com 5% de açúcar, dieta com 0,035% de sacarina sódica e dieta com 0,035% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame. No E2 foram utilizados 120 animais dos 35 aos 62 dias de idade, que foram submetidos aos mesmos tratamentos do E1 para avaliar o desempenho e glicose sanguínea e no E6 foram utilizados 32 leitões com média de 23 dias de idade para avaliação da morfometria intestinal e expressão gênica do SGLT1, com os mesmos tratamentos do E5. No E1 e E5 os animais apresentaram preferência pela dieta contendo a inclusão de 5% de açúcar. No E3 os animais apresentaram preferência pela dieta contendo 0,035% de inclusão de sacarina sódica. Não houve diferença para os demais parâmetros avaliados.

Palavras-chave: açúcar, co-transportador 1 de glicose sódio dependente, neotame, sacarina sódica

Sweeteners on diets of weaned piglets: diet preference, performance, morphometry and gene expression (SGLT1) intestinal

ABSTRACT - The objective of the study was to evaluate the effects from sweeteners inclusions on weaned piglets diets on diet preference, performance, blood glucose, morphometry and intestinal gene expression of sodium/glucose co-transporter 1 (SGLT1). Six experiments were performed (E1 to E6). In E1, E3, E4 and E5 32 piglets were used in each experiment, averaging 21 days of age. Diet preference was evaluated for the following diets: E1 - diet without sweetener, diet with 5% sugar, diet with 0.025% of sodium saccharin and diet with 0.025% of sweetener based on sodium saccharin and neotame; E3 - diet without sweetener and diets with 0.015, 0.025 or 0.035% of sodium saccharin; E4 - diet without sweetener and diets with 0.015, 0.025 or 0.035% of sodium saccharin associated with neotame and E5 - diet without sweetener, diet with 5% sugar, diet with 0.035% of sodium saccharin and diet with 0.035% of sodium saccharin and neotame. In E2, 120 animals aged 35 to 62-d were used and performance and blood glucose were evaluated using the same treatments described for E1 and. In E6, 32 23-d old piglets were used to evaluate intestinal morphometry and gene expression of SGLT1, with the same treatments as E5. In E1 and E5, the animals showed preference for the diet containing 5% sugar. In E3 the animals presented preference for the diet containing 0.035% inclusion of sodium saccharin. There was no difference for the other parameters evaluated.

Keywords: neotame, saccharin sodium, sodium/glucose co-transporter 1, sugar

INTRODUÇÃO

O desmame de leitões, geralmente praticado nas granjas quando os animais possuem cerca de 21 dias de idade, é um dos manejos mais críticos na suinocultura industrial. Os animais são separados de suas mães e irmãos, alojados em baias coletivas com diferentes animas, onde ocorrem brigas por hierarquia e procede-se a troca de dieta líquida para sólida (Meese e Ewbank, 1973). Esses fatores estressores levam os animais a apresentarem baixo consumo de alimento ou anorexia transitória, resultante da deficiência de energia ingerida, que pode levar a baixo consumo e ração e ganho de peso (Graña, 2007).

Associada à falta de nutrientes, devido à baixa ingestão de ração pelos leitões após serem desmamados, a composição das dietas nessa fase possui grande quantidade de ingredientes de origem vegetal (Freitas, 2011), o que acarreta a injúrias no trato gastrintestinal e prejudica a digestão e absorção de nutrientes disponíveis para o animal (Grecco, 2014).

A alimentação tem sido uma ferramenta para contornar parte dos problemas do desmame. Busca-se usar ingredientes digestíveis e palatáveis para aumentar a ingestão de ração dos animais, entretanto, a utilização dessas estratégias nem sempre se mostram eficazes. Nesse sentido, o uso de palatabilizantes nas dietas de leitões visa não somente torná-las mais atrativas, mas também, efeitos tróficos para os animais (Munro et al., 2000; Moran et al., 2010; Budiño et al., 2014).

Existe vasta disponibilidade de palatabilizantes potencialmente eficazes para utilização na dieta de leitões, dentre eles, o açúcar, que além de apresentar característica bactericida (Weiss et al., 1984) tem se mostrado o palatabilizante preferido por leitões (Kennedy e Baldwin, 1972). Outro palatabilizante de destaque é a sacarina sódica que, além de não oferecer efeito energético para o organismo, pode ser de 300 a 500 vezes

mais doce que o açúcar para humanos (Quiroga, 2013). Estudos avaliando a utilização de sacarina sódica como palatabilizante na dieta de leitões na fase pós-desmame tem mostrado eficácia não somente para parâmetros de desempenho, mas, também, como melhorador de expressão de genes relacionados à absorção de nutrientes (Moran et al., 2010; Martinez, 2012).

O neotame é o palatabilizante mais potente já descoberto, que além de não exercer efeito energético, possuí vantagem de ser estável em altas temperaturas, não ser carcinogênico, não teratogênico, não mutagênico e não tóxico, tendo poder edulcorante de 7.000 a 13.000 vezes maior que o açúcar para humanos (Aguilar, 2007). Apesar de ser pouco avaliado como adoçante de dietas para leitões, estudos apontam que o mesmo tem potencial para tal função (Zhu et al., 2016).

Embora estudos mostrem que esses aditivos possuem capacidade de estimularem a ingestão de leitões após serem desmamados, informações sobre a quantidade a se usar para atender a preferência dos animais são importantes, uma vez que, de acordo com Glaser et al. (2000), o poder edulcorante de certos compostos é diferente entre humanos e suínos.

Assim, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos da inclusão dos palatabilizantes açúcar, sacarina sódica e sacarina sódica associada a neotame nas dietas de leitões desmamados sobre a preferência alimentar, desempenho, teores de glicose sanguínea, morfometria e expressão gênica do co-transportador 1 de glicose sódio dependente intestinal.

MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos envolvendo os animais em todos os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), protocolo número

146/2016, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Botucatu.

No total foram realizados seis experimentos (E) com leitões desmamados: E1 – preferência alimentar (dietas contendo níveis recomendados comercialmente de inclusão de palatabilizantes); E2 – desempenho produtivo e teor de glicose sanguínea (mesmas dietas do E1); E3 – preferência alimentar (dietas contendo níveis de sacarina sódica); E4 – preferência alimentar (dietas contendo níveis de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame); E5 – preferência alimentar (dietas contendo níveis que apresentaram melhor resposta no E3 e E4) e E6 – expressão do gene co-transportador de glicose 1 sódio dependente (SGLT1) e morfometria intestinal (mesmas dietas do E5).

Os experimentos foram conduzidos no Galpão de Creche na Unidade Experimental de Suínos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Botucatu (latitude 22° 49’07”S e longitude 48°24’40”O e elevação de 575 metros). O galpão de creche possui pé direito de 3,50m, paredes laterais de 1,8m de altura, paredes totalmente fechadas na frente e no fundo e cobertura com telhas metálicas. Nos vãos laterais havia cortinas de polietileno instaladas, com possibilidade de fechamento total dos vãos de 1,70m de altura.

Os leitões na creche foram alojados em baias metálicas suspensas medindo 2,0 x 1,75m (E1, E3, E4 e E5) ou 1,0 x 1,75m (E2 e E6), com 2/3 do piso de estrado de polietileno e 1/3 de concreto. As baias eram equipadas com comedouro tipo calha de PVC e bebedouro do tipo *nipple*. O controle de temperatura no interior do galpão foi realizado por manejo de cortinas laterais e campânulas elétricas presentes em cada baia.

Durante os períodos experimentais foram registradas, diariamente, a temperatura ambiente máxima e mínima no interior do galpão de creche com termômetros tipo capela

(Incoterm®), instalados nas extremidades do corredor central da instalação na altura de 1,60m do chão.

Nos experimentos de preferência alimentar (E1, E3, E4 e E5) os animais foram distribuídos de acordo com peso vivo e sexo, em grupos de quatro animais por baia. De acordo com a técnica estatística empregada, cada baia foi considerada um bloco, repetição e unidade experimental, pois possuía um comedouro com quatro divisórias e com três espaços de alimentação por divisória, o que possibilitava a realização de testes de preferência com quatro dietas e a alimentação simultânea de três leitões por divisória.

As quatro dietas avaliadas em cada um dos experimentos eram isonutritivas, foram formuladas de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2011) e fornecidas *ad libitum* de forma que os animais tivessem livre escolha entre elas. Diariamente, no período da manhã, a posição das rações nas divisórias dos comedouros era alternada em cada uma das baias para minimizar a interferência de eventual condicionamento do animal se alimentar num determinado local do comedouro.

Experimento 1 – Preferência alimentar (Níveis comerciais de palatabilizante)

Nesse experimento foram utilizados 64 leitões (32 machos castrados e 32 fêmeas) mestiços de linhagem comercial, com média de 21 dias de idade e peso vivo médio de 6,05±0,2kg, para avaliar a preferência alimentar por dietas contendo níveis recomendados comercialmente de palatabilizantes. Os animais foram distribuídos em grupos de quatro animais por baia, totalizando 16 baias, consideradas blocos, repetições e unidades experimentais de acordo com a técnica estatística empregada.

A duração do experimento foi de 12 dias, período em que as médias de temperaturas mínimas e máximas no interior do galpão de creche foram de 23,06º e 27,62ºC,

respectivamente. O peso vivo médio final foi de 9,39kg, e o ganho de peso diário de 0,278kg, por animal, durante o período experimental.

As quatro dietas avaliadas foram: dieta referência pré-inicial 1 sem palatabilizante (DR) (Tabela 1); dieta pré-inicial 1 com inclusão de 5% de açúcar em substituição a 5% de maltodextrina da DR; dieta pré-inicial 1 com inclusão de 0,025% de sacarina sódica em substituição a 0,025% de caulim da DR e dieta pré-inicial com inclusão de 0,025% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame em substituição a 0,025% de caulim da DR (Tabela 1). As dietas foram fornecidas na mesma baia, ao mesmo tempo, o que permitia os animais escolherem entre elas.

Durante o período experimental, a posição dos comedouros de cada uma das baias foi alternada diariamente, obedecendo a ordem apresentada na Tabela 2. As quantidades fornecidas, bem como as sobras de cada uma das dietas foram mensuradas. Também foram realizadas pesagens dos animais no início e no final do experimento.

