

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RAFINOSE NA ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES RECÉM-
DESMAMADOS**

Everton Daniel

Zootecnista

2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**RAFINOSE NA ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES RECÉM-
DESMAMADOS**

Doutorando: Everton Daniel

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina Thomaz

Co-orientador: Prof. Dr. Urbano dos Santos Ruiz

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

2014

D184r Daniel, Everton
Rafinose na alimentação de leitões recém-desmamados / Everton Daniel. -- Jaboticabal, 2014
v, 55 p. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014

Orientador: Maria Cristina Thomaz

Co-orientador: Urbano dos Santos Ruiz

Banca examinadora: Caio Abércio da Silva, Dirlei Antonio Berto, Nilva Kasue Sakomura, Luciano Hauschild

Bibliografia

1. Galacto-oligossacarídeos. 2. Saúde intestinal. 3. Desempenho. 4. Digestibilidade. 4. Microbiologia. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.084.1:636.4

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: RAFINOSE NA ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS

AUTOR: EVERTON DANIEL

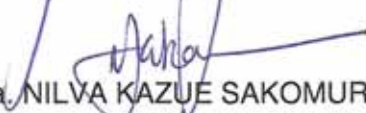
ORIENTADORA: Profa. Dra. MARIA CRISTINA THOMAZ

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. URBANO DOS SANTOS RUIZ

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA , pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. MARIA CRISTINA THOMAZ

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Profa. Dra. NILVA KAZUE SAKOMURA

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. LUCIANO HAUSCHILD

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. DIRLEI ANTONIO BERTO

Departamento de Produção Animal / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu


Prof. Dr. CAIO ABÉRCIO DA SILVA

Universidade Estadual de Londrina / Londrina/PR

Data da realização: 17 de fevereiro de 2014.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Everton Daniel – nascido em 22 de agosto de 1983, na cidade de Xanxerê/SC, filho de Leonir Daniel e Neusa Terezinha Casagrande Daniel, ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria/UFSM em maio de 2002 e graduou-se em março de 2007. No ano de 2008 iniciou o curso de Mestrado da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Unesp – Campus de Jaboticabal, onde foi bolsista junto à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, obtendo o título de Mestre em Zootecnia no dia 24 de fevereiro de 2010. Neste mesmo ano deu início às atividades no curso de doutorado na mesma instituição onde foi bolsista junto ao CNPq (Centro Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e posteriormente à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP. No dia 17 de fevereiro de 2014, alcançou o título de Doutor em Zootecnia. Ainda no mês de fevereiro de 2014, foi contratado pela Nutron Alimentos como Consultor Técnico em Nutrição de Suínos para a América Latina, iniciando sua carreira profissional no setor privado.

Dedico

*Aos meus pais, Leonir Daniel e Neusa Terezinha Casagrande Daniel, ao meu irmão
Renato Daniel e a minha avó Maria Rosa Rossi Casagrande,
pelo apoio e amor incondicional*

Ofereço

*À toda minha família, amigos, professores e a
todos que fazem parte da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida que tenho, por me abençoar e me dar forças para eu realizar meu trabalho e vencer os obstáculos.

À Professora Cristina que me acolheu durante esses anos, que me ensina tanto, e que é um grande exemplo pra mim. Ao meu coorientador e amigo, Urbano, pela ajuda e cooperação.

Aos professores que participaram da banca de defesa, Caio Abercio da Silva, Dirlei Antônio Berto, Nilva Kasue Sakomura e Luciano Hauschild, pela colaboração com este trabalho e pelo tempo dispensado.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Unesp – Câmpus de Jaboticabal e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade de realização do curso.

Ao CNPq e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP pelo auxílio a pesquisa e bolsa de estudos concedidos.

Aos funcionários do Setor de Suinocultura/FCAV-Unesp, Sr. Wilson e José pela ajuda e amizade.

Aos membros e grandes amigos do grupo de estudos e pesquisa SUINESP, Marco, Manu, Fabrício Casteliní, Fabrício Faleiros, Maryani, Vivian, Daniele e Ysenia, e aos mais novos como Dani, Aline, especialmente ao Renan que dedicou-se muito à condução do experimento. Vocês foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos amigos de república, Luciano, Giovani e Thiago, ou melhor, Cidadão, Strumi e Gringo, respectivamente, pelo companheirismo, amizade, risadas, ajuda e convívio. Aos amigos fora da república, como Black, Lola, Diego, Faiado, Mel, Carla e companhia. Aos amigos que, de alguma forma me ajudaram nesse período,

Finalmente, à toda minha família, pelo apoio, demonstrações de carinho e orações.

Muito obrigado

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iv
ABSTRACT	v
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1. Introdução.....	1
2. Revisão de literatura	2
2.1 Origem botânica dos galacto-oligossacarídeos.....	2
2.2 Galacto-oligossacarídeos no milho e no farelo de soja	4
2.3 Efeito dos galacto-oligossacarídeos na alimentação de leitões	5
2.3.1 Digestibilidade dos nutrientes e da energia.....	6
2.3.2 Desempenho	7
2.3.3 Saúde intestinal	8
3. Objetivos.....	10
4. Referências bibliográficas.....	10
CAPÍTULO 2 – Efeito da rafinose sobre a digestibilidade dos nutrientes e energia, o tempo de trânsito gastrointestinal e o peso dos órgãos do trato digestório de leitões recém-desmamados.....	15
Resumo	15
Abstract.....	16
1. Introdução.....	17
2. Material e Métodos	18
2.1 Animais, dietas e delineamento experimental	18
2.2 Avaliação biológica das dietas experimentais.	22
2.3 Pesos dos órgãos do trato digestório	23
2.4 Tempo de trânsito gastrointestinal (TTGI)	23
2.5 Forma de análise dos resultados.....	24
3. Resultados.....	24
4. Discussão	28
5. Conclusão.....	31
6. Referências bibliográficas.....	31
CAPÍTULO 3 – Efeito da rafinose sobre o desempenho, a incidência de diarreia, a morfologia e a microbiologia intestinal de leitões recém-desmamados.....	34
Resumo	34
Abstract	35
1. Introdução.....	36

2. Material e Métodos	37
2.1 Animais, dietas e delineamento experimental	37
2.2 Desempenho e incidência de diarreia	38
2.4 Forma de análise dos resultados.....	43
3. Resultados.....	44
4. Discussão	48
5. Conclusão.....	52
6. Referências bibliográficas.....	52



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

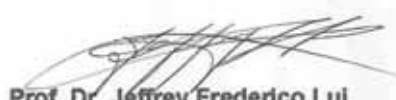


CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 019670/10 do trabalho de pesquisa intitulado **"Rafinose na alimentação de leitões recém desmamados"**, sob a responsabilidade da Prof^a. Dr^a. Maria Cristina Thomaz, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 17 de Setembro de 2010.

Jaboticabal, 17 de Setembro de 2010.



Prof. Dr. Jeffrey Frederico Lui
Presidente - CEUA



Med. Vet. Maria Alice de Campos
Secretária -CEUA

RAFINOSE NA ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS

RESUMO – Ingredientes comumente utilizados na alimentação de leitões, a exemplo do milho e do farelo de soja, possuem galacto-oligossacarídeos (Gos), como a rafinose, os quais não têm seus efeitos sobre a nutrição de leitões totalmente esclarecidos. Dessa forma, foi realizado um estudo utilizando leitões recém-desmamados, dos 21 aos 63 dias de idade, distribuídos em um delineamento de blocos casualizados, com cinco tratamentos. Foi elaborada uma dieta contendo baixos teores de Gos, e a ela adicionado rafinose purificada (0, 0,75, 1,50 e 2,25%). A quinta dieta foi formulada com milho e farelo de soja (MFS) contendo teores de Gos usualmente encontrados em dietas de leitões. Foram avaliadas as digestibilidades dos nutrientes e da energia, o tempo de trânsito gastrintestinal (TTGI), o peso dos órgãos, o desempenho, a incidência de diarreia, a morfologia, o pH e a microbiologia intestinal. As digestibilidades totais dos nutrientes e da energia, bem como o TTGI apresentaram reduções lineares à medida em que a rafinose foi adicionada às dietas, da mesma forma que alguns aminoácidos, em especial os não essenciais, porém, a digestibilidade dos minerais não foi afetada. A dieta MFS proporcionou digestibilidade total dos nutrientes e energia menores em relação às dietas contendo 0 e 0,75% de rafinose. O maior peso do ceco foi estimado para o nível de 0,76% de rafinose. O consumo de ração e o peso final, aos 49 dias de idade apresentaram efeitos quadráticos para os teores de rafinose, enquanto a conversão alimentar melhorou linearmente à medida em que os níveis de rafinose aumentaram. A incidência de diarreia não foi influenciada pelas dietas. A altura dos vilos aumentou de forma linear à medida em que adicionou-se rafinose às dietas. Os teores de rafinose não afetaram o número de bactérias lácticas no conteúdo intestinal dos animais, no entanto, menores quantidades de *E. coli* foram estimadas para os teores de 1,23 e 1,40% de rafinose, no jejuno e ceco, respectivamente. Conclui-se que a rafinose diminui os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e da energia, bem como, o tempo de trânsito gastrintestinal; melhora o desempenho, não causa diarreia em leitões recém-desmamados e ainda diminui o número de *E. Coli* no conteúdo intestinal.

Palavras-chave: desempenho, digestibilidade, galacto-oligossacarídeos, microbiologia, saúde intestinal

RAFFINOSE IN WEANED PIGLETS FEEDING

ABSTRACT – Commonly used ingredients in piglets feed, such as corn and soybean meal have galacto-oligosaccharides (Gos), as raffinose, which do not have their effects on nutrition of piglets fully understood. One study was conducted using newly weaned pigs, from 21 to 63 days old, distributed into a randomized complete block design with five treatments. It was elaborated a diet containing low Gos levels, and added to this diet purified raffinose (0, 0.75, 1.50 and 2.25%). The fifth diet was elaborated with corn and soybean meal (CSBM) containing usually Gos levels in piglets diets. Were evaluated the digestibility of nutrients and energy, digesta transit time (DTT), digestive organs weight, performance, diarrhea incidence, gut morphology, and intestinal pH and microbiology. The total tract digestibility of nutrients and energy, as well DTT were linear decreased when the raffinose levels increased. The same result was observed to the amino acids, mainly, the non-essentials, however, the minerals digestibility were not affected. The total tract digestibility of nutrients and energy of CSBM diet were lower than the diets containing 0 and 0.75% of raffinose. The highest caecum weight was estimated to 0.76% of raffinose level. The feed intake and final weight, at 49 days old had a quadratic effect, while feed conversion ratio was linearly reduced when levels of raffinose increased. The diarrhea incidence was not affected by diets. The villi heights linearly increase with raffinose addiction. The gut content of lactic acid bacteria was not affect by raffinose levels, however, a fewer number of *E. coli* were estimated to 1.23 and 1.40% of raffinose levels in jejunum and caecum, respectively. In conclusion, the raffinose decreases the digestibility coefficients of nutrients and energy and digesta transit time; improves the performance, does not caused diarrhea in newly weaned piglets and also decreases the intestinal *E coli* populations.

Key-words: digestibility, galacto-oligosaccharides, intestinal health, microbiology, performance

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Introdução

Cerca de 70% das dietas de leitões são compostas por carboidratos. Os galacto-oligossacarídeos (Gos), também conhecidos como oligossacarídeos da soja, oligossacarídeos da família rafinose ou α -galactosídeos, são uma fração desses carboidratos. Os Gos são representados pela rafinose, estaquiose e verbascose e têm sido estudados ao longo dos últimos anos. Em geral, aos Gos são atribuídos efeitos antinutricionais, porém trabalhos têm mostrado resultados controversos. Pan et al. (2002) e Liying et al. (2003) verificaram queda no desempenho de leitões quando adicionaram estaquiose às suas dietas. Piores digestibilidades dos nutrientes para suínos também foram associadas aos Gos por Veldman et al. (1993) e Smiricky et al. (2002). No entanto, recentemente, Perryman et al. (2013) não verificaram diferenças quanto ao ganho de peso e consumo de ração de frangos alimentados com dietas formuladas com farelos de soja que continham entre 7,5 e 0,57% de Gos. Resultados semelhantes, foram encontrados por Baker e Stein (2009). Os Gos também exercem efeitos prebióticos por aumentarem o número de microrganismos benéficos que colonizam o intestino como constatado por Liying et al. (2003) e Smiricky-Tjardes et al. (2003). Seve et al. (1989) citado por Martínez-Villaluenga et al. (2008) apontaram que as dietas comumente utilizadas na alimentação de suínos possuem teores abaixo de 2% de Gos e que esses teores não trazem efeitos negativos.

É difícil concluir se os Gos exercem benefícios ou malefícios aos animais, porém, o que determina seus efeitos na alimentação de monogástricos, possivelmente, são fatores inerentes aos animais, como idade e espécie e aos Gos, como teor na dieta e fonte.

Destaca-se, ainda, na literatura, o grande número de trabalhos sobre os efeitos dos Gos em dietas purificadas ou que estudaram a diferença entre os teores desses compostos no farelo de soja e no concentrado proteico de soja. Dietas purificadas ou semi-purificadas, possuem características químicas e físicas muito

diferentes daquelas utilizadas na prática. Desse modo, o ambiente intestinal e, conseqüentemente, a resposta animal, podem ser consideravelmente diferentes quando os suínos são alimentados com dietas purificadas ou dietas práticas.