Tabela 1. Composição centesimal e nutricional das dietas referência pré-inicial 1 (PI1), pré-inicial 2 (PI2) e inicial (I) sem palatabilizante

Ingredientes	Dietas		
	PI1	PI2	I
Milho	52,600	57,000	59,200
Farelo de soja	20,000	23,500	28,000
Soro de leite	8,000	2,000	-
Plasma sanguíneo	3,000	2,500	-
Maltodextrina	5,000	5,000	5,000
Óleo de soja	2,910	2,960	2,260
Farelo de gluten (60%)	3,000	2,000	1,000
Calcário calcitico	0,770	0,870	0,820
Fosfato bicálcico	1,700	1,670	1,520
Cloreto de sódio	0,300	0,350	0,500
L-Lisina HCL	0,730	0,570	0,480
DL-Metionina	0,250	0,190	0,138
L-Treonina	0,250	0,178	0,145
L-Triptofano	0,060	0,040	0,020
L-Isoleucina	0,125	0,050	-
L-Valina	0,190	0,100	0,045
Óxido de zinco	0,340	0,200	-
Cloreto de colina	0,090	0,090	0,090
Antibiótico[1]	0,105	0,002	0,002
Adsorvente	0,250	0,250	0,250
Antioxidante BHT	0,015	0,015	0,015
Premix mineral[2]	0,100	0,100	0,100
Premix vitamínico[3]	0,150	0,150	0,150
Caulim	0,065	0,215	0,265
Açúcar, Sac e Sac + Neotame[4]	-	-	-
TOTAL	100,00	100,00	100,00
Valores nutricionais calculados			
Energia metabolizável (kcal/kg)	3.400	3.375	3.309
Proteína bruta (%)	19,39	19,26	18,58
Cálcio (%)	0,845	0,830	0,77
Fósforo digestível (%)	0,452	0,420	0,38
Lisina digestível (%)	1,447	1,330	1,20
AAS digestíveis (%)[5]	0,811	0,750	0,65
Treonina digestível (%)	0,91	0,83	0,74
Triptofano digestível (%)	0,25	0,24	0,21
Valina digestível (%)	1,009	0,919	0,808

[1] Tiamulina (40%) e amoxilina (50%). [2] Quantidade por kg de ração: 100 mg Fe, 10 mg Cu, 30 mg Se, 40 mg Mn, 100 mg Zn, 1 mg Co. [3] Quantidade por kg de ração: 6000 UI/g vit. A, 1500 UI/g vit. D3, 32000 UI/kg vit. E, 1500 ppm vit. K3, 1350 ppm vit. B1, 4000 ppm vit. B2, 2000 ppm vit. B6, 20000 ppb UI vit. B12, 600 ppm ácido fólico, 9350 ppm mg ácido pantotênico, 20000 ppm niacina, 80 ppm biotina. [4] A inclusão de açúcar nas dietas era realizada pela substituição de percentual equivalente de maltodextrina das dietas referência; a inclusão de sacarina sódica nas dietas era realizada pela substituição de percentual equivalente de caulim das dietas referência; a inclusão de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame era realizada pela substituição de percentual equivalente de caulim das dietas referência. [5] Aminoácidos sulfurados digestíveis.

Tabela 2. Ordem de fornecimento diário das dietas nas quatro divisórias do comedouro de cada uma das baias[1]

Dias	Repartições do comedouro			
	1	2	3	4
1	DR	DA	DS	DSN
2	DA	DR	DSN	DS
3	DS	DSN	DR	DA
4	DSN	DS	DA	DR
5	DR	DA	DS	DSN
6	DA	DR	DSN	DS
7	DS	DSN	DR	DA
8	DSN	DS	DA	DR
9	DR	DA	DS	DSN
10	DA	DR	DSN	DS
11	DS	DSN	DR	DA
12	DSN	DS	DA	DR

[1] DR - dieta referência sem palatabilizante, DA - dieta com inclusão de 5% de açúcar, DS - dieta com inclusão de 0,025% de sacarina sódica e DSN - dieta com inclusão de 0,025% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame.

Os dados foram submetidos a técnica da análise de variância multivariada com o modelo de medidas repetidas, complementada com o teste de comparações múltiplas de Bonferroni, considerando o nível de 5% de significância (Johnson e Wichern, 2007).

Experimento 2 – Desempenho e glicose (Níveis comerciais de palatabilizantes)

Um total de 120 leitões mestiços de linhagem comercial (60 machos castrados e 60 fêmeas) com médias de idade e peso de 35 dias e 9,77±1,8kg, respectivamente, foram distribuídos em número de três por baia, blocados de acordo com peso e sexo.

O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados, com quatro tratamentos e dez repetições. Os quatro tratamentos estudados foram: dietas referência pré-inicial 2 e inicial sem palatabilizante (Tabela 1); dietas pré-inicial 2 e inicial com inclusão de 5% de açúcar em substituição a 5% de maltodextrina das dietas referências sem palatabilizante; dietas pré-inicial 2 e inicial com inclusão de 0,025% de sacarina sódica em substituição a 0,025% de caulim das dietas referências sem palatabilizante e dietas pré-inicial 2 e inicial com inclusão de 0,025% de palatabilizante a base de sacarina

sódica e neotame em substituição a 0,025% de caulim das dietas referência sem palatabilizante.

Durante o período experimental de 26 dias os animais receberam dieta pré-inicial 2 nos primeiros 13 dias e dieta inicial nos últimos 13 dias. As dietas de cada uma das fases eram isoenergéticas e isoprotéicas e foram formuladas para atender as exigências nutricionais de leitões de acordo com recomendações de Rostagno et al. (2011), conforme descrito anteriormente na Tabela 1.

As médias das temperaturas mínimas e máximas no interior do galpão de creche foram de 22,49º e 29,19ºC, respectivamente. Foram realizadas pesagens das rações fornecidas e das sobras, bem como dos animais no início do experimento, no final da fase pré-inicial 2 (13º dia do experimento) e no final da fase inicial (26º dia do experimento) para os cálculos do consumo de ração diário (CRD), ganho de peso diário (GPD) e da conversão alimentar (CA).

Após a última pesagem dos animais, foi selecionado um leitão por baia, com o peso mais próximo ao peso médio da baia, para coleta de amostra de 4mL de sangue por punção da veia jugular usando tubos a vácuo contendo fluoreto de sódio (BD Vacutainer, Franklin Lakes, NJ, USA). Após a coleta, as amostras foram centrifugadas (Centribio, modelo 80-2B, China) a 3000 rpm e 60 Hz por 15 minutos para obtenção do soro, que foi utilizado para determinação do teor de glicose pelo método enzimático-colorimétrico usando *kit* bioquímico (Bioclin, Belo Horizonte, MG, Brasil) com leitura em espectrofotômetro (Evolution-60 / Thermo Fisher Scientific - Madison, Wisconsin, USA).

Os dados de desempenho produtivo e teor de glicose sanguínea foram submetidos a técnica de análise de variância (ANOVA) pelo PROC GLM do SAS 9.3 (2001) e as médias comparadas pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância.

Experimento 3 – Preferência alimentar (Níveis de sacarina sódica)

Neste experimento, 32 leitões mestiços de linhagem comercial, com idade média de 23 dias e peso médio de 6,85±0,4kg, foram distribuídos em número de quatro por baia, totalizando oito baias (consideradas blocos, repetições e unidades experimentais de acordo com a técnica estatística empregada), para estudar a preferência alimentar pelas seguintes dietas: dieta referência pré-inicial 1 sem palatabilizante (DR); dieta pré-inicial 1 com inclusão de 0,015% de sacarina sódica em substituição a 0,015% de caulim da DR; dieta pré-inicial 1 com inclusão de 0,025% de sacarina sódica em substituição a 0,025% de caulim da DR e dieta pré-inicial 1 com inclusão de 0,035% de sacarina sódica em substituição a 0,035% de caulim da DR (Tabela 1). As dietas foram fornecidas na mesma baia, ao mesmo tempo, o que permitia os animais escolherem entre elas.

O experimento teve duração de 14 dias e as médias das temperaturas mínima e máxima no período no interior do galpão de creche foram de 22,71º e 28,83ºC, respectivamente. O peso vivo médio final foi de 10,24kg, e o GPD de 0,242kg, por animal, durante o período experimental.

Durante o período experimental a posição dos comedouros em cada uma das baias foi alternada diariamente, segundo a ordem apresentada na Tabela 3. As quantidades fornecidas e as sobras de cada uma das dietas avaliadas foram mensuradas. Também foram realizadas pesagens dos animais no início e no final do experimento.

Os dados foram submetidos a técnica da análise de variância multivariada para o ajuste da regressão bilogarítmica do consumo de ração em função do nível expresso no modelo linear logCR=a+b.log(nível + 1), e complementada com o teste o de Bonferroni, para as comparações nos níveis considerados (Johnson e Wichern, 2007), considerando-se 5% de significância.

Tabela 3. Ordem de fornecimento diário das dietas nas quatro divisórias do comedouro de cada uma das baias[1]

Dia experimental	Baia	Repartições do comedouro			
		1	2	3	4
1	1	DS3	DS2	DS1	DR
	2	DS3	DS1	DS2	DR
	3	DS2	DS1	DS3	DR
	4	DR	DS3	DS2	DS1
	5	DS2	DR	DS3	DS1
	6	DS1	DR	DS2	DS3
	7	DS2	DS1	DS3	DR
	8	DS2	DS3	DS1	DR
2	1	DS2	DS3	DR	DS1
	2	DS1	DS3	DR	DS2
	3	DS1	DS2	DR	DS3
	4	DS3	DR	DS1	DS2
	5	DR	DS2	DS1	DS3
	6	DR	DS1	DS3	DS2
	7	DS1	DS2	DR	DS3
	8	DS3	DS2	DR	DS1
3	1	DS1	DR	DS3	DS2
	2	DS2	DR	DS3	DS1
	3	DS3	DR	DS2	DS1
	4	DS2	DS1	DR	DS3
	5	DS3	DS1	DS2	DR
	6	DS2	DS3	DS1	DR
	7	DS3	DR	DS2	DS1
	8	DS1	DR	DS2	DS3
4	1	DR	DS1	DS2	DS3
	2	DR	DS2	DS1	DS3
	3	DR	DS3	DS1	DS2
	4	DS1	DS2	DS3	DR
	5	DS1	DS3	DR	DS2
	6	DS3	DS2	DR	DS1
	7	DR	DS3	DS1	DS2
	8	DS3	DS2	DS1	DR
... [2]					

[1] DR - dieta basal sem palatabilizante, DS1 - dieta com inclusão de 0,015% de sacarina sódica, DS2 - dieta com inclusão de 0,025% de sacarina sódica e DS3 - dieta com inclusão de 0,035% de sacarina sódica. [2] Após o quarto dia experimental, a ordem de fornecimento diário das dietas nas quatro repartições foi repetida como mostra a tabela até o 14º dia experimental.

Experimento 4 – Preferência alimentar (Níveis de sacarina sódica + neotame)

Foram utilizados 32 leitões mestiços de linhagem comercial, com média de 26 dias de idade e peso vivo médio de 7,64±0,7kg. Os animais foram alojados em grupos de

quatro por baia, totalizando oito baias (consideradas blocos, repetições e unidades experimentais de acordo com a técnica estatística empregada), para avaliar a preferência alimentar pelas seguintes dietas: dieta referência pré-inicial 1 sem palatabilizante (DR); dieta pré-inicial 1 com inclusão de 0,015% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame em substituição a 0,015% de caulim da DR; dieta pré-inicial 1 com inclusão de 0,025% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame em substituição a 0,025% de caulim da DR e dieta pré-inicial 1 com inclusão de 0,035% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame em substituição a 0,035% de caulim da DR (Tabela 1). As dietas foram fornecidas na mesma baia, ao mesmo tempo, o que permitia os animais escolherem entre elas.

As médias das temperaturas mínima e máxima no interior do galpão de creche durante o período experimental de 14 dias foram de 22,36º e 30,04ºC, respectivamente. O peso vivo médio final foi de 10,64kg, e o ganho de peso diário de 0,214kg, por animal, durante o período experimental

Ao longo do experimento a posição dos comedouros em cada uma das baias foi alternada diariamente, segundo a ordem apresentada na Tabela 4. As quantidades fornecidas, as sobras de cada uma das rações avaliadas foram mensuradas. Também foram realizadas pesagens dos animais no início e no final do experimento.

Os dados foram submetidos a técnica da análise de variância multivariada para o ajuste da regressão bilogarítmica do consumo de ração em função do nível expresso no modelo linear logCR=a+b.log(nível + 1), e complementada com o teste o de Bonferroni, para as comparações nos níveis considerados (Johnson e Wichern, 2007), considerando-se 5% de significância.

Tabela 4. Ordem de fornecimento diário das dietas nas quatro divisórias do comedouro de cada uma das baias[1]

Dia experimental	Baia	Repartições do comedouro			
		1	2	3	4
1	1	DSN3	DSN2	DSN1	DR
	2	DSN3	DSN1	DSN2	DR
	3	DSN2	DSN1	DSN3	DR
	4	DR	DSN3	DSN2	DSN1
	5	DSN2	DR	DSN3	DSN1
	6	DSN1	DR	DSN2	DSN3
	7	DSN2	DSN1	DSN3	DR
	8	DSN2	DSN3	DSN1	DR
2	1	DSN2	DSN3	DR	DSN1
	2	DSN1	DSN3	DR	DSN2
	3	DSN1	DSN2	DR	DSN3
	4	DSN3	DR	DSN1	DSN2
	5	DR	DSN2	DSN1	DSN3
	6	DR	DSN1	DSN3	DSN2
	7	DSN1	DSN2	DR	DSN3
	8	DSN3	DSN2	DR	DSN1
3	1	DSN1	DR	DSN3	DSN2
	2	DSN2	DR	DSN3	DSN1
	3	DSN3	DR	DSN2	DSN1
	4	DSN2	DSN1	DR	DSN3
	5	DSN3	DSN1	DSN2	DR
	6	DSN2	DSN3	DSN1	DR
	7	DSN3	DR	DSN2	DSN1
	8	DSN1	DR	DSN2	DSN3
4	1	DR	DSN1	DSN2	DSN3
	2	DR	DSN2	DSN1	DSN3
	3	DR	DSN3	DSN1	DSN2
	4	DSN1	DSN2	DSN3	DR
	5	DSN1	DSN3	DR	DSN2
	6	DSN3	DSN2	DR	DSN1
	7	DR	DSN3	DSN1	DSN2
	8	DSN3	DSN2	DSN1	DR
...[2]					

[1] DR - dieta referência sem palatabilizante, DSN1 - dieta com inclusão de 0,015% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame, DSN2 - dieta com inclusão de 0,025% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame e DSN3 - dieta com inclusão de 0,035% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame. [2] Após o quarto dia experimental, a ordem de fornecimento diário das dietas nas quatro repartições foi repetida como mostra a tabela até o 14º dia experimental.

Experimento 5 – Preferência alimentar (Níveis do E3 e E4 de palatabilizantes)

O experimento foi conduzido para avaliar a preferência alimentar de leitões por dietas contendo os níveis de sacarina sódica e da mistura de sacarina sódica e neotame

que promoveram maior consumo de ração no E3 e E4, respectivamente. Para isso foram utilizados 32 leitões mestiços de linhagem comercial, com médias de 26 dias de idade e peso vivo 7,51±0,70kg, os quais foram confinados em número de quatro animais por baia, totalizando oito baias (consideradas blocos, repetições e unidades experimentais de acordo com a técnica estatística empregada). Os quatro tratamentos avaliados foram: dieta referência pré-inicial 1 sem palatabilizante (DR); dieta pré-inicial 1 com inclusão de 5% de açúcar em substituição a 5% de maltodextrina da DR; dieta pré-inicial 1 com inclusão de 0,035% de sacarina sódica em substituição a 0,035% de caulim da DR e dieta pré-inicial 1 com inclusão de 0,035% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame em substituição a 0,035% de caulim da DR (Tabela 1). As dietas foram fornecidas na mesma baia, ao mesmo tempo, o que permitia os animais escolherem entre elas.

A temperatura média, mínima e máxima, durante o período experimental de 14 dias foi de 20,47º e 27,41ºC, respectivamente. O peso vivo médio final foi de 11,84kg, e o ganho de peso diário de 0,309kg, por animal, durante o período experimental.

Diariamente, durante todo o experimento, a posição dos comedouros em cada uma das baias foi alternada, segundo a ordem apresentada na Tabela 5. As quantidades fornecidas, as sobras de cada uma das rações avaliadas foram mensuradas. Também foram realizadas pesagens dos animais no início e no final do experimento.

Os resultados foram submetidos a técnica da análise de variância multivariada com o modelo de medidas repetidas, complementada com o teste de comparações múltiplas de Bonferroni, considerando o nível de 5% de significância (Johnson e Wichern, 2007).

Tabela 5. Ordem de fornecimento diário das dietas nas quatro divisórias do comedouro de cada uma das baias[1]

Dia experimental	Baia	Repartições do comedouro			
		1	2	3	4
1	1	DSN	DS	DA	DR
	2	DSN	DA	DS	DR
	3	DS	DA	DSN	DR
	4	DR	DSN	DS	DA
	5	DS	DR	DSN	DA
	6	DA	DR	DS	DSN
	7	DS	DA	DSN	DR
	8	DS	DSN	DA	DR
2	1	DS	DSN	DR	DA
	2	DA	DSN	DR	DS
	3	DA	DS	DR	DSN
	4	DSN	DR	DA	DS
	5	DR	DS	DA	DSN
	6	DR	DA	DSN	DS
	7	DA	DS	DR	DSN
	8	DSN	DS	DR	DA
3	1	DA	DR	DSN	DS
	2	DS	DR	DSN	DA
	3	DSN	DR	DS	DA
	4	DS	DA	DR	DSN
	5	DSN	DA	DS	DR
	6	DS	DSN	DA	DR
	7	DSN	DR	DS	DA
	8	DA	DR	DS	DSN
4	1	DR	DA	DS	DSN
	2	DR	DS	DA	DSN
	3	DR	DSN	DA	DS
	4	DA	DS	DSN	DR
	5	DA	DSN	DR	DS
	6	DSN	DS	DR	DA
	7	DR	DSN	DA	DS
	8	DSN	DS	DA	DR
...[2]					

[1] DR - dieta referência sem palatabilizante, DA - dieta com inclusão de 5% de açúcar, DS - dieta com inclusão de 0,035% de sacarina sódica e DSN - dieta com inclusão de 0,035% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame. [2] Após o quarto dia experimental, a ordem de fornecimento diário das dietas nas quatro repartições foi repetida como mostra a tabela até o 14º dia experimental.

Experimento 6 – Expressão gênica e morfometria intestinal

Foram utilizados 32 leitões (16 machos e 16 fêmeas) mestiços de linhagem comercial com média de 26 dias de idade e peso médio de 7,27±0,7kg, alojados de acordo com peso vivo em baias de creche.

O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados, com quatro dietas pré-iniciais 1 e oito repetições, sendo o animal a unidade experimental. As dietas avaliadas foram as quatro dietas descritas no experimento 5.

Durante o período experimental (14 dias) a temperatura média mínima e máxima foi de 17,97º e 24,78ºC, respectivamente. No 14º dia de experimento os animais foram eutanasiados por exsanguinação após eletronarcose, semelhante à forma de abate comercial, para coleta de material para as seguintes análises:

Expressão gênica do co-transportador 1 de glicose sódio dependente no jejuno

As análises de expressão gênica foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Animal do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq) da Universidade de São Paulo (USP), Campus de Piracicaba. Foi estudado o gene co-transportador 1 de glicose sódio dependente (*SGLT1*), utilizando metodologia de PCR quantitativa em tempo real (RT-qPCR). Na ocasião, foram utilizados três genes referência com alta estabilidade de expressão para calibração das corridas da metodologia, conforme proposto por Moran et al. (2010) e Uddin et al. (2011), sendo eles o *ACTB* (beta actina) envolvido na estrutura celular e motilidade; *RPL4* (proteína ribossomal L4) constituinte de ribossomo e envolvido na síntese proteica (Alberts et al., 2010) e *PPIA* (Peptidil-prolil isomerase A) enzima envolvida no desdobramento de proteínas (Lang et al., 1987).

Coleta de amostras de tecidos

Imediatamente após a eutanásia, os animais foram eviscerados e coletou-se amostras de aproximadamente 5mm da porção média do jejuno, que foram colocadas em criotubos com isolante, de 1,5mL, contendo 1mL de solução inibidora de RNase (RNAlater Tissue Collection: RNA Stabilization Solution, Applied Biosystems), e posteriormente armazenadas em freezer -20ºC.

Extração de RNA total

Para extração do RNA total, as amostras foram retiradas da solução com inibidor de RNase após serem descongeladas, removendo o excesso com papel toalha e acondicionadas em tubos de 1,5mL contendo 1mL de trizol (TRIzol Reagent – Invitrogen). Em seguida, foram homogeneizadas (T10 Ultra Turrax – IKA) e, após a homogeneização, as amostras foram incubadas em temperatura ambiente por 5 minutos e posteriormente se adicionou 200µL de clorofórmio, agitou-se 30 vezes e incubou-se por mais 5 minutos em temperatura ambiente.

Depois da incubação em temperatura ambiente, as amostras foram centrifugadas a 13.000 rpm por 15 minutos a 4ºC (Centrifuge 5403 - Eppendorf), e o material foi separado em três fases: fase aquosa superior (transparente: RNA); interfase (branca: clorofórmio, DNA e proteínas) e fase inferior orgânica (avermelhada: fenol). Então, foram retirados 400µL da fase superior, que foram transferidos para tubo de 1,5mL, em que foram adicionados 500µL de isopropanol e homogeneizados em *vortex* (Vortex Mixer – Fischer Scientific). Após incubação de 10 minutos em temperatura ambiente, foram novamente centrifugados a 12.000 rpm por 10 minutos a 4ºC, descartou-se o sobrenadante e se obteve o *pellet* de RNA. Em seguida foi adicionado 1mL de etanol refrigerado 75% preparado com água tratada com dietil pirocarbonato (DEPC), ressuspendeu-se levemente os tubos para soltar o *pellet*, sendo essa etapa repetida duas vezes para melhor leitura de concentração nas etapas seguintes. Após a segunda lavagem, para ressuspensão do *pellet*, se centrifugou a 11.000 rpm por 5 minutos a 4ºC, se descartou o sobrenadante (etanol), o material remanescente foi seco e posteriormente adicionado 20µL de água ultrapura.

Após a extração do RNA total foi feita a verificação de sua integridade. Para isso, foram aplicados 2µL de cada amostra contendo 2,0µL de corante azul de bromofenol e 0,5µL de gel red (agente intercalante de RNA) em gel de agarose (1%) e realizada a

eletroforese. Foram observadas três bandas estruturais de RNA ribossômico (28S, 18S e 5,8S), indicando ausência de degradação das amostras (Figura 2, anexo).

A concentração de RNA total das amostras foi determinada em espectrofotômetro (NanoDrop 2000), considerando a relação ideal de absorbância de 1,8 ≤ A260/280 nm≤ 2,0. Em seguida as amostras foram diluídas em água DEPC, para a concentração final de 0,5 μg/μL.

Tratamento com DNase e síntese do cDNA

Antes da síntese de cDNA, as amostras contendo o RNA total foram tratadas com enzima DNAse de *kit* comercial para degradação de possível DNA genômico existente. Diluiu-se a quantidade de RNA total de cada amostra de modo que a concentração final fosse de 250ng/μL, e posteriormente foi adicionado 1,0μL de enzima DNAse; 1,0μL de Buffer a base de $MgCl_2$; 0,5μL de enzima RNAse OUT e completado com água DEPC para obtenção de volume final de 10,0μL. As amostras foram colocadas em termociclador (T100 Thermal Cycler – BIO-RAD) a 37ºC por 30 minutos e em seguida foi adicionado 1,0μL de "stop solution" para inativação da enzima DNAse e acondicionadas novamente em termociclador a 65ºC por 10 minutos.