Adicionalmente, é comum o emprego de álcool como solvente no tratamento do farelo soja a fim de obter-se o concentrado proteico de soja. Esse tratamento remove, não somente, grande parte dos Gos, mas também os demais carboidratos solúveis e componentes com propriedades antinutritivas, como a glicinina e β -glicinina (CHOCT et al., 2010; DERSJANT-LI e PEISKER 2010). Dessa forma, pode haver falha na interpretação dos resultados quando se utiliza o concentrado proteico de soja para estudar os efeitos dos Gos na alimentação de monogástricos. Outro ponto que tem sido negligenciado é a contribuição do milho com o teor total de rafinose em dietas para leitões. Embora possua teores de rafinose inferiores em comparação ao farelo de soja, o milho pode contribuir com uma porção significativa dos Gos em dietas para leitões, uma vez que sua inclusão é de duas a três vezes o volume do farelo de soja. Adicionalmente, não existem trabalhos que avaliaram os efeitos da rafinose isoladamente na alimentação animal, uma vez que esse componente representa, em média, 40% do teor total de Gos numa dieta formulada basicamente com milho e farelo de soja para leitões.

Dessa forma, o objetivo foi avaliar os efeitos da rafinose na alimentação de leitões recém-desmamados. Avaliou-se a digestibilidade dos nutrientes e da energia, tempo de trânsito gastrointestinal, o desempenho, a incidência de diarreia e as características morfofisiológicas e microbiológicas do trato digestório.

2. Revisão de literatura

2.1 Origem botânica dos galacto-oligossacarídeos

Os Gos fazem parte dos carboidratos não-estruturais, em conjunto com o amido e açúcares de baixo peso molecular (KNUDSEN, 1997). Esses carboidratos são formados por 3 a 9 unidades de monossacarídeos conectados por ligações glicosídicas, são solúveis em água e encontrados, principalmente, em sementes de

cereais (CUMMINGS; STEPHEN, 2007), conforme demonstrado na Tabela 1. Os Gos são sintetizados e depositados nos órgãos de armazenamento durante a maturação, servem de proteção à dessecação, além de serem hidrolisados durante a germinação, servindo como carboidratos de reserva (NISHIZAWA et al., 2008).

Tabela 1 – Principais carboidratos encontrados nos cereais.

Grupo (GP*)	Sub-grupo	Principais componentes
Açúcares (1-2)	Monossacarídeos	Glicose, frutose, galactose
	Dissacarídeos	Sacarose, maltose
Oligossacarídeos (3-9)	Galacto-oligossacarídeos	Rafinose, estaquiose, verbascose
	Frutanos	Fruto e xilo-oligossacarídeos
Polissacarídeos (≥ 10)	Amido	Amilose, amilopectina
	Polissacarídeos não amiláceos	Celulose, hemicelulose, pectina, arabinoxilanas, β -glucanas

*Grau de polimerização. Adaptado de Cummings e Stephen (2007) e Bach Knudsen et al. (2012).

Os oligossacarídeos encontrados nas plantas podem ser divididos em dois grupos, sendo um, composto pelos Gos, que são representados pela rafinose, estaquiose e verbascose e o outro que compreende os frutoligossacarídeos (FOS). Os Gos são formados por ligações α (1-6) entre uma molécula de sacarose e uma, duas ou três moléculas de galactose (Figura 1). Já os FOS são formados por ligações β (1-2) e são conhecidos por seus efeitos prebióticos (EGGLESTON e CÔTÉ GREGORY, 2003).

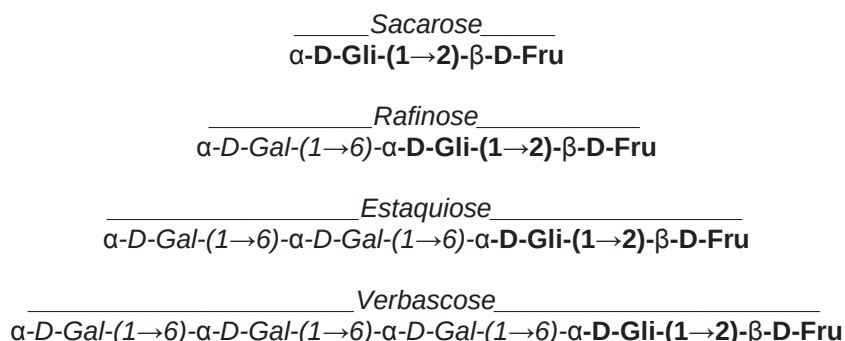


Figura 1 - Relação estrutural dos Gos. Adaptado de Choct et al. (2010).

2.2 Galacto-oligossacarídeos no milho e no farelo de soja

O milho e o farelo de soja são os ingredientes mais utilizados na alimentação de suínos. Em dietas práticas para leitões, durante as fases pré-inicial e inicial, as inclusões desses ingredientes normalmente variam entre 50 e 70% para o milho e entre 20 e 30% para o farelo de soja.

O farelo de soja é a principal fonte proteica na alimentação de monogástricos, no entanto, os carboidratos representam uma grande fração desse ingrediente, compondo cerca de 35 a 40% do seu peso seco. A metade desses carboidratos é não-estrutural, incluindo açúcares de baixo peso molecular, oligossacarídeos e pequenas quantidades de amido, ao passo que o restante é composto por polissacarídeos estruturais, com grande porção de substâncias pécticas (KARR-LILIENTHAL et al., 2005). O conteúdo de Gos presente no farelo de soja pode variar de 0,2 a 7,0% do peso seco, sendo que essa variação é determinada por fatores como local de cultivo, condições de armazenamento, processamento, genótipos, entre outros (GRIESHOP et al., 2003; YAMKA et al., 2005). A estaquiase é o Gos mais abundante no farelo de soja, seguida da rafinose e da verbascose. Já no concentrado proteico de soja, os açúcares, carboidratos solúveis e outros componentes de baixo peso molecular são dissolvidos por uma solução com álcool, restando a matriz proteica e constituintes da parede celular. Dessa forma, esse ingrediente apresenta composição química semelhante à do farelo de soja, com exceção dos baixos teores de Gos, demais componentes solúveis e teores proteicos que variam entre 60 e 70% (KARR-LILIENTHAL et al., 2005).

No grão de milho, os carboidratos perfazem cerca de 70% de sua composição. A concentração dos Gos pode variar de 0,9 a 5,0%, sendo quase a totalidade constituída por rafinose (JOSÉ et al., 2006). Em dietas para leitões, o milho pode contribuir com um teor significativo desses oligossacarídeos, visto que sua inclusão normalmente varia de 50 a 70% nessa fase. O milho degerminado não possui Gos, pois, por serem carboidratos de reserva, são depositados no gérmen do grão (JOSÉ et al., 2006). São escassos na literatura os trabalhos que investigaram o

perfil dos carboidratos que constituem o milho, porém, observa-se trabalhos que relacionam o conteúdo de oligossacarídeos com a tolerância à dessecação e à viabilidade das sementes após a estocagem (BOCHICCHIO et al., 1994; BRENAC et al., 1997). Pelos teores de Gos usualmente encontrados no milho serem menores daqueles observados no farelo de soja, sua contribuição nos teores totais verificados em dietas para monogástricos e, conseqüentemente, seus efeitos, têm sido negligenciados.

2.3 Efeito dos galacto-oligossacarídeos na alimentação de leitões

Nos suínos, os açúcares como sacarose, maltose e lactose são hidrolisados por enzimas específicas e absorvidos, no intestino delgado, na forma de monossacarídeos. Porém, os Gos são formados por galactoses e, portanto, não são digeridos por enzimas secretadas por monogástricos. Esses compostos são formados por ligações α -(1,6) e para hidrolisá-las é necessária a enzima α -galactosidase, não produzida pelos suínos (KARR-LILIENTHAL et al., 2005). Assim, esses oligossacarídeos são fermentados por microrganismos que são capazes de sintetizar esta enzima (DONKOR et al., 2007).

Tradicionalmente, aos Gos são atribuídos efeitos como aumento da viscosidade da digesta, incidência de diarreia e flatulência (DERSJANT-LI e PEISKER, 2010; RODRIGUES BRASIL et al., 2010). Essas ações podem levar a reduções nas digestibilidades da proteína, da matéria seca e da energia das dietas (PERRYMAN e DOZIER, 2012), podendo comprometer o desempenho de leitões recém-desmamados, pois é importante lembrar, que estes animais têm seus sistemas imunológico e digestório em desenvolvimento, produção insatisfatória de enzimas específicas para digestão de ingredientes de origem vegetal e alta demanda por nutrientes (LALLES et al., 2007).

Embora alguns autores considerem os Gos fatores antinutricionais, seus efeitos parecem estar ligados não somente aos teores nas dietas, mas também às espécies animais. Para frangos, a presença de Gos na dieta pode causar efeitos indesejáveis, como redução na digestibilidade dos nutrientes e da energia e queda

no desempenho (COON et al., 1990). Isso pode ser explicado pela baixa capacidade de fermentação no trato digestório desses animais. Já em suínos, esses efeitos são atenuados, pois os Gos são facilmente degradados por microrganismos presentes ainda no intestino delgado, favorecendo as produções de ácidos graxos de cadeia curta e lactato (SMIRICKY-TJARDES et al., 2003). Desse modo, o meio intestinal é acidificado, proporcionando condições melhores para o desenvolvimento de bactérias benéficas e dificultando a colonização do trato digestório por bactérias patogênicas.

2.3.1 Digestibilidade dos nutrientes e da energia

Há grande variação quanto à degradação dos Gos pelos microrganismos presentes no intestino delgado de animais monogástricos, no entanto, são degradados quase que totalmente nessa porção do trato digestório. Adicionalmente, fontes purificadas desses compostos parecem ser mais facilmente degradadas quando comparadas aos Gos presentes na matriz dos ingredientes (SMIRICKY-TJARDES et al., 2003). Sabe-se, também, que animais com o sistema digestório desenvolvido, como suínos em crescimento ou adultos, possuem maior capacidade de degradar esses componentes, se comparados a leitões recém-desmamados, frangos ou ratos (ZDUNCZYK, 2004).

Em suínos alimentados com dietas purificadas, contendo 4,78% de Gos, observou-se digestibilidade ileal aparente de 77% e total aparente de 100% para esses compostos (SMIRICKY-TJARDES et al., 2003). Os mesmos autores verificaram, ainda, reduções nas digestibilidades ileais aparentes da matéria seca, matéria orgânica e nitrogênio. Quanto à digestibilidade total dos nutrientes, somente a do nitrogênio foi reduzida quando adicionado Gos às dietas. Anteriormente, Parsons et al. (2000) observaram digestibilidades da estaquiose e da rafinose de 48 e 25%, respectivamente, em frangos cecotomizados, e de 79 e 74%, em frangos não-cecotomizados, indicando que frangos, ao contrário dos suínos, degradam boa parte dos Gos no intestino grosso.

Em um experimento com suínos em crescimento, Baker e Stein (2009) constataram maior digestibilidade ileal dos aminoácidos essenciais para um farelo de soja com baixos teores de Gos (1,73%) em relação a outro com altos teores (5,7%). Utilizando 25% de inclusão desses farelos de soja em dietas para suínos, os autores não verificaram diferença quanto ao balanço energético. Por outro lado, Gabert et al. (1995) não verificaram diferenças quanto à digestibilidade ileal dos aminoácidos, bem como da proteína e da matéria seca, quando adicionaram 0,5% de Gos às dietas de leitões recém-desmamados. Da mesma forma, Zhang et al. (2001) não encontraram diferenças nas digestibilidades da matéria seca, energia, proteína e aminoácidos, quando leitões foram alimentados com dieta formulada com farelo de soja, que proporcionou teor de 0,91% de Gos ou com dietas formuladas com proteína isolada de soja contendo 0, 1 e 2% de estaquiase. Adicionalmente, a redução da digestibilidade dos nutrientes, quando da presença de teores elevados de Gos em dietas para suínos, pode ser explicada pelo aumento da osmolaridade da digesta e, conseqüentemente, da diluição enzimática e aumento da velocidade de passagem da digesta pelo trato digestório (VELDMAN et al., 1993; PAN et al., 2002). Entretanto, há evidências de que a diminuição do pH do trato digestório, causada pela fermentação dos Gos, aumenta a absorção e deposição de minerais como o cálcio e magnésio (CHONAN et al., 1995).

2.3.2 Desempenho

São atribuídos aos Gos, efeitos como aumento da incidência de diarreia, desconforto intestinal, queda do consumo e flatulência e, por isso, menor ganho de peso de leitões (KARR-LILIENTHAL et al., 2005; DERSJANT-LI e PEISKER, 2010). A adição de 1 e 2% de estaquiase em dietas com baixos teores de Gos, causou redução no ganho de peso de leitões em 16 e 32% respectivamente, porém, mesmo com a inclusão de 2% de estaquiase, o consumo de ração, a conversão alimentar e a incidência de diarreia não foram afetados (LIYING et al., 2003). No entanto, os autores verificaram que outra dieta, formulada com farelo de soja e contendo 1% de Gos, proporcionou maior incidência de diarreia que as demais. Dessa forma,

recomendaram que dietas para leitões não contenham mais que 1% de Gos quando o farelo de soja for a principal fonte proteica, pois os demais constituintes, presentes no farelo de soja, como os polissacarídeos-não-amiláceos solúveis e β -glicina, podem ser os responsáveis pelo aumento da incidência de diarreia. A adição de 1% de estaquiose numa dieta prática, formulada com farelo de soja e milho, totalizando 2,5% de Gos, proporcionou queda no desempenho de leitões com peso médio inicial de 7 kg (PAN et al., 2002). De acordo com os resultados obtidos por esses autores, pode-se notar que quando os Gos são provenientes do farelo de soja, seus efeitos maléficos sobre o desempenho de leitões e também sobre a incidência de diarreia, parecem ser potencializados. Isso reforça a ideia de que o farelo de soja possui outros componentes, que não os Gos, que também influenciam, de forma negativa, o desempenho de animais monogástricos.

2.3.3 Saúde intestinal

Os Gos são passíveis de fermentação desde o estômago até o intestino grosso dos suínos. Essa fermentação resulta na produção de ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico, sendo que alguns gases (CO_2 , H_2 , CH_4) também são produtos dessa fermentação (WANG et al., 2004; KARR-LILIETHAL et al., 2005). Os ácidos graxos de cadeia curta e o ácido láctico são capazes de estimular reabsorções de água e sódio no intestino grosso, além de inibirem o crescimento de bactérias patogênicas como *Salmonella* e *Escherichia coli* (MAY et al., 1994) e favorecerem a colonização por microrganismos benéficos, como os lactobacilos e bifidobactérias (HOUDIJK et al., 1998; MAZO et al., 2009). A estes microrganismos benéficos, são atribuídos efeitos como a manutenção do balanço saudável da microbiota intestinal e produção de substâncias conhecidas como bacteriocinas, que são proteínas metabolicamente ativas, as quais ajudam no combate aos microrganismos indesejáveis, como a *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens* (MOSENTHIN et al., 2000). Alguns desses lactobacilos também podem ter efeito na expressão do gene mucina nas células caliciformes, estimulando a produção de muco na mucosa intestinal, contribuindo para a eficiência da função de barreira no

epitélio do intestino (PASSOS e PARK, 2003). Adicionalmente, os ácidos graxos de cadeia curta são utilizados de diferentes formas pelo organismo. O acético é carregado para o fígado e atua como fonte de energia para os músculos; o propiônico é convertido em glicose no fígado e também é fonte de energia, e dentre eles, o butírico é a maior fonte de energia para atividades metabólicas e participa do desenvolvimento das células epiteliais do trato digestório (ROEDIGER, 1982; ROSSI et al., 2009).

Desse modo, embora a presença de Gos em dietas para leitões possa diminuir o aproveitamento dos nutrientes, alguns autores (HOUDIJK et al., 1998; MAZO et al., 2009) creditaram a estes compostos características prebióticas, que melhoram a saúde intestinal desses animais. Veldman et al. (1993) e Smiricky-Tjardes et al. (2003) confirmaram, que a inclusão de Gos nas dietas de suínos causou diminuição da digestibilidade dos nutrientes, porém aumentou o número de microrganismos benéficos no conteúdo intestinal. Pode-se destacar que os Gos de origem industrial, por serem mais facilmente fermentáveis, têm seus efeitos prebióticos pronunciados, enquanto os Gos provindos da matriz dos ingredientes exercem, de modo geral, efeitos antinutricionais, sobretudo quando presentes em teores elevados nas dietas (IJI e TIVEY, 1998).

Embora, nos últimos anos, a indústria tenha produzido sementes de milho e soja com baixos teores de Gos, os níveis encontrados nesses ingredientes ainda podem diminuir a eficiência de utilização dos nutrientes e o desempenho animal. Por outro lado, os Gos possuem a capacidade de aumentar a população de bactérias benéficas no trato digestório. Dessa forma, são necessários mais estudos sobre o tema, sobretudo com a utilização de dietas com características similares às adotadas na prática, de modo que os resultados obtidos possam ser extrapolados. Adicionalmente, esses estudos devem elucidar de que maneira e magnitude os Gos atuam nos processos de digestão e absorção dos nutrientes, para que possam ser adotadas medidas visando melhores índices de produtividade. Por último, destaca-se a ausência de trabalhos que avaliaram os efeitos da rafinose isoladamente na alimentação de animais, visto sua importância, uma vez que essa representa, em média, 40% dos Gos totais em dietas para leitões.

3. Objetivos

Investigar os efeitos da rafinose na alimentação de leitões recém-desmamados. Para isso, avaliou-se a digestibilidade dos nutrientes e da energia, o tempo de trânsito gastrointestinal, o desempenho, a incidência de diarreia e as características morfofisiológicas e microbiológicas do trato digestório.

4. Referências bibliográficas

BACH KNUDSEN, K. E.; HEDEMAN, M. S.; LÆRKE, H. N. The role of carbohydrates in intestinal health of pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, p. 41-53, 2012.

BAKER, K.; STEIN, H. Amino acid digestibility and concentration of digestible and metabolizable energy in soybean meal produced from conventional, high-protein, or low-oligosaccharide varieties of soybeans and fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 2282-2290, 2009.

BOCHICCHIO, A.; RIZZI, E.; BALCONI, C. et al. Sucrose and raffinose contents and acquisition of desiccation tolerance in immature maize embryos. **Seed Science Research**, v. 4, p. 123-126, 1994.

BRENAC, P.; SMITH, M. E.; OBENDORF, R. L. Raffinose Series Oligosaccharides and Desiccation Tolerance of Developing Viviparous Maize Embryos. In: ELLIS, R. H. et al. Raffinose Series Oligosaccharides and Desiccation Tolerance of Developing Viviparous Maize Embryos. In: ELLIS, R. H. et al. **Basic and Applied Aspects of Seed Biology**. ed.: Springer Netherlands, 1997. p. 95-101.

CHOCT, M.; DERSJANT-LI, Y.; MCLEISH, J.; PISKER, M. Soy oligosaccharides and soluble non-starch polysaccharides: a review of digestion, nutritive and anti-nutritive effects in pigs and poultry. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, p. 1386-1398, 2010.

CHONAN, O.; MATSUMOTO, K.; WATANUKI, M. Effect of galactooligosaccharides on calcium absorption and preventing bone loss in ovariectomized rats. **Biosciences Biotechnology and Biochemistry**, v. 59, p. 236-239, 1995.

COON, C. N.; LESKE, K.; AKAVANICHAN, O. CHENG, T. K. Effect of oligosaccharide-free soybean meal on true metabolizable energy and fiber digestion in adult roosters. **Poultry Science**, v. 69, p. 787-793, 1990.

CUMMINGS, J. H.; STEPHEN, A. M. Carbohydrate terminology and classification. **Eur J Clin Nutr**, v. 61, p. S5-18, 2007.

DERSJANT-LI, Y.; PEISKER, M. The impact of soy oligosaccharides on digestion and intestinal health in weaning piglets. **Livestock Science**, v. 134, p. 187-189, 2010.

DONKOR, O. N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T. SHAH, N. P. α -Galactosidase and proteolytic activities of selected probiotic and dairy cultures in fermented soymilk. **Food Chemistry**, v. 104, p. 10-20, 2007.

EGGLESTON, G.; CÔTÉ GREGORY, L. Oligosaccharides in Food and Agriculture. In: Oligosaccharides in Food and Agriculture. In. **Oligosaccharides in Food and Agriculture**. ed.: American Chemical Society, 2003. p. 1-14.

GABERT, V. M.; SAUER, W. C.; MOSENTHIN, R. SCHMITZ, M.; AHRENS, F. E. T. The effect of oligosaccharides and lactitol on the ileal digestibilities of amino acids, monosaccharides and bacterial populations and metabolites in the small intestine of weanling pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 75, p. 99-107, 1995.

GRIESHOP, C. M.; KADZERE, C. T.; CLAPPER, G. M. FLICKINGER, E. A.; BAUER, L.; FRAZIER, RODNEY L.; FAHEY, GEORGE C. Chemical and nutritional characteristics of United States soybeans and soybean meals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 7684-7691, 2003.

HEDEMANN, M. S.; MIKKELSEN, L. L.; NAUGHTON, P. J. JENSEN, B. B. Effect of feed particle size and feed processing on morphological characteristics in the small and large intestine of pigs and on adhesion of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT12 in the ileum in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 1554-1562, 2005.

HOUDIJK, J.; BOSCH, M.; VERSTEGEN, M. BERENPAS, H.J. Effects of dietary oligosaccharides on the growth performance and faecal characteristics of young growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.71, p.35-48, 1998.

IJI, P. A.; TIVEY, D. R. Natural and synthetic oligosaccharides in broiler chicken diets. **World's Poultry Science Journal**, v. 54, p. 129-143, 1998.

JOSÉ, S.; VON PINHO, E.; DIAS, M. Açúcares e tolerância à alta temperatura de secagem sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, p. 60-68, 2006.

KARR-LILIENTHAL, L. K.; KADZERE, C. T.; GRIESHOP, C. M. FAHEY JR, G. C. Chemical and nutritional properties of soybean carbohydrates as related to nonruminants: A review. **Livestock Production Science**, v. 97, p. 1-12, 2005.

KNUDSEN, K. E. B. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. **Animal Feed Science and Technology**, v. 67, p. 319-338, 1997.

LALLES, J. P.; BOSI, P.; SMIDT, H. STOKES, CHRIS, R. Nutritional management of gut health in pigs around weaning. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 66, p. 260-268, 2007.

LIYING, Z.; LI, D.; QIAO, S. JOHNSON, E. W.; LI, B.; THACKER, P. A.; HAN, IN K. Effects of stachyose on performance, diarrhoea incidence and intestinal bacteria in weanling pigs. **Archives of Animal Nutrition**, v. 57, p. 1-10, 2003.

MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; FRIAS, J.; VIDAL-VALVERDE, C. Alpha-Galactosides: Antinutritional Factors or Functional Ingredients? **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, p. 301-316, 2008.

MAY, T.; MACKIE, R.; FAHEY, G. CREMIN, J.C.; GARLEB, K. A. Effect of fiber source on short-chain fatty acid production and on the growth and toxin production by *Clostridium difficile*. **Scandinavian journal of gastroenterology**, v. 29, p. 916-922, 1994.

MAZO, J. Z.; ILHA, E. C.; ARISI, A. C. M. SANT'ANNA, E. S. BIFIDOBACTÉRIAS: ISOLAMENTO, IDENTIFICAÇÃO E APLICAÇÃO EM ALIMENTOS PROBIÓTICOS. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, 2009.

MOSENTHIN, R.; BAUER, E.; AUMAITRE. The potential use of prebiotics in pig nutrition. In: **Proceedings of 2000 International Symposium Recent Advances in Animal Nutrition**, Seoul, Korea, 20-22 April 2000., p 315-325, 2000.

NISHIZAWA, A.; YABUTA, Y.; SHIGEOKA, S. Galactinol and raffinose constitute a novel function to protect plants from oxidative damage. **Plant Physiology**, v. 147, p. 1251-1263, 2008.

PAN, B.; LI, D.; PIAO, X. ZHANG, L.; GUO, L. Effect of Dietary Supplementation With α -Galactosidase Preparation and Stachyose on Growth Performance, Nutrient Digestibility and Intestinal Bacterial Populations of Piglets. **Archiv für Tierernaehrung**, v. 56, p. 327-337, 2002.

PARSONS, C.; ZHANG, Y.; ARABA, M. Nutritional evaluation of soybean meals varying in oligosaccharide content. **Poultry Science**, v. 79, p. 1127-1131, 2000.

PASSOS, L. M. L.; PARK, Y. K. Fructooligosaccharides: implications in human health being and use in foods. **Ciência Rural**, v. 33, p. 385-390, 2003.

PERRYMAN, K. R.; DOZIER, W. A. Apparent metabolizable energy and apparent ileal amino acid digestibility of low and ultra-low oligosaccharide soybean meals fed to broiler chickens¹. **Poultry Science**, v. 91, p. 2556-2563, 2012.

PERRYMAN, K. R.; OLANREWAJU, H.; DOZIER, W. A. Growth performance and meat yields of broiler chickens fed diets containing low and ultra-low oligosaccharide soybean meals during a 6-week production period. **Poultry Science**, v. 92, p. 1292-1304, 2013.

RODRIGUES BRASIL, A. P.; DE REZENDE, S. T.; DO CARMO GOUVEIA PELÚZIO, M. et al. Removal of oligosaccharides in soybean flour and nutritional effects in rats. **Food Chemistry**, v. 118, p. 251-255, 2010.

ROEDIGER, W. Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. **Gastroenterology**, v. 83, p. 424-429, 1982.

ROSSI, F.; MORLACCHINI, M.; GATTI, P.; SOLDI, S.; CALLEGARI, M. L.; PIVA G. Effects of a glucooligosaccharide supplement on the morphological characteristics of the gastro-intestinal tract and growth performance in weaned piglets. **Italian Journal of Animal Science**, v. 7, p. 185-198, 2009.

SMIRICKY-TJARDES, M.; FLICKINGER, E.; GRIESHOP, C.; BAUER, L. L.; MURPHY, M.R.; FAHEY, G. C. In vitro fermentation characteristics of selected

oligosaccharides by swine fecal microflora. **Journal of Animal Science**, v .81, p. 2505-2514, 2003.

SMIRICKY-TJARDES, M. R.; GRIESHOP, C. M.; FLICKINGER, E. A.; BAUER, L. L.; FAHEY, G. C. Dietary galactooligosaccharides affect ileal and total-tract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentative characteristics of growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 2535-2545, 2003.

SMIRICKY, M.; GRIESHOP, C.; ALBIN, D. WUBBEN, J. E.; GABERT, V. M.; FAHEY, G. C. The influence of soy oligosaccharides on apparent and true ileal amino acid digestibilities and fecal consistency in growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 2433-2441, 2002.

VELDMAN, A.; VEEN, W. A. G.; BARUG, D.; VAN PARIDON, P. A. Effect of α -galactosides and α -galactosidase in feed on ileal piglet digestive physiology. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 69, p. 57-65, 1993.

WANG, J.; ZHU, Y.; LI, D. In vitro fermentation of various fiber and starch sources by pig fecal inocula. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 2615-2622, 2004.

WENK, C. The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. **Animal Feed Science and Technology**, v. 90, p. 21-33, 2001.

YAMKA, R.; HETZLER, B.; HARMON, D. Evaluation of low-oligosaccharide, low-phytate whole soybeans and soybean meal in canine foods. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 393-399, 2005.

ZDUNCZYK, Z. Physiological effect of low digestible oligosaccharides in diets for animals and humans. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 13, p. 115-130, 2004.

ZHANG, L.; LI, D.; QIAO, S.; WANG, J.; BAI, L. U.; WANG, Z.; HAN, I. K. The effect of soybean galactooligosaccharides on nutrient and energy digestibility and digesta transit time in weanling piglets. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 14, p. 1598-1604, 2001.