Após as amostras serem tratadas com DNAse, foi adicionado 1,0μL de *Primer* Oligo dT para início da síntese de cDNA (realizada de acordo com o protocolo do *kit* ImProm-IITM Reverse Transcription System - Promega) e foram incubadas por 70ºC por 5 minutos e em seguida acondicionas em gelo por mais 5 minutos e ressuspendidas para baixar o volume depositado na parede do tubo. Então, foram adicionados 4,0μL de Reaction Buffer 5X; 1,2μL $MgCl_2$ (25 mM); 1,0μL dNTP *mix* (10 mM cada dNTP); 0,5μL de RNasin; 1,0μL de enzima transcriptase reversa e 0,3μL água livre de nuclease. As amostras então foram incubadas a 25ºC por 5 minutos, depois a 42ºC por 1 hora para transcrição reversa e pôr fim a 70ºC por 15 minutos para inativação enzimática.

Primers

Para amplificação dos genes estudados foram usados *primers* liofilizados específicos com aproximadamente 20 bases, da empresa Integrated DNA Technologies (IDT). Os *primers* dos genes constitutivos (ACTB, RPL4 e PPIA) foram desenhados por Moran et al. (2010) e Uddin et al. (2011), enquanto um par de *primer* específico foi utilizado para amplificação do gene alvo (SGLT1), desenhado por Moran et al. (2010) (Tabela 6).

Tabela 6. Identificação dos *primers* peptidil-prolil isomerase A (PPIA), proteína ribossomal L4 (RPL4), beta actina (ACTB) e co-transportador 1 de glicose sódio dependente (SGLT1) dos genes referência e gene alvo utilizados na RT-qPCR[1]

Gene	Número de Acesso (NCBI)	*Primers*	Sequência (5'→ 3')
PPIA[2]	NM_214353.1	Direto	CACAAACGGTTCCCAGTTTT
		Reverso	TGTCCACAGTCAGCAATGGT
RPL4[2]	DQ845176.1	Direto	AGGAGGCTGTTCTGCTTCTG
		Reverso	TCCAGGGATGTTTCTGAAGG
ACTB[3]	DQ452569	Direto	CGAGGCCCAGAGCAAGAG
		Reverso	TCCATGTCGTCCCAGTTGGT
SGLT1[3]	M34044	Direto	AAAGGAGAGGTCTGGGATGGTAA
		Reverso	ATTTCCCTAGTGGCCTGAGATTG

[1] Teste de eficiência de amplificação [2] Primers desenhados por Uddin et al. (2011) [3] Primers desenhados por Moran et al. (2010).

Para verificação da eficácia do tratamento das amostras com DNAse e a síntese de cDNA foi adotada técnica de PCR, para posterior visualização por eletroforese das bandas e avaliação da qualidade e da melhor temperatura de anelamento dos *primers* (Figura 3, anexo*)*. Foi feito um *pool* com 0,1µL de cada amostra contendo cDNA, que foram distribuídas em cinco temperaturas (54, 56, 58, 60 e 62ºC) para cada conjunto de *primer* avaliado (três referências e um alvo). Adicionou-se 1,0µL de Buffer 10X; 0,3µL de MgCl2 (50 Mm); 0,25µL de dNTP (10 mM); 0,4µL de *Primer* Forward (5 mM); 0,4µL de *Primer* Reverse (5 mM); 0,1µL Platinum-TAQ e 6,55µL de água ultrapura.

Os tubos com as amostras e os reagentes foram colocados em termociclador (Veriti 96 Well Thermal Cycler – Applied Biosystems), distribuídos de acordo com as

temperaturas (54, 56, 58, 60 e 62ºC) com tubos de controle negativo (sem RNA e cDNA), utilizando-se da configuração: 1) 94ºC por 1,5 minutos; 2) 94ºC por 30 segundos; 3) temperaturas avaliadas por 45 segundos; 4) 73ºC por 45 segundos, sendo essas etapas repetidas por trinta e quatro vezes; 6) 73ºC por 5 minutos e posteriormente resfriadas a 4ºC. Para visualização das bandas e verificação da qualidade foi adotada a técnica de eletroforese, em que foram adicionados 2,0µL de azul de bromofenol, 0,5µL de Red e 1,0µL, e realizada corrida em gel de agarose (1%).

Para verificação da síntese de cDNA específica de cada amostra, também foi adotada técnica de PCR seguindo os mesmos procedimentos descritos anteriormente, mas ao invés de se utilizar o *pool* de amostras, utilizou-se de cada amostra individualmente, e feito somente para um par de *primer* (ACTB). Para visualização da eficácia do tratamento com DNase e síntese de cDNA dessas amostras foi adotada técnica de eletrofosere com corrida em gel de agarose (1%) (Figura 4, anexo).

Primeiro, adotou-se a técnica de RT-pPCR com o equipamento LightCycler® 480 System II (Roche) para verificação da melhor diluição das amostras utilizando do *kit* Improm II (Invitrogen) para todos os quatro genes. Para isso se utilizou 1µL do *pool* das amostras diluídas em 1:2, 1:4, 1:8 e 1:16; 2,5µL de água do *kit* livre de nucleases; 0,8µL de cada *primer* e 5,0µL de Syber Green®, totalizando 10,0µL. Em seguida, para reação de RT-qPCR foi adotada a seguinte configuração: Pré-incubação a 95ºC por 5 minutos e Amplificação, que foi subdividida em desnaturação (95ºC por 15 segundos), anelamento (58ºC por 20 segundos) e extensão (72ºC por 20 segundos) que se perfizeram em 35 ciclos (Figura 5, anexo).

Após os procedimentos descritos (extração do RNA total, verificação da integridade do RNA; tratamento com DNase e síntese do cDNA e suas respectivas verificações; verificação da especificidade dos *primers*, com suas temperaturas de anelamento (58º

para todos os genes) e melhores concentrações (1:4 para todos os genes), foram feitas as análises de RT-qPCR para as amostras e os genes em questão.

PCR Quantitativa em Tempo Real

Todos os genes foram quantificados quanto à sua expressão relativa pelo método RT-qPCR no equipamento LightCycler® 480 System II (Roche). Se utilizou 2,0µL de amostras diluídas 1:4; 2,5µL de água do *kit* livre de nucleases; 0,8µL de cada *primer* e 5,0µL de Syber Green®, totalizando 10,0µL.

O protocolo seguido para reação de RT-qPCR foram pré-incubação a 95ºC a 5 minutos e amplificação, que foi subdividida em desnaturação (95ºC a 15 segundos), anelamento (58ºC 20 segundos) e extensão (72ºC a 20 segundos) que se perfizeram em 35 ciclos. Após o término da reação de RT-qPCR, foram geradas curvas de *melting* para cada gene, bem como disponibilizados valores de Ct de cada amostra.

Todos testes de RT-qPCR incluíram uma amostra sem cDNA como controle negativo de cada gene, um calibrador do gene PPIA e outro do gene RPL4 a partir do *pool* de todas as amostras, e cada análise de cada amostra individual foi feita em triplicata.

Os resultados de expressão gênica foram gerados e registrados como valores de Que (Quantification cycle), e analisados utilizando os valores de Ct (Threshold Cycle) das amostras, levando-se em consideração a correção da eficiência dos *primer*s. Foi possível obter a quantidade relativa de expressão de mRNA do SGLT1 normalizada para a beta-actina (ACTB), com o *software* Rest-MCS®, versão 2 (2006). Não utilizaram-se dos genes PPIA e RPL4 para normalização do gene alvo pois, o coeficiente de variação e a eficiência dos *primers* não foram adequadas as recomendações para serem genes referências. As diferenças da expressão de cada tratamento em relação ao controle (dieta referência) foram comparadas por teste de randomização (10.000 randomizações), considerando o nível de 5% de significância (Pfaffl et al., 2002).

Morfometria intestinal

Imediatamente após a coleta das amostras para as análises de expressão gênica, retirou-se amostras de aproximadamente 2cm da porção média do duodeno e jejuno, que foram abertas de modo a expor a mucosa e, em seguida, as amostras foram fixadas em pedaços isopor (aproximadamente 2,5cm²) por alfinetes, lavadas com solução salina 10% e armazenadas em frascos coletores de plástico contendo 40 mL de solução formol 10% por 48 horas. Posteriormente, as amostras foram enviadas para Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPEX) da Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB / UNESP para processamento e confecção das lâminas.

As amostras foram cortadas em tiras de aproximadamente 0,5cm e colocadas em cassetes de plástico e depois submetidas a lavagens de desidratação em solução com níveis crescentes de álcool (de 70% até álcool absoluto) e xilol, para então serem transferidas para moldes para confecção de blocos de parafina. Os blocos de parafina contendo as amostras foram microtomizados para confecção das lâminas histológicas e por fim, os cortes foram corados com hematoxilina e eosina (HE).

As leituras das lâminas foram feitas em microscópio de luz, modelo Leica DM 750 equipado com câmera ICC 50 para registro das imagens e, com o auxílio do software Image-J foram realizadas cerca de 30 leituras por amostra para cada um dos parâmetros de altura de vilo (AV), profundidade de cripta (PC) e largura de vilo (LV), expressos em μm. Com os dados de AV e PC também foram calculadas a relação AV:PC e com os dados de AV e LV foram calculados a área de superfície dos vilos (μm²) de acordo com metodologia descrita por Argenzio et al. (1990).

Os resultados foram submetidos a técnica de análise de variância (ANOVA) pelo PROC GLM do SAS 9.3 (2001) e as médias comparadas pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância.

RESULTADOS

Experimento 1 – Preferência alimentar (Níveis comerciais de palatabilizante)

A adição de palatabilizantes na dieta influenciou (P<0,001) a preferência alimentar dos animais (Tabela 7), observando-se maiores valores de CR e CRD para dieta com inclusão de 5% de açúcar (DA) (13,116±1,084 e 1,093±0,090kg, respectivamente), seguido pelas dietas referência (DR) e com inclusão de 0,025% de sacarina sódica (DS). A dieta com inclusão de 0,025% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame (DSN) determinou menor consumo de ração diário comparada com a DR e DA.

Tabela 7. Consumo total de ração (CR) e consumo de ração diário (CRD) dos leitões dos 21 aos 33 dias de idade, alimentados com dietas contendo diferentes palatabilizantes

Item	Tratamentos[1]				P
	DR	DA	DS	DSN	
CR (kg)	1,076[b]	13,116[a]	0,692[bc]	0,482[c]	<0,001
CRD (kg)	0,090[b]	1,093[a]	0,058[bc]	0,040[c]	<0,001

[abc] Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de comparações múltiplas de Bonferroni (P>0,05). [1] DR - dieta referência sem palatabilizante, DA - dieta com inclusão de 5% de açúcar, DS - dieta com inclusão de 0,025% de sacarina sódica e DSN - dieta com inclusão de 0,025% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame.

Experimento 2 – Desempenho e glicose (Níveis comerciais de palatabilizantes)

Não houve diferença entre tratamentos (P>0,05) para as variáveis de desempenho produtivo no período dos 35 aos 48 dias de idade e no período total dos 35 aos 62 dias de idade dos leitões (Tabela 8), bem como para os teores de glicose sanguínea (Tabela 9).

Tabela 8. Consumo de ração diário (CRD), ganho de peso diário (GPD) e conversão alimentar (CA) dos leitões no primeiro período e no período total do experimento (N=120)

Item	Tratamentos[1]				EPM[2]	P
	DR	DA	DS	DSN		
	Período 1 (35 aos 48 dias de idade)					
CRD (kg)	0,697	0,704	0,695	0,722	0,037	0,359
GPD (kg)	0,459	0,455	0,445	0,466	0,032	0,543
CA	1,52	1,54	1,57	1,54	0,068	0,427
	Período total (35 aos 62 dias de idade)					
CRD (kg)	0,866	0,849	0,853	0,858	0,047	0,866
GPD (kg)	0,522	0,506	0,507	0,500	0,043	0,705
CA	1,65	1,68	1,69	1,73	0,085	0,272

[1] DR - dieta referência sem palatabilizante, DA - dieta com inclusão de 5% de açúcar, DS - dieta com inclusão de 0,025% de sacarina sódica e DSN - dieta com inclusão de 0,025% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame. [2] Erro padrão da média.

Tabela 9. Teores de glicose sanguínea de suínos alimentados com diferentes palatabilizantes aos 62 dias de idade (N=40)

Item	Tratamentos[1]				EPM[2]	P
	DR	DA	DS	DSN		
Glicose (mg/dL)	118,97	124,55	125,88	119,61	7,59	0,166

[1] DR - dieta referência sem palatabilizante, DA - dieta com inclusão de 5% de açúcar, DS - dieta com inclusão de 0,025% de sacarina sódica e DSN - dieta com inclusão de 0,025% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame. [2] Erro padrão da média.

Experimento 3 – Preferência alimentar (Níveis de sacarina sódica)

Observou-se diferença (P<0,001) com efeito exponencial para a preferência alimentar dos leitões alimentados com dietas contendo diferentes níveis de sacarina sódica, sendo a dieta DS3 (com inclusão de 0,035% de sacarina sódica) a que determinou os maiores valores médios de CR e CRD (8,80±2,66 e 0,63±0,19kg respectivamente) (Tabela 10).

Tabela 10. Consumo de ração (CR) e consumo de ração diário (CRD) dos leitões dos 23 aos 37 dias de idade, alimentados com dietas contendo níveis de sacarina sódica

Item	Tratamentos (%)[1]				P
	0	0,015	0,025	0,035	
CR (kg)	4,45[b]	4,60[b]	5,06[b]	8,80[a]	<0,001
CRD (kg)	0,32[b]	0,33[b]	0,36[b]	0,63[a]	<0,001

[ab] Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de comparações múltiplas de Bonferroni (P>0,05). [1] Níveis de inclusão de sacarina sódica na dieta (em porcentagem).

Experimento 4 – Preferência alimentar (Níveis de sacarina sódica + neotame)

As dietas com inclusão de níveis do palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame não influenciaram (P=0,068) a preferência alimentar dos animais (Tabela 11), pois o consumo não diferiu da dieta referência.

Tabela 11. Consumo de ração (CR) e consumo de ração diário (CRD) dos leitões dos 26 aos 40 dias de idade, alimentados com dietas contendo níveis do palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame

Item	Tratamentos[1]				P
	0	0,015	0,025	0,035	
CR (kg)	4,84	4,38	4,42	4,43	0,068
CRD (kg)	0,37	0,34	0,34	0,34	0,068

[1] Níveis de inclusão do palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame na dieta (em porcentagem).

Experimento 5 – Preferência alimentar (Níveis do E3 e E4 de palatabilizantes)

Os palatabilizantes avaliados influenciaram (P<0,001) a preferência alimentar dos leitões (Tabela 12), observando-se os maiores valores de CR e CRD para a dieta com a inclusão de 5% de açúcar (DA) (20,525±3,580 e 1,466±0,256kg, respectivamente).

Tabela 12. Consumo de ração (CR) e consumo de ração diário (CRD) dos leitões dos 26 aos 40 dias de idade, alimentados com dietas contendo diferentes palatabilizantes

Item	Tratamentos[1]				P
	DR	DA	DS	DSN	
CR (kg)	1,632[b]	20,525[a]	1,562[b]	1,598[b]	<0,001
CRD (kg)	0,117[b]	1,466[a]	0,112[b]	0,114[b]	<0,001

[abc] Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de comparações múltiplas de Bonferroni (P>0,05). [1] DR - dieta referência sem palatabilizante, DA - dieta com inclusão de 5% de açúcar, DS - dieta com inclusão de 0,035% de sacarina sódica e DSN - dieta com inclusão de 0,035% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame.

Experimento 6 – Expressão gênica e morfometria intestinal

As dietas não influenciaram (P>0,05) os parâmetros de morfometria intestinal das porções do duodeno e jejuno dos leitões (Tabela 13), bem como a expressão relativa de mRNA do gene SGLT1 (Figura 2).

Tabela 13. Altura de vilo (AV), profundidade de cripta (PC), relação AV:PC e área de superfície de vilo (A) do duodeno e jejuno, de leitões aos 40 dias de idade alimentados com dietas contendo diferentes palatabilizantes

Item	Tratamentos[1]				EPM[2]	P
	DR	DA	DS	DSN		
	Duodeno					
AV (μm)	470,43	440,40	397,41	447,91	83,15	0,619
PC (μm)	182,59	182,04	168,16	187,96	21,69	0,369
AV:PC	2,60	2,43	2,38	2,38	0,41	0,932
A (μm²)	2,17	2,10	1,76	2,13	0,47	0,429
	Jejuno					
AV (μm)	447,73	440,82	407,49	426,77	82,13	0,773
PC (μm)	156,59	147,66	156,21	162,67	17,72	0,425
AC:PC	2,90	3,03	2,65	2,64	0,59	0,479
A (μm²)	1,55	1,56	1,40	1,52	0,31	0,721

[1] DR - dieta referência sem palatabilizante, DA - dieta com inclusão de 5% de açúcar, DS - dieta com inclusão de 0,035% de sacarina sódica e DSN - dieta com inclusão de 0,035% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame. [2] Erro padrão da média.

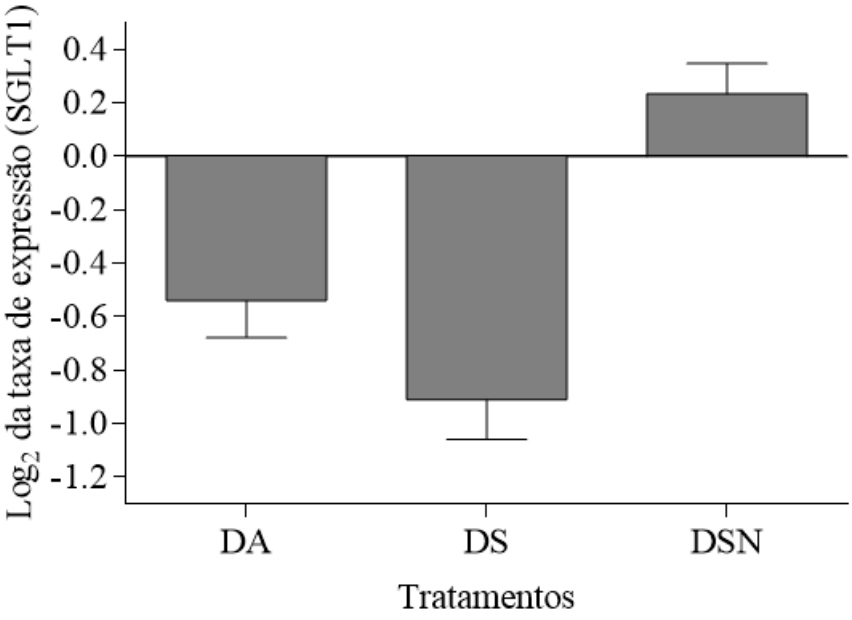

Figura 6. Expressão relativa de mRNA do gene co-transportador 1 de glicose sódio dependente (SGLT1) no jejuno de leitões aos 40 dias de idade em resposta as dietas com adição de açúcar (DA), de sacarina sódica (DS) ou de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame (DSN), comparadas com a dieta referência sem palatabilizante (P>0,05).

DISCUSSÃO

Quanto maior o número de papilas gustativas maior a habilidade de percepção de sabores (Silva, 2010), portanto, pelo fato dos suínos apresentarem em torno de 5.000

papilas do tipo fungiforme na língua, comparado com humanos que apresentam em média 1.600 (Roura, 2003), são animais que possuem grande capacidade de percepção de sabores. Mesmo apresentando essa diferença anatômica, os suínos demonstram preferência por alguns alimentos doces naturais, similares à preferência de humanos, como mostram os resultados do presente estudo em que o açúcar foi o palatabilizante mais efetivo para leitões desmamados.

Em um estudo de Kennedy e Baldwin (1972) em que foram testadas diferentes concentrações de solução de sacarose e glicose para suínos dos dois aos quatro meses de idade, foi observado que os animais preferiram as soluções contendo esses carboidratos, independente da concentração testada, quando comparadas as soluções com a ausência desses compostos.

Comparando a preferência alimentar de leitões com 60 dias de idade por certas substâncias consideradas doces para humanos, Glaser et al. (2000) constaram que os animais apresentam maior preferência pelo açúcar em relação a qualquer outro composto com poder edulcorante, assim como ocorre em humanos, corroborando os resultados encontrados no presente estudo, em que a dieta com inclusão de 5% de açúcar resultou em maiores valores de CR e CRD, se mostrando a preferida pelos animais.

A dieta sem palatabilizante (DR) foi igualmente consumida em relação a dieta com sacarina sódica, mas foi preferida em relação a dieta com palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame o que, provavelmente, pode estar relacionado a posição nas divisórias dos comedouros em que as dietas foram fornecidas diariamente, o que pode ter incentivado o consumo da dieta sem palatabilizante (DR), uma vez que, sempre a DR era colocada na divisória do comedouro mais próxima da divisória em que era oferecida a dieta com açúcar (DA). Considerando que os suínos possuem comportamento gregário e de se alimentarem juntos (Fraser e Broom, 1990) e que havia quatro leitões em cada baia

e apenas três repartições de alimentação em cada divisória do comedouro, possivelmente três dos animais consumiam a dieta com açúcar e o quarto animal tenderia consumir a DR pelo fato de ser disponibilizada na divisória do comedouro mais próxima da DA.

Outras razões que possivelmente poderiam ter influenciado os resultados observados no E1 estariam relacionadas as dietas possuírem alta inclusão de ingredientes digestíveis e considerados de alta palatabilidade. Além disso, o poder edulcorante da sacarina sódica e da mistura de sacarina sódica e neotame para leitões, pode ter sido superestimado ou mesmo subestimado, tendo em vista que existe diferença na percepção do sabor doce entre humanos e leitões, como no caso da sacarina sódica, que para leitões é cerca de 65 vezes menos doce do que é para humanos (Glaser et al., 2000).

Tem sido demonstrado que leitões possuem preferência alimentar por dietas contendo açúcar quando são oferecidas a livre escolha (Wahlstrom et al., 1974), como verificado no primeiro experimento, contudo, não se observou diferença nas variáveis de desempenho produtivo dos leitões no segundo experimento. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por outros autores, em que, na impossibilidade de escolha, leitões desmamados consomem igualmente dietas com ou sem palatabilizante (Wahlstrom et al., 1974 e Sterk et al., 2008) ou flavorizante (Seabolt et al., 2010). Esses resultados podem ser justificados pelo fato de que, quando não se dá a opção de escolha, ao sentir fome, o animal consome a ração que lhe é fornecida, principalmente pelo fato de que, no presente estudo, todas as dietas eram isonutritivas, de consideradas palatáveis, e foram formuladas com ingredientes de boa digestibilidade para atender as exigências nutricionais dos animais.