CAPÍTULO 2 – Efeito da rafinose sobre a digestibilidade dos nutrientes e energia, o tempo de trânsito gastrointestinal e o peso dos órgãos do trato digestório de leitões recém-desmamados

Resumo - O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos da rafinose, um galacto-oligossacarídeo (Gos), na alimentação de leitões. Foram utilizados 105 leitões recém-desmamados, com peso inicial de $6,703 \pm 0,761$ kg dos 21 aos 49 dias de idade, distribuídos em cinco tratamentos com sete repetições e três animais por unidade experimental. Foi elaborada uma dieta contendo baixos teores de Gos, e a ela adicionada rafinose purificada (0, 0,75, 1,50 e 2,25%). A quinta dieta foi formulada com milho e farelo de soja (MFS), contendo teores de Gos usualmente encontrados em dietas de leitões. Pelo método da coleta parcial, foram avaliados os coeficientes de digestibilidade totais aparentes (CDTA) e os coeficientes de digestibilidade ileais aparentes (CDIA) dos nutrientes e da energia, o tempo de trânsito gastrointestinal (TTGI) e os pesos dos órgãos do trato digestório. Aos 35 dias de idade, seis animais por tratamento foram abatidos para a coleta das amostras. Houve reduções lineares dos CDTA da matéria seca, matéria orgânica, proteína e da energia com o aumento do teor de rafinose nas dietas, no entanto, a digestibilidade dos minerais não foi afetada. A digestibilidade da proteína bruta foi de 84,87 e 70,84% para as dietas contendo 0 e 2,25% de rafinose, respectivamente. A dieta MFS teve seus CDTA menores em relação às dietas contendo 0 e 0,75% de rafinose. Houve redução linear dos CDIA de grande parte dos aminoácidos com o aumento do teor de rafinose. O TTGI sofreu redução linear à medida em que o teor de rafinose aumentou. O maior peso do ceco foi estimado para o nível de 0,76% de rafinose. Conclui-se que a rafinose diminui os coeficientes de digestibilidade total dos nutrientes e da energia, sobretudo da proteína, bem como o tempo de trânsito gastrointestinal. Tanto fontes purificadas de Gos, quanto oriundas do farelo de soja e milho, provocam redução do aproveitamento dos nutrientes e energia.

Palavras chave: aproveitamento de nutrientes, estaquiase, fermentação, galacto-oligossacarídeos

CHARPTER 2 – Raffinose effects on nutrient and energy digestibility, digesta transit time and digestive organs weight of weaned piglets

Abstract - The aim of this study was evaluate the effects of raffinose, a galacto-oligosaccharide (Gos), on weaned piglets feeding. Were used 105 newly weaned piglets, with 6.703 ± 0.761 kg of live weight from 21 to 49 days old. The animals were distributed in a randomized block design with five treatments, seven replications and three animals per pen. It was elaborated a diet containing low Gos levels (0%), and added to this diet, purified raffinose (0.75, 1.50 and 2.25%). The fifth diet was formulated with corn and soybean meal (CSBM) containing Gos levels usually found in piglets diets. Were evaluated the apparent total tract digestibility (ATTD) and the apparent ileal digestibility (AID) of nutrients and energy, the digesta transit time (DTT) and digestive tract organs weight according to the experimental diets. At 35 days old, six animals per treatment were slaughtered to collect samples from intestinal content. The ATTD of nutrients an energy were linearly reduced by raffinose increasing levels, however, minerals digestibility was not affected. The crude protein digestibility was 84.87 and 70.84% to diets containing 0 and 2.25% of raffinose, respectively. The nutrient and energy ATTD of CSBM diet were lower than diets the diets containing 0 and 0.75% of raffinose. There was linear reduction of AID of mainly amino acids when raffinose levels increased. The DTT had a linear reduction when the raffinose levels were increased, and the highest caecum weight was estimated to 0.76% of raffinose. In conclusion, the raffinose decreases total tract digestibility of nutrients and energy, especially of protein, as well the digesta transit time. Both purified or corn and soybean meal sources of Gos decrease the nutrient and energy digestibility.

Key words: estachyose, fermentation, galacto-oligosaccharides, nutrient utilization

1. Introdução

Os Galacto-oligossacarídeos (Gos), também conhecidos como oligossacarídeos da família rafinose ou α -galactosídeos, são açúcares solúveis de baixo peso molecular e podem ser encontrados na maioria dos cereais e na soja (Martínez-Villaluenga et al., 2008). A rafinose, juntamente com a estaquiose e a verbascose, são os Gos mais comuns e são formados por ligações α (1,6). Esses carboidratos não são digeridos facilmente pelos animais por esses não secretarem a enzima α -galactosidase, sendo dessa forma, fermentados pelos microrganismos presentes no trato digestório (Swennen et al., 2006).

Na literatura, são encontrados trabalhos que investigaram os efeitos dos Gos, principalmente a estaquiose, sobre a digestibilidade dos nutrientes e da energia. Smiricky et al. (2002), verificaram diminuição do aproveitamento da maioria dos aminoácidos, do nitrogênio e da matéria seca de dietas para suínos, contendo 2,26% de Gos em relação à que continha 1,03%. A adição de 1% de estaquiose em dietas formuladas com milho e farelo de soja para leitões também resultou em queda na digestibilidade (Pan et al., 2002). Coon et al. (1990) e Veldman et al. (1993) sugeriram que o aumento da velocidade de passagem da digesta pelo trato digestório, provocada pelos Gos, é a causa da redução na digestibilidade. Porém, Zhang et al. (2001), não verificaram diferenças quanto ao aproveitamento dos nutrientes quando adicionaram 1 ou 2% de estaquiose em dietas de leitões formuladas com milho e concentrado proteico de soja. Da mesma forma, Zuo et al, (1996), não verificaram diferenças quanto à digestibilidade dos nutrientes e da energia em cães alimentados com dietas contendo 3,1 ou 0,4 % de Gos. Ainda, segundo Mussatto e Mancilha, (2007), os Gos podem aumentar a absorção de alguns minerais como cálcio, magnésio e ferro. Sua capacidade de acidificar o conteúdo intestinal, pela produção de ácidos graxos e a formação de sais de cálcio e magnésio com esses ácidos, facilitariam a absorção dos minerais, no entanto, trabalhos a respeito são escassos.

Ao longo dos anos tem se dado atenção especial aos efeitos da estaquiose na alimentação de leitões, sendo que não existem trabalhos avaliando a rafinose

isoladamente. Adicionalmente, um melhor entendimento da forma como esses componentes atuam na nutrição de suínos é necessário, visto a disparidade de resultados obtidos até o momento. Dessa forma, nosso objetivo foi determinar os efeitos da rafinose na alimentação de leitões recém-desmamados. Para tanto, avaliou-se a digestibilidade aparente total e ileal dos nutrientes e da energia, o tempo de trânsito gastrointestinal e peso dos órgãos do trato digestório.

2. Material e Métodos

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Câmpus de Jaboticabal/SP (Protocolo número 019670/10).

2.1 Animais, dietas e delineamento experimental

Foram utilizados 105 leitões recém-desmamados, machos castrados, dos 21 aos 49 dias de idade e com peso inicial de $6,703 \pm 0,761$ kg. Os animais foram alojados em baias de $2,55\text{m}^2$ cada, equipadas com comedouros semi-automáticos e bebedouros do tipo chupeta, tendo água e ração à vontade. O controle da temperatura das baias foi realizado mediante a utilização cortinas e campânulas dotadas de lâmpadas incandescentes, sendo registradas, no interior do galpão, temperaturas médias mínimas de $24,62^\circ\text{C} \pm 0,9$ e máximas de $30,85^\circ\text{C} \pm 1,54$. Os animais foram distribuídos no delineamento em blocos casualizados, para controlar diferenças no peso inicial, com cinco tratamentos e sete repetições, sendo a unidade experimental constituída por três animais.

Os animais receberam dietas de modo a atender suas exigências nutricionais na fase I (dos 21 aos 35 de idade) e na fase II (dos 36 aos 49 dias de idade), de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2005).

As composições químicas dos principais ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais são apresentadas na Tabela 1. Foram elaboradas duas dietas, sendo uma, contendo baixos teores Gos, composta

principalmente por milho degerminado e concentrado proteico de soja e outra dieta composta principalmente por milho comum e farelo de soja (dieta MFS), contendo os teores de Gos normalmente encontrados em dietas para leitões. Os cinco tratamentos foram a dieta com baixos teores de Gos sendo a ela adicionados 0, 0,75, 1,50 e 2,25% de rafinose purificada e dieta a MFS (Tabelas 2 e 3). Na dieta com baixos teores de Gos, os teores basais de rafinose e estaquiose somados foram 0,40 e 0,51% nas fases I e II, respectivamente, enquanto que na dieta MFS os valores totais de rafinose e estaquiose somados foram de 1,55 e 203% nas fases I e II, respectivamente. A dieta com baixos teores de Gos foi formulada adicionando-se 2,25% de caulim (inerte), sendo, posteriormente, substituído por rafinose nas proporções de acordo com os tratamentos. A rafinose utilizada foi a penta-hidratada® (R0250, pureza $\geq 98\%$, Sigma). Nesse trabalho serão considerados somente os teores de rafinose e estaquiose, pois os níveis de verbascose encontrados nos cereais são muito baixos e de difícil detecção, conforme já descrito por Grieshop et al. (2003) e Martínez-Villaluenga et al. (2008). Animais monogástricos não secretam enzimas capazes de digerir a rafinose, deste modo, sua contribuição com nutrientes e energia foi considerada nula. As dietas continham os mesmos teores de energia, proteína e aminoácidos digestíveis, não sendo adicionados antibióticos ou promotores de crescimento. Não foi realizada adaptação prévia dos animais às dietas experimentais.

Tabela 1. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais.

Nutrientes ¹ , %	Milho comum	Milho degerminado	Farelo de soja	Concentrado proteico de soja
Matéria seca	87,01	88,30	89,60	90,44
Matéria orgânica	85,52	87,70	83,86	83,99
Proteína bruta	8,50	6,77	47,34	61,94
Fibra em detergente ácido	4,71	2,67	8,32	7,75
Fibra em detergente neutro	14,37	7,32	12,50	13,19
Galacto-oligossacarídeos				
Rafinose	0,41	0,06	2,50	0,44
Estaquiose	-	-	4,00	1,68

¹ Valores com base na matéria natural e determinados por meio de análises laboratoriais.

Tabela 2 – Ingredientes, composições química e centesimal das dietas experimentais para leitões dos 21 aos 35 dias de idade.

Ingredientes, %	Rafinose, %				MFS
	0	0,75	1,50	2,25	
Milho Comum	-	-	-	-	52,25
Milho Degerminado	54,64	54,64	54,64	54,64	-
Farelo de soja	-	-	-	-	20,50
Concentrado proteico de soja	16,97	16,97	16,97	16,97	-
Produto lácteo ¹	17,50	17,50	17,50	17,50	17,50
Plasma Sanguíneo	4,20	4,20	4,20	4,20	4,20
Fosfato bicalcico	2,53	2,53	2,53	2,53	2,32
Calcário	0,25	0,25	0,25	0,25	0,31
Sal	0,05	0,05	0,05	0,05	0,03
Rafinose purificada	0,00	0,75	1,50	2,25	0,00
Inerte (caulim)	2,25	1,50	0,75	0,00	0,00
Premix Mineral ²	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix vitamínico ³	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Óleo de soja	0,17	0,17	0,17	0,17	1,37
L-Lisina.HCl, 78%	0,47	0,47	0,47	0,47	0,55
L-Treonina, 98%	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
DL-Metionina, 99%	0,13	0,13	0,13	0,13	0,14
L-Triptofano, 98%	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05
Antioxidante BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados					
Energia metabolizável, kcal/kg	3400	3400	3400	3400	3400
Proteína bruta, %	20,10	19,93	20,50	20,04	20,28
Cálcio, %	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85
Fósforo disponível, %	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Fibra em detergente ácido, %	2,77	2,84	2,83	2,76	4,16
Fibra em detergente neutro, %	6,23	6,15	6,26	6,05	10,06
Lisina digestível, %	1,45	1,45	1,45	1,45	1,45
Metionina digestível, %	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Treonina digestível, %	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91
Triptofano digestível, %	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26
Galacto-oligossacarídeos, %					
Rafinose	0,11	0,86	1,61	2,36	0,73
Estaquiase	0,29	0,29	0,29	0,29	0,82

¹ Nuklospray[®] K21. Níveis de garantia por kg do produto: Proteína Bruta – 110 g; Extrato etéreo – 50; Cinzas – 87 g; Fibra bruta – 1 g; Umidade – 35 g; Lactose 700 g; Açúcar 735 g; Energia metabolizável – 3780 kcal.

² (Premix mineral) e ³ (Premix vitamínico) Suínos Agrocere/Multimix[®]. Níveis de garantia por kg dos produtos: Vit. A – 2.666.700 U.I.; Vit. D3 – 1.000.000 U.I.; Vit. E – 10.000 UI; Vit. K – 2.666,7 mg; Vit B2 – 2.000 mg; Vit. B12 – 11.000 µg; Vit. B6 – 666,7 mg; Vit B1 – 666,7 mg; Ácido pantotênico – 7.000 mg; Niacina – 13 g; Colina – 120 g; Ácido Fólico – 400 mg; Selênio 130 mg; Cobalto – 168 mg; Iodo – 1.416 mg; Selênio – 30 µg; Manganês – 40 g; Zinco – 75 g; Cobre – 15 g; Ferro – 25 g.

Tabela 3 – Ingredientes, composições química e centesimal das dietas experimentais para leitões dos 36 aos 49 dias de idade.