Por outro lado, em alguns experimentos, verificou-se respostas positivas no desempenho de leitões desmamados, quando foram alimentados com dietas contendo palatabilizantes como sacarina sódica e neoesperidina (Martinez et al., 2014), açúcar e

esteviosídeos (Munro et al., 2000; Budiño et al., 2014) e neotame (Zhu et al., 2016), em comparação a dietas com ausência desses aditivos. As divergências nos resultados de desempenho de leitões, com uso de palatabilizantes nas dietas, após o desmame, podem estar relacionadas, além da combinação de ingredientes, ao tipo e nível de inclusão do palatabilizante estudado (Jensen et al., 1995).

A glicose sanguínea é uma variável importante pois reflete, principalmente, a utilização dos carboidratos das dietas. Independentemente das dietas avaliadas no segundo experimento, o nível de glicose sanguínea dos animais se manteve dentro de limites fisiológicos considerados normais, portanto, sem efeito dos palatabilizantes avaliados. Isto pode ter ocorrido porque não houve diferença na ingestão diária de ração por ocasião da amostragem do sangue. Sendo isonutritivas, além de não influenciarem na diferença do consumo de ração diário, também não influenciaram o ganho de peso e a conversão alimentar dos leitões. Esses resultados concordam com Costa et al. (2003) que não constaram diferenças no teor de glicose sanguínea de leitões alimentados com dietas com ou sem a adição de palatabilizante a base de sacarina sódica ou dextrose.

Quando foram testados os níveis de sacarina sódica, os leitões apresentaram preferência pela dieta com o maior nível de inclusão (DS3 – 0,035%), caracterizando-se a preferência de animais jovens por sabores adocicados e o estímulo ao consumo (Duengelhoef, 2010).

Os suínos possuem maior número de papilas gustativas que os humanos (Frederick e Van Heugtenum, 2003) o que, teoricamente, lhes confere maior capacidade na percepção de sabores, contudo, o potencial edulcorante da sacarina com base molar para humanos é cerca de 250 vezes maior em relação ao açúcar, enquanto para suínos é de apenas cerca de 3,3 vezes (Glaser et al. 2000). De acordo com os autores, acredita-se que a molécula de sacarina interaja com o receptor de sabor nos humanos em dois sítios, sendo

um deles com o carbono quatro do anel de benzeno da molécula de sacarina e o outro com o carbono seis, o que permite um eficiente ajuste da molécula nos receptores. Além disso, os receptores desses carbonos em humanos estariam nos sítios Trh-6 e Trh-9 respectivamente e, em suínos, a ausência do sítio Thr-9 não permitiria o ajuste ideal da molécula, fazendo com que esses animais fossem menos perceptivos em relação a sacarina. Assim, a maior preferência verificada no presente estudo pela dieta com nível mais alto de inclusão de sacarina sódica, também pode estar relacionada ao seu menor poder edulcorante para suínos.

O experimento de preferência por dietas com níveis crescentes, variando de 0,015 a 0,035%, de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame, mostrou que as dietas com a mistura de edulcorantes foram igualmente consumidas em relação a dieta sem palatabilizante. O neotame é derivado do aspartame (Aguilar, 2007) que, por sua vez, não é perceptível aos suínos, provavelmente, devido à ausência nesses animais de sítios receptores que fazem ligações com um dos carbonos do anel de benzeno da estrutura molecular do aspartame (sítio Thr-5) (Glaser et al., 2000). Embora tenha alto poder edulcorante para humanos, o aspartame pode não ser percebido por suínos e isso talvez possa ocorrer também com o neotame. Por outro lado, tem sido demonstrado que a adição de neotame em dietas de leitões desmamados com idade entre 21 e 43 dias estimula a ingestão de ração, especialmente quando presente em níveis de 18 a 20ppm na dieta (Zhu et al., 2016), ou seja, em níveis bem inferiores aos da mistura de sacarina sódica e neotame avaliados na presente pesquisa, que variou de 150 a 350ppm.

O consumo de soluções doces apresentam curva em formato de U invertido (parábola), em que concentrações intermediárias determinam os maiores consumos (Hamed, 2012). Assim, sugere-se que novos estudos poderiam definir a melhor

concentração de sacarina sódica e a efetividade do palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame para leitões desmamados.

No E5, a dieta com 5% de açúcar novamente foi a preferida em relação as dietas com 0,035% de sacarina sódica ou com 0,035% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame. É reconhecido que alimentos doces são preferidos por suínos e outros mamíferos por causa de seus efeitos hedônicos e pós-ingestivos (Hamed, 2012) e que o açúcar é fonte concentrada e prontamente disponível de energia para suínos. Além disso, deve ser considerado que, embora a sacarina sódica e o neotame sejam consideradas substâncias que conferem sabor doce para humanos, o real poder edulcorante para suínos precisa ser melhor avaliado.

As vilosidades intestinais de leitões lactentes apresentam tamanho e estrutura que garantem grande eficiência na absorção dos nutrientes (Capoulas, 2015). Entretanto, como o desmame é altamente estressante para os animais, predispõe a alterações na altura e área das vilosidades e nas profundidades das criptas, prejudicando o desempenho dos leitões. Fatores como a qualidade dos ingredientes utilizados na formulação das dietas e a quantidade de ração ingerida, podem determinar a intensidade das alterações intestinais dos leitões (Li et al., 1990; Van Beers-Schreurs et al., 1998).

No presente estudo não foram encontradas diferenças nas variáveis de morfometria intestinal. Resultados semelhantes foram obtidos por Silva et al. (2000), quando avaliaram a inclusão de sacarina sódica como palatabilizante na água de leitões recém-desmamados aos 10 dias de idade, e por Martinez et al. (2014), quando estudaram a inclusão de açúcar e de sacarina sódica na dieta de leitões desmamados aos 21 dias, e não verificaram alterações na morfometria intestinal dos animais. Contudo, Silva et al. (2001) estudando o efeito da adição de sacarina sódica na dieta de leitões desmamados,

observaram maior valor médio de AV e relação AV:PC do duodeno em relação aos animais que consumiram dieta sem esses aditivos.

Esses resultados podem estar relacionados as dietas do presente estudo que foram formuladas para serem isonutritivas, e ao consumo de ração diário médio por animal durante o experimento ter sido semelhante para as dietas sem palatabilizante (534g), com açúcar (517g), com sacarina sódica (531g) e com palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame (497g).

As dietas avaliadas no presente estudo de expressão gênica, independente da inclusão ou não dos palatabilizantes, continham maltodextrina (excedendo-se a dieta com açúcar) e soro de leite. Esses ingredientes apresentam em suas constituições: maltose, que é constituída por moléculas de glicose e, lactose, que é composta por glicose e galactose (Nelson e Cox, 2011). Portanto, a ausência de diferença na expressão do gene SGLT1 observada no jejuno dos leitões pode estar relacionada a presença dessas moléculas nas rações. Alguns oligossacarídeos e adoçantes artificiais presentes nos alimentos são detectados pelo receptor heterodímero de sabor doce T1R2 + T1R3 (Chandrashekar et al., 2006) que, quando estimulado, pode modular a expressão do gene SGLT1 (Margolskee et al., 2007; Moran et al., 2010, Shirazi-Beechey et al., 2011). Portanto, esperava-se que a expressão do gene SGLT1 no jejuno dos leitões que consumiram as dietas com inclusão de açúcar ou com algum dos palatabilizantes, sacarina sódica ou sacarina sódica associada com neotame, fosse maior em relação a dos animais que consumiram a dieta sem a inclusão de algum desses adoçantes.

CONCLUSÕES

Leitões desmamados, quando tem oportunidade de escolha, preferem dietas com inclusão de açúcar, e na ausência de opção de dietas contendo açúcar, preferem dietas com sacarina sódica.

O desempenho, o teor sanguíneo de glicose, a morfometria e a expressão do gene SGLT1 intestinal, não são influenciados pelos palatabilizantes, se incluídos em dietas complexas similares.

REFERÊNCIAS

Aguilar, F. 2007. Neotame as a sweetener and flavour enhancer. The European Food Safety Authority Journal 581:1-43.

Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K. and Walter, P. 2010. Molecular biology of the cell. 5th ed. Garland Science, New York.

Argenzio, R. A.; Liacos, J. A.; Levy, M. L.; Meuten, D. J.; Lecce, J. G. and Powell, D. W. 1990. Villous Atrophy, Crypt Hyperplasia, Cellular Infiltration, and Impaired Glucose-NA Absorption in Enteric Cryptosporidiosis of Pigs. Gastroenterology 98:129-1140.

Budiño, F. E. L.; Lucchesi, L. and Otsuk, I. P. 2014. Uso de edulcorante como palatabilizante na dieta de leitões desmamados. Boletim de Indústria Animal 71:58-62.

Capoulas, J. I. 2015. Efeitos de duas idades de desmame (21 e 28 dias) na produtividade dos leitões e das porcas. Dissertação (Engenharia Zootécnica/Produção Animal). Universidade de Lisboa, Lisboa.

Costa, L. L.; Lima, J. A. F.; Fialho, E. T.; Oliveira, A. I. G.; Murgas, L. D. S. and Filgueiras, E. P. 2003. Palatabilizantes em dietas para leitões de 6 a 18 kg. Revista Brasileira de Zootecnia 32:1633-1638.

Duengelhoef, M. 2010. Aditivos sensoriais. In: Vieira, S. L.; Maiorka, A.; Felix, A. P; Silva, C. A.; Forbes, J. M.; Dungelhoef, M.; Muhlbach, P. R. F. and Oliveira, S. G. Consumo e preferência alimentar dos animais domésticos. Londrina: Phytobiotics Brasil 6:290-315.

Etheridge, R. D.; Seerley, R.W. and Wyatt, R. D. 1984. The effect of diet on performance, digestibility, blood composition and intestinal microflora of weaned pigs. Journal of Animal Science 58:1396-1402.

Fraser, A. F. and Broom, D. M. 1990. Farm animal behaviour and welfare. 3th ed. Ballère Tindall, Reino Unido.

Frederick, B. e Van Heugten, E. Palatability and flavors in swine nutrition. 2003. Available at: <www.ncsu.edu/project/swine_extension/publications/factsheets/821s.htm>. Accessed on: Nov. 01, 2017.

Freitas, B.V. Utilização de complexo enzimático na dieta de leitões. 2011. Dissertação (Nutrição e Produção Animal). Universidade de São Paulo, Pirassununga.

Glaser, D.; Wanner, M.; Tinti, J. M. and Nofre, C. 2000. Gustatory responses of pigs to various natural and artificial compounds known to be sweet in man. Food Chemistry 68:375-385.

Graña, G.L. 2007. Plasma sanguíneo em substituição ao leite desnatado em dietas sem antibióticos para leitões desmamados aos 21 dias de idade. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Grecco, H.A.T. 2014. Acidificantes em dietas de leitões desmamados: desempenho, peso de órgãos, ph, morfometria e microbiota intestinal. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Hamed, J. F. 2012. Learning strategies to increase piglets feed intake after weaning. Tese (Doutorado em Produção Animal). Universidade Autônoma de Barcelona, Cerdanyóla Del Vallès.