Ingredientes, %	Rafinose, %				MFS
	0	0,75	1,50	2,25	
Milho Comum	-	-	-	-	54,64
Milho Degerminado	59,17	59,17	59,17	59,17	-
Farelo de soja	-	-	-	-	27,27
Concentrado proteico de soja	21,97	21,97	21,97	21,97	-
Produto lácteo ¹	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Plasma Sanguíneo	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Fosfato bicalcico	2,46	2,46	2,46	2,46	2,22
Calcário	0,29	0,29	0,29	0,29	0,34
Sal	0,18	0,18	0,18	0,18	0,17
Rafinose purificada	0,00	0,75	1,50	2,25	0,00
Inerte (caulim)	2,25	1,50	0,75	0,00	0,00
Premix Mineral ²	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix vitamínico ³	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Óleo de soja	0,18	0,18	0,18	0,18	1,79
L-Lisina.HCl, 78%	0,27	0,27	0,27	0,27	0,36
L-Treonina, 98%	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
DL-Metionina, 99%	0,11	0,11	0,11	0,11	0,08
L-Triptofano, 98%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
Antioxidante BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados					
Energia metabolizável, kcal/kg	3375	3375	3375	3375	3375
Proteína bruta, %	21,00	21,00	21,00	21,00	21,00
Cálcio, %	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83
Fósforo disponível, %	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Fibra em detergente ácido, %	3,28	3,24	3,14	3,17	4,84
Fibra em detergente neutro, %	7,23	7,18	7,16	7,22	11,24
Lisina digestível, %	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33
Metionina digestível, %	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Treonina digestível, %	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Triptofano digestível, %	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
Galacto-oligossacarídeos, %					
Rafinose	0,14	0,89	1,64	2,39	0,94
Estaquiase	0,37	0,37	0,37	0,37	1,09

¹ Nuklospray® K21. Níveis de garantia por kg do produto: Proteína Bruta – 110 g; Extrato etéreo – 50; Cinzas – 87 g; Fibra bruta – 1 g; Umidade – 35 g; Lactose 700 g; Açúcar 735 g; Energia metabolizável – 3780 kcal.

² (Premix mineral) e ³ (Premix vitamínico) Suínos Agrocere/Multimix®. Níveis de garantia por kg dos produtos: Vit. A – 2.666.700 U.I.; Vit. D3 – 1.000.000 U.I.; Vit. E – 10.000 UI; Vit. K – 2.666,7 mg; Vit B2 – 2.000 mg; Vit. B12 – 11.000 µg; Vit. B6 – 666,7 mg; Vit B1 – 666,7 mg; Ácido pantotênico – 7.000 mg; Niacina – 13 g; Colina – 120 g; Ácido Fólico – 400 mg; Selênio 130 mg; Cobalto – 168 mg; Iodo – 1.416 mg; Selênio – 30 µg; Manganês – 40 g; Zinco – 75 g; Cobre – 15 g; Ferro – 25 g.

Aos 35 dias de idade (14 dias pós-desmame), seis animais de cada tratamento com peso vivo mais próximo à média de suas respectivas repetições, foram selecionados e abatidos mediante insensibilização elétrica seguida de sangramento. Nesses animais foram coletadas as amostras para as avaliações da digestibilidade das dietas e dos pesos dos órgãos do trato digestório. Do total das sete repetições por tratamento, a que continha os animais mais leves foram excluídos dessa avaliação, totalizando assim, seis repetições por tratamento.

2.2 Avaliação biológica das dietas experimentais.

A determinação dos coeficientes de digestibilidade ileal aparente e dos coeficientes de digestibilidade total aparente dos nutrientes e da energia das dietas foi realizada pelo método de coleta parcial das fezes. Para tanto foi adicionado à ração 0,45% de óxido de cromo-3 (Cr_2O_3) como indicador inerte. Imediatamente após o abate, o trato digestório foi removido da cavidade abdominal e amostras do conteúdo do íleo e de fezes do reto dos animais foram colhidas, segundo Manzanilla et al. (2004). As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificados, sendo, em seguida, armazenados em freezer a -8°C , até o momento das análises. As amostras de fezes coletadas do reto foram descongeladas, homogeneizadas e submetidas à pré-secagem em estufa com ventilação forçada a 55°C por um período de 72 horas. As amostras do conteúdo ileal foram secas por liofilização. As amostras das dietas, dos ingredientes, do conteúdo do íleo e das fezes do reto, posteriormente à secagem, foram moídas em moinho tipo “bola”.

Após a moagem, as amostras foram submetidas às análises de matéria seca, matéria mineral e proteína bruta. Nas amostras das rações e fezes foram realizadas análises de energia bruta utilizando-se bomba calorimétrica automática marca IKA Works modelo C-5000. Foram determinados, também, os teores de aminoácidos nas dietas e amostras do íleo por meio de hidrólise ácida, adaptado de White et al. (1986). Nas rações e ingredientes foram determinados, ainda, os teores de fibra em detergente ácido e fibra em detergente neutro, bem como os teores de rafinose e estaquiose. As determinações de rafinose e estaquiose foram realizadas por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Neste procedimento foi

utilizado cromatógrafo Shimadzu, série 10A, equipado com coluna analítica contendo uma mistura de acetonitrila e água na proporção de 80:20 a 35°C, de acordo com Guimarães et al. (2001). As amostras das dietas, do íleo e fezes foram submetidas à digestão nitro-perclórica adaptado de Furukawa, (1966). No extrato digerido dessas amostras foi realizada leitura em espectrofotômetro de absorção atômica com chama de ar-acetileno-óxido nitroso determinando-se o teor de Cr_2O_3 . Nos extratos digeridos das amostras das dietas e fezes foram realizadas leituras em espectrofotômetro de absorção atômica com chama de ar-acetileno, determinando-se os teores de cálcio, magnésio, ferro, zinco e cobre. As análises de matéria seca, matéria mineral, proteína bruta, fibra em detergente ácido e fibra em detergente neutro foram realizadas de acordo com Silva e Queiroz, (2002). A partir dos valores determinados por estas análises foram calculados os CDIA e CDTA dos nutrientes e da energia, utilizando-se as fórmulas descritas por Adeola, (2001).

2.3 Pesos dos órgãos do trato digestório

Foram tomados os pesos do intestino delgado, ceco e cólon vazios, determinando-se os pesos absolutos e relativos desses órgãos, em função das diferentes dietas experimentais. O peso relativo foi calculado dividindo-se o peso absoluto do órgão vazio pelo peso da carcaça do animal, após a remoção das vísceras, cerdas e unhas.

2.4 Tempo de trânsito gastrintestinal (TTGI)

Aos 42 dias de idade, foi determinado o TTGI. Aos animais de cada baia, foi fornecido três kg de ração contendo 0,5% de óxido férrico como marcador. Foi realizado jejum prévio de 5 horas nos animais, de forma a garantir que todos ingerissem uma quantidade razoável da ração contendo óxido férrico no mesmo momento. Calculou-se o TTGI, pelo tempo gasto, em horas, entre a ingestão da ração contendo óxido férrico e o aparecimento das primeiras fezes com a cor característica do marcador em cada baia.

2.5 Forma de análise dos resultados

Os dados foram analisados utilizando-se o delineamento em blocos casualizados, sendo os dados submetidos à análise de variância por meio do procedimento Proc Mixed no programa estatístico SAS, 2009. Os dados foram submetidos aos testes de Normalidade dos erros, Homocedasticidade, bem como, identificados e excluídos das análises os valores outliers e influentes. Os graus de liberdade do fator nível foram decompostos e contrastes polinomiais foram utilizados para determinar os efeitos da inclusão de rafinose purificada. As diferenças entre cada nível de rafinose adicionado às dietas e a dieta MFS foram analisadas por meio do teste de Dunnett. Os valores de probabilidade menores que 5% foram considerados significativos.

3. Resultados

À medida que aumentaram os teores de rafinose nas dietas, houve reduções lineares ($P < 0,05$) dos CDTA da matéria seca ($y = -1,8327x + 87,703$, $R^2 = 0,23$), matéria orgânica ($y = -2,4528x + 91,437$, $R^2 = 0,36$), proteína bruta ($y = -7,0335x + 82,729$, $R^2 = 0,38$) e energia bruta ($y = -3,1048x + 88,533$, $R^2 = 0,35$) conforme apresentado na Tabela 4. Os CDTA do cálcio, magnésio, ferro, zinco e cobre não foram influenciados ($P > 0,05$) pelos diferentes teores de rafinose. Os CDTA da matéria seca, matéria orgânica e energia bruta da dieta MFS foram menores ($P < 0,05$) em relação às dietas com 0 e 0,75% de rafinose e o CDTA da proteína bruta foi menor ($P < 0,05$) em relação à dieta com 0% de rafinose. Os CDTA do magnésio, ferro e zinco não diferiram entre as dietas MFS e as demais dietas. No entanto o CDTA do cálcio foi menor na dieta MFS ($P < 0,05$) em relação às dietas contendo 0, 0,75 e 1,50% de rafinose e o CDTA do cobre foi menor ($P < 0,05$) na dieta contendo 0,75% de rafinose em relação à dieta MFS.

Tabela 4 – Coeficientes de digestibilidade total aparente (CDTA) dos nutrientes e da energia.

Coeficientes de Digestibilidade, %	Rafinose, %				MFS	CV,% ^a	Contraste ^b	
	0	0,75	1,50	2,25			P	Efeito
Matéria seca	87,66*	86,27*	85,18	83,45	80,92	4,41	0,005	linear
Matéria orgânica	92,25*	88,88*	86,74	86,83	82,37	4,89	0,014	linear
Proteína bruta	84,87*	74,82	73,01	70,84	74,18	12,19	0,013	linear
Energia bruta	88,87*	85,81*	83,65	81,86	79,01	5,86	0,009	linear
Minerais								
Cálcio	89,83*	89,21*	91,37*	80,23	81,97	8,79	-	ns
Magnésio	69,10	58,78	58,49	51,09	49,48	12,81	-	ns
Ferro	66,79	60,79	68,74	55,72	49,70	19,67	-	ns
Zinco	70,48	67,98	52,35	51,97	49,90	24,15	-	ns
Cobre	56,17	45,35*	66,38	62,68	65,60	25,88	-	ns

^a Coeficiente de variação;^b Contrastes polinomiais para os níveis de rafinose;

* Indica diferença (P<0,05, Dunnett) entre cada nível de rafinose e a dieta MFS.

A inclusão de rafinose purificada às dietas não influenciou (P>0,05) os CDIA da matéria seca, da matéria orgânica e proteína bruta (Tabela 5). Da mesma forma, essas variáveis não foram diferentes (P>0,05) entre a dieta MFS e as demais dietas. Tanto as dietas com inclusão da rafinose purificada, quanto a dieta MFS não tiveram efeito (P>0,05) sobre os CDIA da histidina, isoleucina, metionina, treonina, valina e alanina. Porém, houve reduções lineares dos CDIA da cistina ($y = -4,147x + 75,47$; $R^2 = 0,22$), fenilalanina ($y = -2,1066x + 81,821$; $R^2 = 0,19$), leucina ($y = -2,7324x + 77,938$; $R^2 = 0,15$), ácido aspártico ($y = -3,0531x + 79,47$; $R^2 = 0,28$), glicina ($y = -6,2857x + 66,98$; $R^2 = 0,35$), ácido glutâmico ($y = -2,7889x + 82,494$; $R^2 = 0,20$), serina ($y = -3,0683x + 80,846$; $R^2 = 0,26$) e prolina ($y = -7,4767x + 71,772$; $R^2 = 0,24$), à medida que adicionou-se rafinose às dietas. Já o efeito observado para o CDIA da lisina foi quadrático ($y = -1,3987x^2 + 2,2252x + 90,546$; $R^2 = 0,37$), sendo estimado o maior CDIA da lisina para a inclusão de 0,79% de rafinose. Os CDIA da arginina e da lisina foram maiores (P<0,05) para as dietas com inclusão de 1,50% de rafinose, em relação à dieta MFS. Já o CDIA do triptofano foi menor (P<0,05) para a dieta MFS em relação a todos os teores de rafinose adicionados às dietas. Os CDIA da cistina e da tirosina foram maiores (P<0,05) para a dieta MFS em relação às dietas com inclusão de 2,25% de rafinose.

Tabela 5 – Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (CDIA) dos nutrientes.

Coeficientes de Digestibilidade, %	Rafinose, %				MFS	CV,% ^a	Contraste ^b	
	0	0,75	1,50	2,25			P	Efeito
Matéria seca	60,43	65,21	59,63	58,35	60,86	14,21	-	ns
Matéria orgânica	63,74	67,10	60,60	59,05	61,57	14,47	-	ns
Proteína Bruta	67,56	67,53	62,39	63,81	64,30	12,45	-	ns
<i>Aminoácidos essenciais</i>								
Arginina	85,61	85,44	88,95*	82,26	81,43	6,04	-	ns
Cistina	73,92	73,06	72,51	66,73*	71,45	9,63	0,016	linear
Fenilalanina	80,40	81,31	80,77	77,32	79,05	4,89	0,018	linear
Histidina	82,21	82,09	84,11	79,32	80,05	7,17	-	ns
Isoleucina	78,08	78,52	78,97	76,61	76,12	4,74	-	ns
Leucina	76,40	77,06	76,11	71,89	74,42	7,62	0,047	linear
Lisina	89,80	90,68	91,48*	90,79	89,20	2,18	0,016	quadrático
Metionina	81,68	81,97	81,77	79,64	80,56	4,91	-	ns
Tirosina	78,85	76,60	79,12	74,03*	79,39	5,84	-	ns
Treonina	78,12	78,13	80,00	76,11	75,92	7,42	-	ns
Triptofano	84,86*	83,08*	82,61*	82,94*	78,09	3,94	-	ns
Valina	76,52	76,52	77,08	74,23	75,03	4,86	-	ns
Total	80,47	80,21	80,93	77,21	78,71	4,51	-	ns
<i>Aminoácidos não essenciais</i>								
Alanina	67,88	68,29	70,02	63,10	63,56	11,75	ns	-
Ácido aspártico	78,53	77,38	77,30	72,92	74,57	06,91	0,015	linear
Glicina	66,43	63,68	61,34	55,16	58,24	15,83	0,007	linear
Ácido glutâmico	80,84	80,26	79,23	74,79	75,71	6,95	0,035	linear
Serina	79,92	78,37	78,15	73,92	75,18	8,10	0,042	linear
Prolina	68,41	66,99	66,97	59,06	63,64	13,57	0,008	linear

^a Coeficiente de variação;^b Contrastes polinomiais para os níveis de rafinose;

* Indica diferença (P<0,05, Dunnett) entre cada nível de rafinose e a dieta MFS.

O TTGI diminuiu de forma linear ($y = -0,553x + 9,007$; $R^2 = 0,37$) à medida em que foi adicionada rafinose purificada às dietas (Figura 1). A dieta MFS não diferiu ($P > 0,05$) das demais com relação a esse parâmetro.

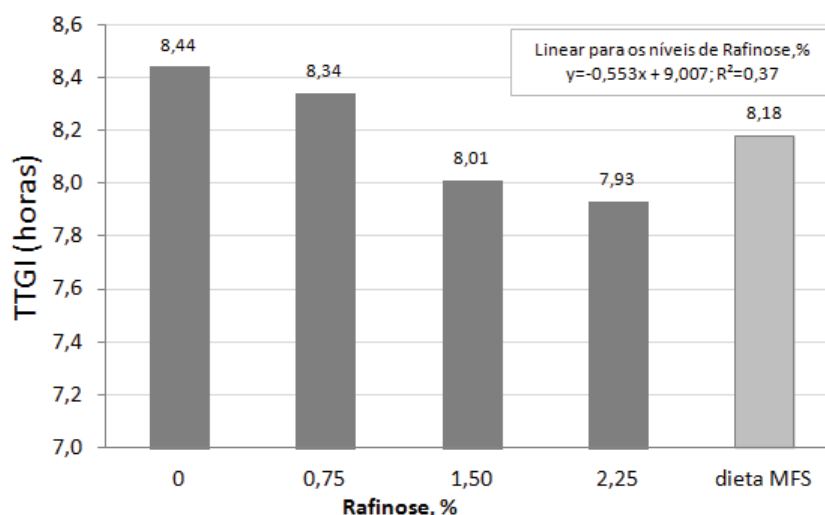


Figura 1 – Tempo de trânsito gastrointestinal (TTGI) em horas, de acordo com as dietas experimentais.

Os pesos absolutos e relativos do intestino delgado, cólon e peso total do trato digestório não foram influenciados ($P > 0,05$) pelas dietas com inclusão de rafinose purificada (Tabela 6). No entanto, houve efeitos quadráticos para os pesos absoluto ($y = -0,003x^2 + 0,005x + 0,020$; $R^2 = 0,24$) e relativo ($y = -0,335x^2 + 0,514x + 3,125$; $R^2 = 0,26$) do ceco dos animais alimentados com as dietas contendo rafinose.

Tabela 6 – Pesos absolutos e relativos do intestino delgado, ceco, cólon e peso total do trato digestório de leitões aos 35 dias de idade.

do trato digestivo de leitões aos 55 dias de idade.								
	Rafinose, %				MFS	CV ^a	Contraste ^b	
	0	0,75	1,50	2,25			P	Efeito
<i>Pesos absolutos, g</i>								
Intestino delgado	470,8	482,5	467,5	470,0	513,3	16,93	ns	-
Ceco	19,1	23,3	19,2	17,5	20,8	17,37	0,028	quadrático
Cólon	142,5	154,2	152,5	131,3	156,7	19,60	ns	-
Total ^c	632,5	660,0	639,2	618,8	690,8	15,71	ns	-
<i>Pesos relativos, g/kg^d</i>								
Intestino delgado	22,9	24,2	22,6	19,8	23,9	12,63	ns	-
Ceco	3,0	3,6	2,9	2,7	3,1	17,45	0,044	quadrático
Cólon	22,9	24,2	22,7	19,8	23,9	21,55	ns	-
Total ^c	100,5	102,6	94,7	96,2	104,8	14,08	ns	-

^a Coeficiente de variação;

^b Contrastes polinomiais para os níveis de rafinose;

^c Somatório do peso do intestino delgado, ceco e cólon;

^d Peso do órgão dividido pelo peso da carcaça quente.

Os maiores ($P < 0,05$) pesos absolutos e relativos do ceco foram estimados para os teores de 0,88 e 0,76% de rafinose, respectivamente. A dieta MFS não diferiu ($P > 0,05$) daquelas com rafinose purificada no que se refere aos pesos absolutos e relativos dos órgãos do trato digestório dos leitões.

4. Discussão

A adição de rafinose purificada às dietas causou redução linear significativa nos CDTA da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e energia bruta. A diferença entre os CDTA da dieta sem inclusão de rafinose e aquela com 2,25% desse carboidrato, foi de 4,21% para a matéria seca, 5,42% para a matéria orgânica e 7,01% para energia bruta. No entanto, o CDTA da proteína bruta foi o que teve a maior redução (16,03%). Os efeitos negativos dos Gos sobre a digestibilidade também foram verificados por Parsons et al. (2000) e Smiricky-Tjardes et al. (2003). Smiricky-Tjardes et al. (2003) indicam que reduções substanciais na digestibilidade da proteína bruta podem ser devido à assimilação dos aminoácidos pela massa microbiana que aumenta quando os Gos, como a rafinose, são adicionados às dietas de suínos. Essa afirmação está de acordo com os achados de Zhang et al. (2001), que observaram aumento da excreção diária de nitrogênio da ordem de 28 e 32% após a adição de 1 ou 2% de estaquiose em dietas de leitões, respectivamente. No entanto, esses autores não verificaram influência da adição de estaquiose sobre a digestibilidade total da matéria seca e da energia. Outro fator importante que pode explicar a redução da digestibilidade causada pelos Gos, foi apontado por Veldman et al. (1993) e Zdunczyk et al. (1999). Esses autores indicaram que a capacidade dos Gos em aumentar a osmolaridade da digesta, causa diluição das enzimas, além de aumentar a velocidade de passagem do alimento pelo trato digestório. Coon et al. (1990) verificaram 20% de redução na energia metabolizável de dietas contendo 5,3% de Gos em relação a outra com 1% e justificaram o resultado pela propriedade laxativa dos Gos. Já Smits e Annison, (1996) apontaram o aumento da viscosidade da digesta, e conseqüentemente, a menor interação das enzimas digestivas com o

substrato, provocada pelos Gos, como fator responsável pela diminuição das digestibilidades dos nutrientes e da energia.

Foi observado que os CDTA da matéria seca, matéria orgânica, proteína e energia, foram maiores para as dietas contendo 0 ou 0,75% de rafinose em relação à dieta MFS, que continha 1,55% de Gos. Porém, os CDTA não diferiam entre as dietas contendo 1,50 ou 2,25% de rafinose e a dieta MSF. Dessa forma, notou-se que, embora os Gos utilizados tivessem diferentes origens (rafinose purificada ou farelo de soja e milho), ambos refletiram em queda dos CDTA.

De forma geral, observou-se reduções dos CDIA da matéria seca, matéria orgânica e proteína à medida em que adicionou-se rafinose às dietas, porém não estatisticamente significativas. Os resultados desse estudo estão de acordo com os verificados por Pan et al. (2002). Esses autores observaram reduções nos CDIA da proteína e da energia de dietas para leitões quando o teor de Gos total (rafinose + estaquiose) passou de 1,59% para 2,52%. A variabilidade mais alta dos dados da avaliação da digestibilidade ileal pode ser resultado do método empregado na coleta das amostras. No método do sacrifício, é coletada uma amostra pontual da digesta, ao contrário do método com a utilização de cânulas, no qual várias coletas são realizadas, aumentando, assim, a chance de serem detectadas diferenças estatísticas.

Nesse estudo, grande parte dos CDIA dos aminoácidos, especialmente os não essenciais, tiveram reduções lineares, à medida em que rafinose foi adicionada às dietas. Resultados semelhantes foram observados por Smiricky et al. (2002) que verificaram reduções dos CDIA dos aminoácidos para suínos alimentados com uma dieta contendo 2,26% de Gos em comparação à outra com 1,03%. No entanto, Zhang et al. (2001), não observaram reduções dos CDIA dos aminoácidos com a adição de 1 ou 2% de estaquiose às dietas de leitões. Gabert et al. (1995) também não verificaram diferenças nos CDIA dos aminoácidos em dietas de leitões com a adição de 0,50% de Gos.

De acordo com Scholz-Ahrens et al. (2001), a redução do pH intestinal causada pela degradação dos Gos, pode aumentar a solubilidade dos minerais, e consequentemente sua digestibilidade. No entanto, não foi observado efeito das

dietas sobre essa variável. Houdijk et al. (1999) também não verificaram diferenças na digestibilidade dos minerais com a adição de oligossacarídeos nas dietas de leitões. Segundo esses autores, fatores como a variabilidade nas análises de minerais, bem como a adição desses componentes em teores acima da exigência dos animais, podem dificultar o aparecimento de diferenças entre os tratamentos quando a absorção de minerais é avaliada. Tais problemas metodológicos parecem ter influenciado os resultados observados no presente estudo, visto as baixas digestibilidades para o magnésio e cobre, bem como os altos coeficientes de variação observados.

O tempo de trânsito gastrointestinal foi menor à medida em que adicionou-se rafinose às dietas. Isso ocorreu devido à propriedade dos galacto-oligossacarídeos em aumentar a osmolaridade no interior do intestino e, conseqüentemente, aumentar a taxa de passagem dos alimentos pelo trato digestório (Veldman et al., 1993). Os resultados do presente estudo estão de acordo com os verificados por Coon et al. (1990) e Zhang et al. (2001).

No ceco dos suínos ocorre boa parte da fermentação dos carboidratos, especialmente os solúveis, como os Gos. Os produtos finais dessa fermentação são alguns gases, ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) e ácido láctico, o que pode causar aumento do peso desse órgão. Nesse estudo, estimou-se maiores pesos absoluto e relativo do ceco para os níveis de 0,88 e 0,76% de rafinose, respectivamente. O fato de não ter havido aumento linear do peso do ceco com o aumento da inclusão de rafinose, possivelmente pode ter ocorrido em função dos Gos causarem aumento da velocidade de passagem da digesta pelo trato digestório (Zhang et al., 2001). Com isso, a fermentação desses compostos, no ceco dos animais que receberam as dietas com os maiores níveis de rafinose, pode ter sido comprometida. Para reforçar esse raciocínio, Pan et al. (2002), verificaram menor digestibilidade ileal dos Gos em leitões que receberam a dieta com maior teor desses carboidratos (2,52 vs 1,59%), possivelmente pelo aumento da velocidade de passagem da digesta pelo trato digestório.

5. Conclusão

A rafinose diminui os coeficientes de digestibilidade total dos nutrientes e da energia, sobretudo da proteína. As diminuições dos coeficientes de digestibilidade, bem como os efeitos sobre os pesos do ceco são estreitamente correlacionados com a diminuição do tempo de trânsito gastrointestinal e consequentemente aumento da velocidade de passagem do alimento pelo trato digestório que a rafinose provoca. Independentemente do teor dos Gos nas dietas, tanto fontes purificadas, quanto oriundas do farelo de soja e milho, provocam reduções do aproveitamento dos nutrientes e da energia.

6. Referências bibliográficas

Adeola, O., 2001. Digestion and balance techniques in pigs. Swine Nutrition. 2nd ed. AJ Lewis and LL Southern, ed. CRC Press, Boca Raton, FL, 903-916.

Coon, C.N., Leske, K., Akavanichan, O., Cheng, T., 1990a. Effect of oligosaccharide-free soybean meal on true metabolizable energy and fiber digestion in adult roosters. Poultry Science 69, 787-793.

Furukawa, A., 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. Nippon Suisan Gakkaishi 32, 502-506.

Gabert, V.M., Sauer, W., Mosenthin, R., Schmitz, M., Ahrens, F., 1995. The effect of oligosaccharides and lactitol on the ileal digestibilities of amino acids, monosaccharides and bacterial populations and metabolites in the small intestine of weanling pigs. Canadian Journal of Animal Science 75, 99-107.

Grieshop, C.M., Kadzere, C.T., Clapper, G.M., Flickinger, E.A., Bauer, L.L., Frazier, R.L., Fahey, G.C., 2003. Chemical and nutritional characteristics of United States soybeans and soybean meals. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51, 7684-7691.

Guimarães, V.M., de Rezende, S.T., Moreira, M.A., de Barros, E.G., Felix, C.R., 2001. Characterization of α -galactosidases from germinating soybean seed and their use for hydrolysis of oligosaccharides. *Phytochemistry* 58, 67-73.

Houdijk, J.G., Bosch, M.W., Tamminga, S., Verstegen, M.W., Berenpas, E.B., Knoop, H., 1999. Apparent ileal and total-tract nutrient digestion by pigs as affected by dietary nondigestible oligosaccharides. *Journal of Animal Science* 77, 148-158.

Manzanilla, E.G., Perez, J.F., Martin, M., Kamel, C., Baucells, F., Gasa, J., 2004. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *Journal of Animal Science* 82, 3210-3218.

Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., Vidal-Valverde, C., 2008. Alpha-Galactosides: Antinutritional Factors or Functional Ingredients? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48, 301-316.

Mussatto, S.I., Mancilha, I.M., 2007. Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers* 68, 587-597.

Pan, B., Li, D., Piao, X., Zhang, L., Guo, L., 2002. Effect of Dietary Supplementation With α -Galactosidase Preparation and Stachyose on Growth Performance, Nutrient Digestibility and Intestinal Bacterial Populations of Piglets. *Archiv für Tierernaehrung* 56, 327-337.