Hellekant, G and Danilova, V. 1999. Taste in domestic pig, Sus scrofa. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 82:8-24.

Hudson, R. and Distel, H. 1999. The flavor of life: perinatal development of odor and taste preferences. Schweiz Med Wochenschr 129:176-181.

Jensen, A. H. et al. 1955. Palatability of starter rations for suckling pigs. III. University of Illinois, Swine Growers Day Report. A.S.

Johnson, R. A. and Wicherm, D. W. 2007. Applied multivariate statistical analysis, 6th ed. Prentice-Hall, New Jersey.

Jones, J. B.; Carmichael, N. L.; Wathes, C. M.; White, R. P. and Jones, R. B. 2000. The effects of acute simultaneous exposure to ammonia on the detection of buried odourized food by pigs. Applied Animal Behaviour Science 65:305-319.

Kennedy, J. M. and Baldwin, B. A. 1972. Taste preferences in pigs for nutritive and non-nutritive sweet solutions. Animal Behavior 20:706-718.

Lang, K.; Schmid, F. X. and Fischer, G. 1987. Catalysis of protein folding by prolyl isomerase. Nature 329:268-270.

Li, D. F.; Nelssen, J. L.; Reddy, P. G.; Blecha, F.; Hancock, J. D.; Allee, G. L.; Goodband, R. D. and Klemm, R. D. 1990. Transient hypersensivity to soybean meal in the early-weaned pig. Journal of Animal Science 68:1790-1799.

Margolskee, R. F.; Dyer, J.; Kokrashvili Z.; Salmon, K. S. H.; Ilegens, E.; Daly, K.; Maillet, E. L.; Ninomiya, Y.; Mosinger, B. and Shirazi-Beechey, S. P. 2007. T1R3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na-glucose cotransporter 1. National Academy of Sciences of the USA 104:15075-15080.

Martinez, J. F. Palatabilizantes em dietas de leitões recém-desmamados. 2012. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade de São Paulo, Pirassununga.

Martinez, J. F.; Amorim, A. B.; Faria, D. E.; Nakagi, V. S.; Sartori, M. M. P. and Marques, M. F. 2014. Palatabilizantes em dietas de leitões recém-desmamados. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 66:1207-1215.

Meese, G. B. and Ewbank, R. 1973. The establishment and nature of the dominance hierarchy in the domestic pigs. Animal Behavior 21:326-334.

Moran, A. W.; Al-Rammahi, M. A.; Arora, D. K.; Batchelor, D. J.; Coulter, E. A.; Daly, K.; Ionescu, C.; Bravo, D. and Shirazi-Beechey, S. P. 2010. Expression of Na1/glucose co-transporter 1 (SGLT1) is enhanced by supplementation of the diet of weaning piglets with artificial sweeteners. British Journal of Nutrition 104:637-646.

Munro, P. J.; Lirette, A.; Anderson, D. M. and Ju, H. Y. 2000. Effects of a new sweetener, Stevia, on performance of newly weaned pigs. Canadian Journal of Animal Science 80:529-531.

Nelson, D. L. e Cox, M. M. 2011. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 5th ed. Artmed, Porto Alegre.

Pfaffl, M. W.; Horgan, G. W and Dempfle, L. 2002. Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. Nucleic Acids Research 30:1-10.

Quiroga, A. L. B. Dossiê edulcorantes: Edulcorantes. 2013. Food Ingredients Brasil 14:28-52.

Rostagno, H. S.; Albino, L. F. T.; Donzele, J. L.; Gomes, P. C.; Oliveira, R. F.; Lopes, D. C.; Ferreira, A. S.; Barreto, L. S. T. and Euclides, R. F.. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos – Composição de alimentos e exigências nutricionais. Imprensa Universitária/UFV, Viçosa.

Roura, E. 2003. Recent studies on the biology of taste and olfaction in mammals. New approaches in pig nutrition. p.10-24 In: In proceedings of II Seminário Internacional sobre Produção. Mercado e qualidade da carne de suínos. Florianópolis.

Roura, E.; Humphrey, B.; Tedó, G. and Ipharraguerre, I. 2008. Unfolding the codes of short-term feed appetence in farm and companion animals. A comparative oronasal nutrient sensing biology review. Canadian Journal of Animal Science 88:535-558.

Seabolt, B. S.; van Heugten, E.; Kim, S. W.; Ange-van Heugten, K. D. and Roura, E. 2010. Feed preference and performance of nursery pigs feed diets containing various

inclusion amounts and qualities of distiller's coproducts and flavor. Journal of Animal Science 88:1854-1862.

Shirazi-Beechey, S. P.; Moran, A. W.; Bravo, D. and Al-Rammahi, M. 2011. Intestinal glucose sensing and regulation of glucose absorption: Implications for swine nutrition. Journal of Animal Science 89:1854-1862.

Silva, C. A. 2010. Consumo dos suínos. In: Vieira, S. L.; Maiorka, A.; Felix, A. P.; Silva, C. A.; Forbes, J. M.; Dungelhoef, M.; Muhlbach, P. R. and Oliveira, S. G. Consumo e preferência alimentar dos animais domésticos. Londrina: Phytobiotics Brasil 4:204-265.

Silva, C. A.; Kronka, R. N.; Thomaz, M. C.; Kronka, S. N.; Soto, W. C. and Carvalho, L. E. 2001. Utilização de dietas úmidas e de rações e água de bebida com edulcorante para leitões desmamados aos 21 dias de idade e feitos sobre o desenvolvimento histológico e enzimático intestinal. Revista Brasileira de Zootecnia 30:794-801.

Silvia C. A.; Rocha, F. L.; Machado, G. S.; Kronka, R. N.; Thomaz, M. C.; Okano, W.; Fonseca, N. N.; Pinheiro, J. W. and Cabrera, L. 2000. Edulcorante na água de consumo e efeitos sobre o desempenho e o desenvolvimento da musoca intestinal de leitões submetidos ao desmame precoce segregado. Revista Brasileira de Zootecnia 29:1770-1776.

Sterk, A.; Schlegel, P.; Mul, A. J.; Ubbink-Blanksma, M. and Bruininx, E. M. A. M. 2008. Effects of sweeteners on individual feed intake characteristics and performance in group-housed weanling pigs. Journal of Animal Science 86:2990–2997.

Uddin, M. J.; Cinar, M. U.; Tesfaye, D.; Looft, C.; Tholen, E. and Schellander K. 2011. Age-related changes in relative expression stability of commonly used housekeeping genes in selected porcine tissues. BMC Research Notes 4:441.

Van Beers-Schrews, H. M. G.; Nabuurs, M. J. A.; Vellenga, N.; Van Der Kalsbeek, V. H. J.; Wensing, T. and Breukink, H. J. 1998. 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 128:947-953.

Wahlstrom, R. C.; Hauser, L. A. A. and Libal, G. W. 1974. Effects of low lactose whey, skim milk and sugar on diet palatability and performance of early weaned pigs. Journal of Animal Science 38:1267-1271.

Weiss, R. G.; Nectoux Filho, J. L; Falleiro, R. P.; Leonard, D. F.; Piva, A. V. and Dorneles, R. P. 1984. Tratamento da ferida operatória infectada: açúcar uma nova opção. Revista da Associação Médica do Rio Grande do Sul 28:337-342.

Zhu, L.; Wan G.; Dong, B.; Peng, C. C.; Tian, Y. Y and Gong, L. M. 2016. Effects of sweetener neotame on diet preference, performance and hematological and biochemical parameters of weaned piglets. Animal Feed Science and Technology 214:86-94.

CAPÍTULO III

IMPLICAÇÕES

1. Implicações

A inclusão de palatabilizantes na dieta de leitões na fase pós-desmame mostra-se importante na formulação de rações da indústria suinícola, visto que o uso desses aditivos pode promover efeitos benéficos para os animais.

Neste estudo, a hipótese era que a inclusão dos palatabilizantes sacarina sódica e a associação de sacarina sódica com neotame, exerceriam efeitos similares sobre os parâmetros de preferência alimentar, desempenho produtivo, teores de glicose sanguínea, morfometria intestinal e expressão do gene co-transportador 1 de glicose sódio dependente, quando incluídos na ração de leitões em substituição ao açúcar.

Embora os resultados desta pesquisa e de outros estudos tenham demonstrado que os animais possuem preferência por determinado palatabilizante e seu respectivo nível de inclusão, a incorporação ou não dos edulcorantes sacarina sódica e a associação de sacarina sódica e neotame não demonstraram efeitos sobre os demais parâmetros avaliados. Tais resultados podem ser provenientes da composição das dietas avaliadas, que eram dietas com inclusão de ingredientes de alta digestibilidade, lactose e outros carboidratos. Porém, pode-se inferir que esses palatabilizantes podem servir como aditivos alternativos em substituição ao açúcar, sem comprometimento aos animais, na fase pré-inicial e inicial.

Assim, faz-se necessário novos estudos para avaliar a utilização de palatabilizantes na dieta de leitões desmamados, e sugere-se que as dietas sejam formuladas de modo que a provável capacidade que os palatabilizantes possuem em alterar os parâmetros a se analisar, seja expressa de forma eremítica.