Parsons, C., Zhang, Y., Araba, M., 2000. Nutritional evaluation of soybean meals varying in oligosaccharide content. *Poultry Science* 79, 1127-1131.

Rostagno, H., Albino, L., Donzele, J., Gomes, P., OLIVEIRA, R.d., Lopes, D., PEREIRA, A., BARRETO, S.d., 2005. Tabelas brasileiras para suínos e aves: composição de alimentos e exigências nutricionais. Tabelas brasileiras para suínos e aves: composição de alimentos e exigências nutricionais.

Scholz-Ahrens, K.E., Schaafsma, G., van den Heuvel, E.G., Schrezenmeir, J., 2001. Effects of prebiotics on mineral metabolism. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73, 459s-464s.

Silva, D.J., de Queiroz, A.C., 2002. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos.

Smiricky, M., Grieshop, C., Albin, D., Wubben, J., Gabert, V., Fahey, G., 2002. The influence of soy oligosaccharides on apparent and true ileal amino acid digestibilities and fecal consistency in growing pigs. *Journal of Animal Science* 80, 2433-2441.

Smiricky-Tjardes, M.R., Grieshop, C.M., Flickinger, E.A., Bauer, L.L., Fahey, G.C., 2003. Dietary galactooligosaccharides affect ileal and total-tract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentative characteristics of growing pigs. *Journal of Animal Science* 81, 2535-2545.

Smits, C.H., Annison, G., 1996. Non-starch plant polysaccharides in broiler nutrition-towards a physiologically valid approach to their determination. *World's Poultry Science Journal* 52, 203-222.

Swennen, K., Courtin, C.M., Delcour, J.A., 2006. Non-digestible Oligosaccharides with Prebiotic Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46, 459-471.

Veldman, A., Veen, W.A.G., Barug, D., Van Paridon, P.A., 1993. Effect of α -galactosides and α -galactosidase in feed on ileal piglet digestive physiology. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 69, 57-65.

White, J., Hart, R., Fry, J., 1986. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* 8, 170-177.

Zdunczyk, Z., Juskiewicz, J., Frejnagel, S., Wroblewska, M., Krefft, B., Gulewicz, K., 1999. Influence of oligosaccharides from lupin seeds and fructooligosaccharides on utilisation of protein by rats and absorption of nutrients in the small intestine, *Proceedings of the 9th International Lupin Conference*, Klink Müriz, Germany.

Zhang, L., Li, D., Qiao, S., Wang, J., Bai, L., Wang, Z., Han, I.K., 2001. The effect of soybean galactooligosaccharides on nutrient and energy digestibility and digesta transit time in weanling piglets. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 14, 1598-1604.

Zuo, Y., Fahey, G., Merchen, N., Bajjalieh, N., 1996. Digestion responses to low oligosaccharide soybean meal by ileally-cannulated dogs. *Journal of Animal Science* 74, 2441-2449.

CAPÍTULO 3 – Efeito da rafinose sobre o desempenho, a incidência de diarreia, a morfologia e a microbiologia intestinal de leitões recém-desmamados

Resumo - O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da rafinose, um galacto-oligossacarídeo (Gos), na alimentação de leitões. Foram utilizados 105 leitões recém-desmamados, com peso inicial de $6,703 \pm 0,761$ kg dos 21 aos 63 dias de idade, distribuídos em cinco tratamentos com sete repetições e três animais por unidade experimental. Foi elaborada uma dieta contendo baixos teores de Gos e a ela adicionado rafinose purificada (0, 0,75 1,50 e 2,25%). A quinta dieta foi formulada com milho e farelo de soja (MFS), contendo teores de Gos usualmente encontrados em dietas de leitões. O desempenho foi avaliado dos 21 aos 63 dias de idade e a incidência de diarreia dos 25 aos 46 dias de idade. Aos 35 dias de idade, seis animais por tratamento foram abatidos para as avaliações da morfologia intestinal, do pH e da microbiologia dos conteúdos do jejuno e ceco. Houve efeito quadrático no consumo de ração e do peso final, além de melhora linear na conversão alimentar com o aumento dos níveis de rafinose dos leitões dos 21 aos 49 dias de idade. Houve aumento linear no consumo de ração com o acréscimo dos teores de rafinose dos 21 aos 63 dias de idade. As dietas não influenciaram a incidência de diarreia. Houve efeito quadrático do número de células caliciformes (Alcean Blue) e aumento linear da altura dos vilos com o aumento dos níveis de rafinose. Estimou-se menor número de *E. coli* no intestino delgado e ceco para os teores de 1,23 e 1,40% de rafinose, respectivamente. Os animais alimentados com a dieta MFS tiveram menor número de *E. coli* no jejuno e maior número de bactérias lácticas no ceco em relação aos alimentados com as dietas contendo 0 e 2,25% de rafinose. Conclui-se que a rafinose melhora o desempenho, não causa diarreia em leitões recém-desmamados e ainda diminui o número de *E. Coli* no conteúdo intestinal.

Palavras chave: carboidratos, estaquiase, galacto-oligossacarídeos, saúde intestinal

CHARPTER 3 – Effects of raffinose on performance, diarrhea incidence, gut morphology and microbiology of weaned piglets

Abstract - The aim of this study was evaluate the effects of raffinose, a galacto-oligosaccharides (Gos), on weaned piglets feeding. It were used 105 newly weaned piglets, from 21 to 63 days old and with 6.703 ± 0.761 kg of body weight. The animals were distributed into a complete randomized block design with five treatments, seven replication and three animals per pen. It was elaborated a diet containing low Gos levels added to this diet purified raffinose (0, 0.75, 1.50 and 2.25%). The fifth diet was formulated with corn and soybean meal (CSBM) containing Gos levels usually found in piglets diets. The performance was evaluated from 21 to 63 days old and the diarrhea incidence from 25 to 46 days old. At 35 days old, six animals per treatment were slaughtered to evaluate the gut morphology and the pH and microbiology in the contents of jejunum and caecum. The feed intake and final weight, from 21 to 49 days old had a quadratic effect and feed conversion ratio was linearly reduced when levels of raffinose increased. There was a linearly increase on feed intake with the increase of raffinose levels in the diets in the total trial period. The diets did not affect the incidence of diarrhea. There was quadratic effect on goblet cells (Alcean Blue) and increase linearly in villi heights with the increase levels of raffinose. It was estimated the lower number of *E. coli* population in the jejunum and caecum contents to levels of 1.23 and 1.40% of raffinose, respectively. The animals fed with CSBM diet had fewer number of *E. coli* in jejunum content and more lactic acid bacteria in caecum content compared those fed with the diets containing 0 and 2.25% of raffinose. In conclusion, the raffinose improves the performance, does not causes diarrhea in piglets and decrease the *E. coli* populations in intestinal content.

Key-words: carbohydrates, estachyose, galacto-oligosaccharides, intestinal health

1. Introdução

Os galacto-oligossacarídeos (Gos) são carboidratos de reserva das plantas, sendo representados pela rafinose, estaquiose e verbascose. São formados por ligações α -(1,6) e, por essa razão, não são digeridos por enzimas secretadas pelos monogástricos (Rodrigues Brasil et al., 2010). Por outro lado, são solúveis e altamente fermentáveis no trato digestório de suínos (Karr-Lilienthal et al., 2005). Em dietas para leitões são encontrados teores de Gos que variam de 1 a 2%, sendo o farelo de soja a principal fonte desses componentes (Choct et al., 2010).

Tradicionalmente, aos Gos são atribuídos efeitos como queda no desempenho e digestibilidade, desordem intestinal como diarreia e flatulência (Pan et al., 2002; Fledderus, 2005). Por essa razão a utilização da enzima α -galactosidase, capaz de clivar as ligações α -(1,6) dos Gos, a utilização de concentrado proteico de soja em substituição ao farelo de soja, e até mesmo a produção de cultivares de soja com baixos teores de Gos, vem aumentando, para serem utilizados nas alimentações humana e animal (Choct et al., 2010; Clarke e Wiseman, 2000; Dersjant-Li e Peisker, 2010; Pan et al., 2002;). No entanto, alguns trabalhos mostraram que os Gos possuem propriedades prebióticas, uma vez que, estimulam o desenvolvimento de microrganismos benéficos no trato digestório dos suínos e não causam diarreia em leitões (Liyang et al., 2003; Smiricky-Tjardes et al., 2003). Além disso, nos trabalhos de Mathew et al. (1993) e Perryman et al. (2013) não observou-se que os Gos prejudicaram o desempenho de leitões e frangos, respectivamente. Adicionalmente, são facilmente encontrados na literatura, trabalhos avaliando os efeitos somente da estaquiose ou dos Gos (rafinose, estaquiose e verbascose) em conjunto, sendo que não existem até o momento, trabalhos avaliando a rafinose isoladamente. Torna-se importante esta avaliação, tendo em vista que, em dietas formuladas com milho e farelo de soja para leitões, esse componente, corresponde, em média, a 40% dos teores totais dos Gos.

Desta forma, o objetivo foi avaliar os efeitos da rafinose na alimentação de leitões recém-desmamados. Ainda, comparou-se diferentes níveis de inclusão de rafinose purificada com uma dieta formulada com milho e farelo de soja. Avaliou-se o desempenho, a incidência de diarreia, a morfologia e a microbiologia intestinal.

2. Material e Métodos

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Câmpus de Jaboticabal/SP (Protocolo número 019670/10).

2.1 Animais, dietas e delineamento experimental

Foram utilizados 105 leitões recém-desmamados, machos castrados, dos 21 aos 63 dias de idade e com peso inicial de $6,703 \pm 0,761$ kg. Os animais foram alojados em baias de $2,55\text{m}^2$ cada, equipadas com comedouros semi-automáticos e bebedouros do tipo chupeta, tendo água e ração à vontade. O controle da temperatura das baias foi realizado mediante a utilização de cortinas e campânulas dotadas de lâmpadas incandescentes, sendo registradas, no interior do galpão, temperaturas médias mínimas de $23,73^\circ\text{C} \pm 1,15$ e máximas de $29,12^\circ\text{C} \pm 1,34$. Os animais foram distribuídos no delineamento em blocos casualizados, para controlar diferenças no peso inicial, com cinco tratamentos e sete repetições, sendo a unidade experimental constituída por três animais.

Os animais receberam dietas de modo a atender suas exigências nutricionais na fase I (dos 21 aos 35 de idade), na fase II (dos 36 aos 49 dias de idade) e na fase III (dos 50 aos 63 dias de idade), de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2005).

As composições químicas dos principais ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais são apresentadas na Tabela 1. Foram elaboradas duas dietas, sendo uma, contendo baixos teores Gos, composta principalmente por milho degerminado e concentrado proteico de soja e outra dieta composta principalmente por milho comum e farelo de soja (dieta MFS), contendo os teores de Gos normalmente encontrados em dietas para leitões. Os cinco tratamentos foram a dieta com baixos teores de Gos sendo a ela adicionados 0, 0,75, 1,50 e 2,25% de rafinose purificada e dieta a MFS (Tabelas 2, 3 e 4). Na dieta com baixos teores de Gos, os teores basais de rafinose e estaquiose somados foram 0,40, 0,51 e 0,61% nas fases I, II e III, respectivamente, enquanto que na dieta MFS os valores totais de rafinose e estaquiose somados foram de 1,55, 2,03 e 2,01%

nas fases I, II e III, respectivamente. A dieta com baixos teores de Gos foi formulada adicionando-se 2,25% de caulim (inerte), o qual foi, posteriormente, substituído por rafinose nas proporções de acordo com os tratamentos. A rafinose utilizada foi a penta-hidratada® (R0250, pureza $\geq 98\%$, Sigma). Nesse trabalho serão considerados somente os teores de rafinose e estaquiose, pois os níveis de verbascose encontrados nos cereais são muito baixos e de difícil detecção, conforme já descrito por Grieshop et al. (2003) e Martínez-Villaluenga et al. (2008). Animais monogástricos não secretam enzimas capazes de digerir a rafinose, deste modo, sua contribuição com nutrientes e energia foi considerada nula. As dietas continham os mesmos teores de energia, proteína e aminoácidos digestíveis, não sendo adicionados antibióticos ou promotores de crescimento. Durante o período experimental, os animais receberam dietas de modo a atender suas exigências nutricionais dos 21 aos 35, dos 36 aos 49 e dos 50 aos 63 dias de idade, de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2005). Não foi realizada adaptação prévia dos animais às dietas experimentais.

Tabela 1. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais.

Nutrientes ¹ , %	Milho comum	Milho degerminado	Farelo de soja	Concentrado proteico de soja	Farelo de Trigo
Matéria seca	87,01	88,30	89,60	90,44	88,38
Matéria orgânica	85,52	87,70	83,86	83,99	84,41
Proteína bruta	8,50	6,77	47,34	61,94	16,28
Fibra em detergente ácido	4,71	2,67	8,32	7,75	9,31
Fibra em detergente neutro	14,37	7,32	12,50	13,19	36,98
Galacto-oligossacarídeos					
Rafinose	0,41	0,06	2,50	0,44	1,57
Estaquiose	-	-	4,00	1,68	-

¹ Valores com base na matéria natural e determinados por meio de análises laboratoriais.

2.2 Desempenho e incidência de diarreia

Para avaliação do desempenho, os animais e a ração fornecida foram pesados ao início e aos 35, 49 e 63 dias de idade. Determinou-se o consumo diário de ração, o ganho diário de peso, e a conversão alimentar dos 21 aos 35, dos 21 aos 49 e dos 21 aos 63 dias de idade.

Tabela 2 – Ingredientes, composições química e centesimal das dietas para leitões dos 21 aos 35 dias de idade.