ANEXO

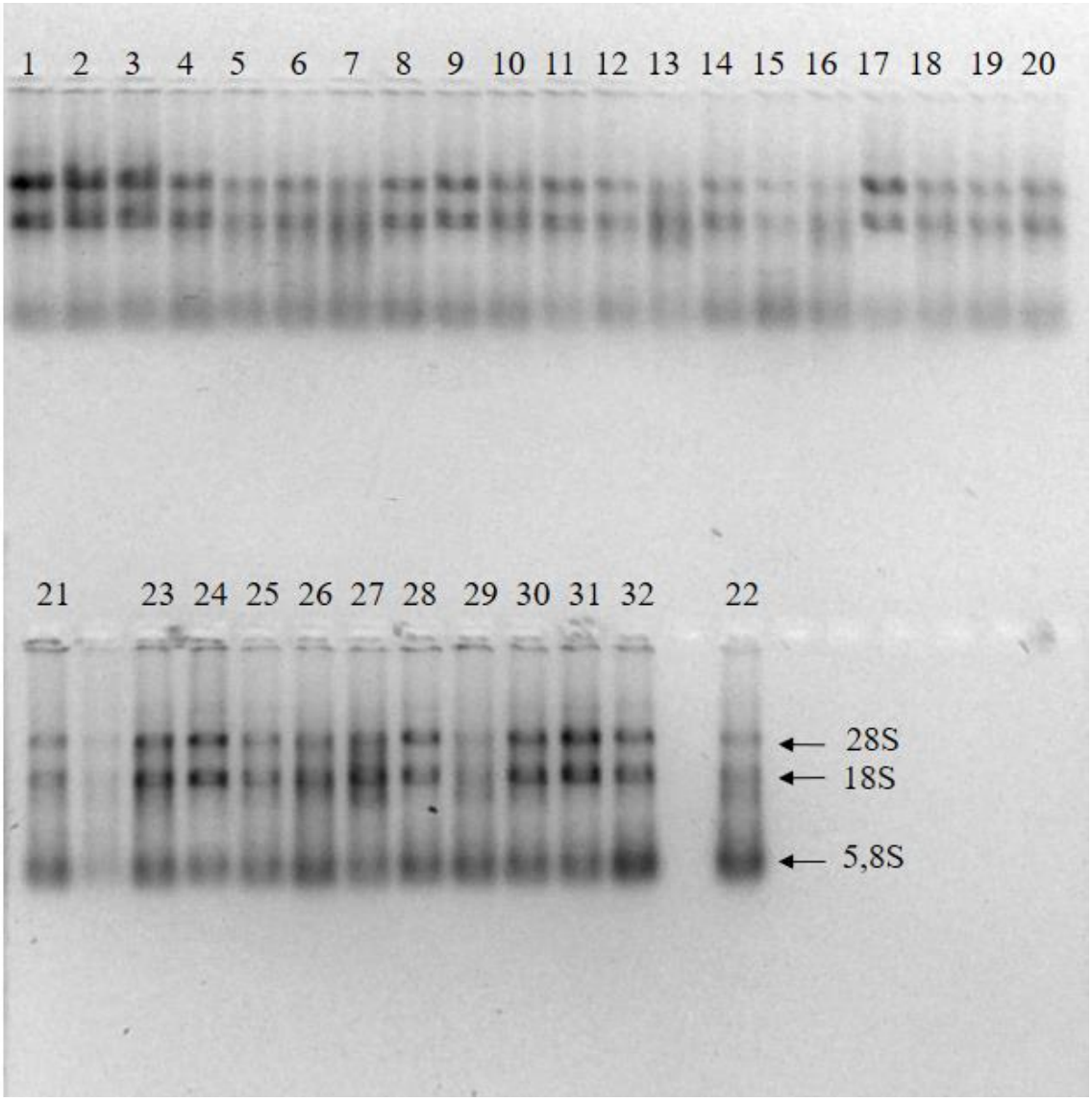

Figura 2. Gel de agarose (1%) mostrando a integridade do RNA total das amostras 1 a 32 do jejuno de leitões, em que é possível visualizar as bandas estruturais 28S, 18S e 5,8S do RNA ribossômico.

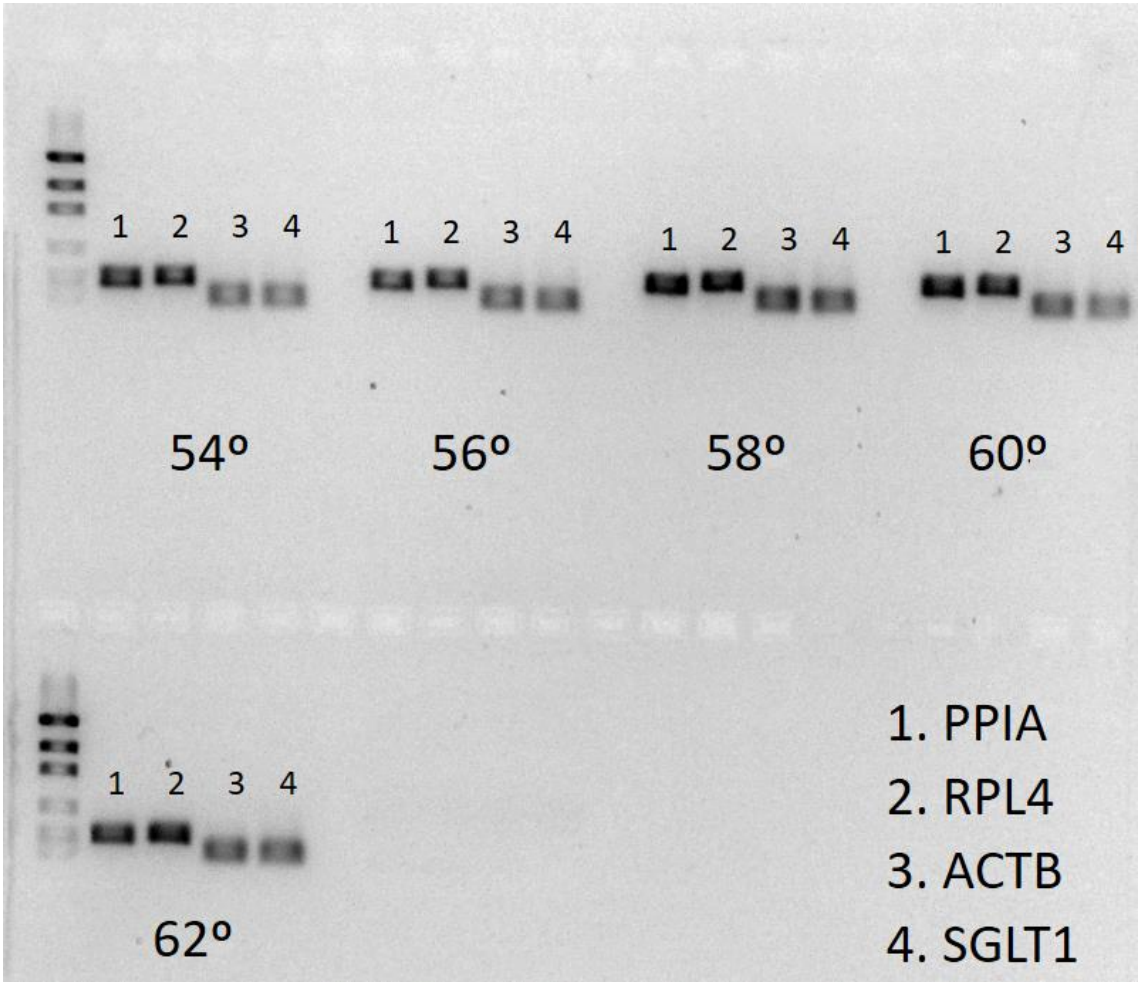

Figura 3. Gel de agarose (1%) mostrando o teste com os *primers* em diferentes temperaturas de anelamento.

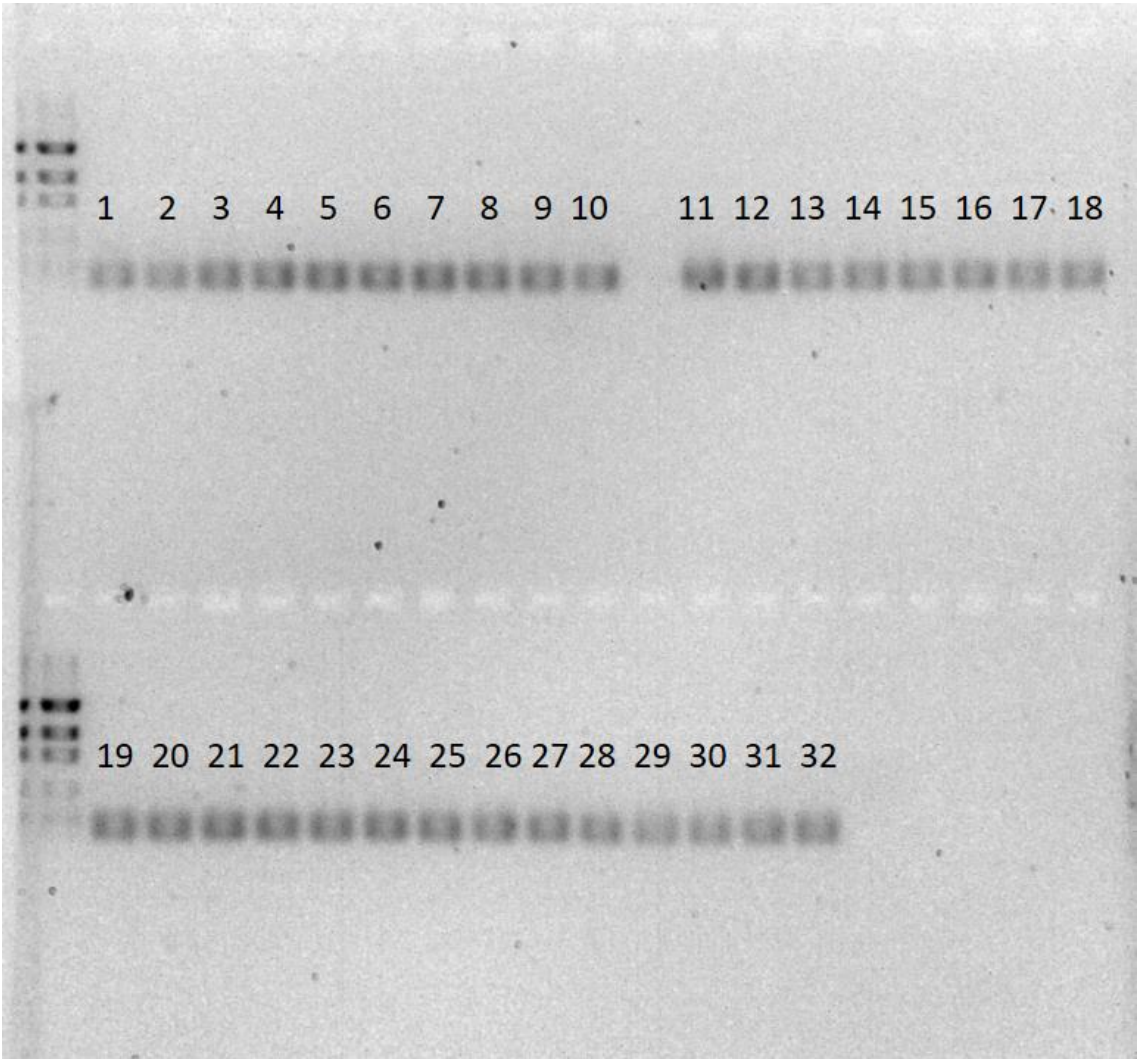

Figura 4. Eletroforese em gel de agarose (1%) mostrando o teste da amplificação do *primer* ACTB com cada amostra (1 a 32).

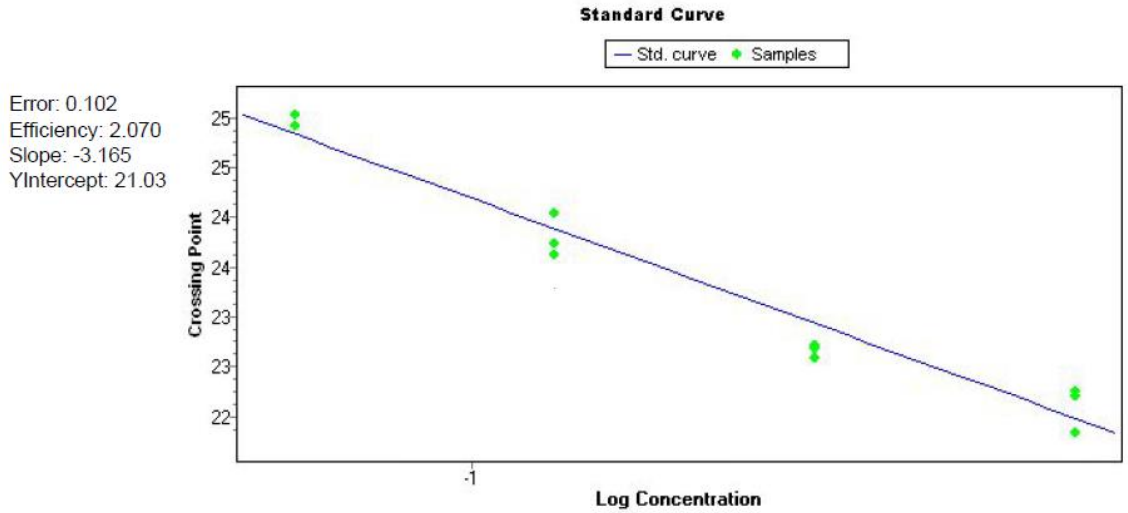

Figura 5. Curva de diluição do gene ACTB.