Ingredientes, %	Rafinose, %				MFS
	0	0,75	1,50	2,25	
Milho Comum	-	-	-	-	52,25
Milho Degerminado	54,64	54,64	54,64	54,64	-
Farelo de soja	-	-	-	-	20,50
Concentrado proteico de soja	16,97	16,97	16,97	16,97	-
Produto lácteo ¹	17,50	17,50	17,50	17,50	17,50
Plasma Sanguíneo	4,20	4,20	4,20	4,20	4,20
Fosfato bicálcico	2,53	2,53	2,53	2,53	2,32
Calcário	0,25	0,25	0,25	0,25	0,31
Sal	0,05	0,05	0,05	0,05	0,03
Rafinose purificada	0,00	0,75	1,50	2,25	0,00
Inerte (caulim)	2,25	1,50	0,75	0,00	0,00
Premix Mineral ²	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix vitamínico ³	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Óleo de soja	0,17	0,17	0,17	0,17	1,37
L-Lisina.HCl, 78%	0,47	0,47	0,47	0,47	0,55
L-Treonina, 98%	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
DL-Metionina, 99%	0,13	0,13	0,13	0,13	0,14
L-Triptofano, 98%	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05
Antioxidante BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados					
Energia metabolizável, kcal/kg	3400	3400	3400	3400	3400
Proteína bruta, %	20,10	19,93	20,50	20,04	20,28
Cálcio, %	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85
Fósforo disponível, %	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Fibra em detergente ácido, %	2,77	2,84	2,83	2,76	4,16
Fibra em detergente neutro, %	6,23	6,15	6,26	6,05	10,06
Lisina digestível, %	1,45	1,45	1,45	1,45	1,45
Metionina digestível, %	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Treonina digestível, %	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91
Triptofano digestível, %	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26
Galacto-oligosacarídeos, %					
Rafinose	0,11	0,86	1,61	2,36	0,73
Estaquiase	0,29	0,29	0,29	0,29	0,82

¹ Nuklospray® K21. Níveis de garantia por kg do produto: Proteína Bruta – 110 g; Extrato etéreo – 50; Cinzas – 87 g; Fibra bruta – 1 g; Umidade – 35 g; Lactose 700 g; Açúcar 735 g; Energia metabolizável – 3780 kcal.

² (Premix mineral) e ³ (Premix vitamínico) Suínos Agrocere/Multimix®. Níveis de garantia por kg dos produtos: Vit. A – 2.666.700 U.I.; Vit. D3 – 1.000.000 U.I.; Vit. E – 10.000 UI; Vit. K – 2.666,7 mg; Vit B2 – 2.000 mg; Vit. B12 – 11.000 µg; Vit. B6 – 666,7 mg; Vit B1 – 666,7 mg; Ácido pantotênico – 7.000 mg; Niacina – 13 g; Colina – 120 g; Ácido Fólico – 400 mg; Selênio 130 mg; Cobalto – 168 mg; Iodo – 1.416 mg; Selênio – 30 µg; Manganês – 40 g; Zinco – 75 g; Cobre – 15 g; Ferro – 25 g.

Tabela 3 – Ingredientes, composições química e centesimal das dietas para leitões dos 36 aos 49 dias de idade.

Ingredientes, %	Rafinose, %				MFS
	0	0,75	1,50	2,25	
Milho Comum	-	-	-	-	54,64
Milho Degerminado	59,17	59,17	59,17	59,17	-
Farelo de soja	-	-	-	-	27,27
Concentrado proteico de soja	21,97	21,97	21,97	21,97	-
Produto lácteo	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Plasma Sanguíneo	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Fosfato bicálcico	2,46	2,46	2,46	2,46	2,22
Calcário	0,29	0,29	0,29	0,29	0,34
Sal	0,18	0,18	0,18	0,18	0,17
Rafinose purificada	0,00	0,75	1,50	2,25	0,00
Inerte	2,25	1,50	0,75	0,00	0,00
Premix Mineral ¹	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix vitamínico ²	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Óleo de soja	0,18	0,18	0,18	0,18	1,79
L-Lisina.HCl, 78%	0,27	0,27	0,27	0,27	0,36
L-Treonina, 98%	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
DL-Metionina, 99%	0,11	0,11	0,11	0,11	0,08
L-Triptofano, 98%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
Antioxidante	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados					
Energia metabolizável, kcal/kg	3375	3375	3375	3375	3375
Proteína bruta, %	21,00	21,00	21,00	21,00	21,00
Cálcio, %	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83
Fósforo disponível, %	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Fibra em detergente ácido, %	3,28	3,24	3,14	3,17	4,84
Fibra em detergente neutro, %	7,23	7,18	7,16	7,22	11,24
Lisina digestível, %	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33
Metionina digestível, %	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Treonina digestível, %	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Triptofano digestível, %	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
Galacto-oligossacarídeos, %					
Rafinose	0,14	0,89	1,64	2,39	0,94
Estaquiase	0,37	0,37	0,37	0,37	1,09

¹ Nuklospray® K21. Níveis de garantia por kg do produto: Proteína Bruta – 110 g; Extrato etéreo – 50; Cinzas – 87 g; Fibra bruta – 1 g; Umidade – 35 g; Lactose 700 g; Açúcar 735 g; Energia metabolizável – 3780 kcal.

² (Premix mineral) e ³ (Premix vitamínico) Suínos Agrocere/Multimix®. Níveis de garantia por kg dos produtos: Vit. A – 2.666.700 U.I.; Vit. D3 – 1.000.000 U.I.; Vit. E – 10.000 UI; Vit. K – 2.666,7 mg; Vit B2 – 2.000 mg; Vit. B12 – 11.000 µg; Vit. B6 – 666,7 mg; Vit B1 – 666,7 mg; Ácido pantotênico – 7.000 mg; Niacina – 13 g; Colina – 120 g; Ácido Fólico – 400 mg; Selênio 130 mg; Cobalto – 168 mg; Iodo – 1.416 mg; Selênio – 30 µg; Manganês – 40 g; Zinco – 75 g; Cobre – 15 g; Ferro – 25 g.

Tabela 4 – Ingredientes, composições química e centesimal das dietas para leitões dos 50 aos 63 dias de idade.

Ingredientes, %	Rafinose, %				MFS
	0	0,75	1,50	2,25	
Milho Comum					60,81
Milho Degerminado	65,23	65,23	65,23	65,23	
Farelo de soja					26,49
Concentrado proteico de soja	21,60	21,60	21,60	21,60	
Farelo de trigo	7,07	7,07	7,07	7,07	7,07
Fosfato bicálcico	2,30	2,30	2,30	2,30	2,05
Calcário	0,33	0,33	0,33	0,33	0,39
Sal	0,47	0,47	0,47	0,47	0,46
Rafinose purificada	0,00	0,75	1,50	2,25	0,00
Inerte (caulim)	2,25	1,50	0,75	0,00	0,00
Premix Mineral ¹	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix vitamínico ²	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
L-Lisina,HCl, 78%	0,22	0,22	0,22	0,22	0,31
L-Treonina, 98%	0,09	0,09	0,09	0,09	0,08
DL-Metionina, 99%	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04
L-Triptofano, 98%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Antioxidante BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados					
Energia metabolizável, kcal/kg	3230	3230	3230	3230	3230
Proteína bruta, %	18,54	18,42	18,44	18,39	18,48
Cálcio, %	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77
Fósforo disponível, %	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Fibra em detergente ácido, %	4,07	4,02	4,12	4,19	5,73
Fibra em detergente neutro, %	10,23	10,26	10,13	10,15	14,66
Lisina digestível, %	1,09	1,09	1,09	1,09	1,09
Metionina digestível, %	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31
Treonina digestível, %	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69
Triptofano digestível, %	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Galacto-oligossacarídeos, %					
Rafinose	0,25	1,00	1,75	2,50	0,95
Estaquiase	0,36	0,36	0,36	0,36	1,06

¹ (Premix mineral) e ² (Premix vitamínico) Suínos Agroceres/Multimix®. Níveis de garantia por kg dos produtos: Vit. A – 2.666.700 U.I.; Vit. D3 – 1.000.000 U.I.; Vit. E – 10.000 UI; Vit. K – 2.666,7 mg; Vit B2 – 2.000 mg; Vit. B12 – 11.000 µg; Vit. B6 – 666,7 mg; Vit B1– 666,7 mg; Ácido pantotênico – 7.000 mg; Niacina – 13 g; Colina – 120 g; Ácido Fólico – 400 mg; Selênio 130 mg; Cobalto – 168 mg; Iodo – 1.416 mg; Selênio – 30 µg; Manganês – 40 g; Zinco – 75 g; Cobre – 15 g; Ferro – 25 g.

Para verificar a influência das dietas experimentais sobre a incidência de diarreia, foram realizadas as observações dos escores fecais dos leitões, dos 25 aos 46 dias de idade. Durante esse período, uma vez ao dia, foram verificadas as

consistências das fezes, mediante análise visual, de acordo com os seguintes escores: 1 – fezes duras, 2 – fezes normais, 3 – fezes pastosas e 4 – fezes líquidas. Os escores 1, 2 e 3 foram considerados fezes não diarreicas e o 4 diarreicas. O procedimento foi realizado sempre pelo mesmo observador.

2.3 Morfologia, pH e microbiologia do trato digestório.

Aos 14 dias pós-desmame (aos 35 dias de idade), seis animais por tratamento com peso vivo mais próximo da média de suas respectivas repetições, foram selecionados e abatidos mediante insensibilização elétrica seguida de sangramento. Imediatamente após o abate, o trato digestório foi removido da cavidade abdominal, para as avaliações da morfologia do intestino delgado, bem como do pH e da microbiologia dos conteúdos do intestino delgado e ceco. Não foi realizado jejum nos animais anteriormente ao abate.

Para estudo da estrutura do intestino delgado, foram colhidas, de cada animal, amostras (± 3 cm) das porções iniciais e finais do jejuno (a 1,5m da junção com o estômago e a 1,5m da junção com o ceco, respectivamente). As amostras foram abertas pela borda mesentérica, fixadas em papelão com grampos e acondicionadas em solução fixadora de Bouin por 24 horas. Após este período, foram lavadas em água corrente e álcool etílico 70% para retirada do fixador e, posteriormente, desidratadas em séries crescentes de álcoois, 70 a 100%, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. A microtomia destas amostras foi realizada à espessura de 5 μ m, sendo feitos oito cortes semi-seriados para cada segmento de cada animal.

Para as leituras das lâminas histológicas foi utilizado microscópio de luz, acoplado a um sistema para captura de imagens Olympus DP11-N e sistema analisador de imagens. Um conjunto de lâminas foi corado com as técnicas do ácido periódico de Schiff (PAS) e hematoxilina-eosina e nelas foram realizadas as medidas da altura dos vilos (AV), profundidade das criptas (PC) e determinada a relação AV/PC. As medidas foram realizadas em 40 vilos e criptas bem orientados de cada segmento por animal. A contagem do número de células caliciformes foi realizada em 200 micrômetros de cada vilo, a partir da sua base, em 20 vilos bem orientados

de cada segmento por animal. Determinou-se o número de células caliciformes produtoras de mucinas neutras e ácidas pelas técnicas do ácido periódico de Schiff (PAS) ou Alcean Blue pH 2,5 (AB), respectivamente (Kiernan, 1999).

Para as análises da ultra-estrutura do intestino delgado, foram colhidas, de cada animal, amostras (± 1 cm) das porções iniciais e finais do jejuno (a 1,5m da junção com o estômago e a 1,5m da junção com o ceco, respectivamente). As amostras foram colhidas e, imediatamente após foram lavadas em solução tampão fosfato (0,1M e pH 7,4) e fixadas em glutaraldeído. Posteriormente, foram desidratadas em séries crescentes de etanol e secas em secador de ponto crítico, usando CO₂, montadas e metalizadas com ouro paládio. Em seguida foram realizadas elétrôn-micrografias, de cinco áreas de cada amostra, para estimar a densidade de vilos (número de vilos/mm²), utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura modelo JEOL, JSM, operado em 15kv.

Os conteúdos do terço final do intestino delgado e do ceco foram colhidos para avaliação do pH e da microbiologia intestinal. O pH foi mensurado por meio de peagômetro digital modelo Digimed DM-20, inserido nas referidas amostras. Nessas mesmas amostras foram ainda quantificadas as unidades formadoras de colônia por grama (ufc/g) dos microrganismos dos gêneros *Escherichia coli* (E. coli) e bactérias lácticas por meio da técnica de plaqueamento, segundo AOAC (2005) e Vanderzant e Splittstoesser, (1992) respectivamente.

2.4 Forma de análise dos resultados

Os dados foram analisados utilizando-se o delineamento em blocos casualizados, sendo os dados submetidos à análise de variância por meio do procedimento Proc Mixed no programa estatístico SAS, 2009. Os dados foram submetidos aos testes de Normalidade dos erros, Homocedasticidade, bem como identificados e excluídos, das análises, os valores outliers e influentes. Os graus de liberdade do fator nível foram decompostos e contrastes polinomiais foram utilizados para determinar os efeitos da inclusão de rafinose purificada. As diferenças entre cada nível de rafinose adicionado às dietas e a dieta MFS foram analisadas por meio

do teste de Dunnett. Os valores de probabilidade menores que 5% foram considerados significativos.

3. Resultados

Não observou-se efeitos ($P>0,05$) dos tratamentos sobre o desempenho dos animais dos 21 aos 35 dias de idade (Tabela 5). No entanto, dos 21 aos 49 dias de idade houve efeito quadrático ($y=0,070x^2 + 0,163x + 0,437$; $R^2 = 0,27$) sobre o consumo diário de ração, estimando-se o maior consumo com a adição de 1,16% de

Tabela 5 – Consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) dos leitões dos 21 aos 63 dias de idade.

	Rafinose, %				MFS	CV ^a	Contraste ^b	
	0	0,75	1,50	2,25			P	Efeito
Peso inicial, kg	6,77	6,75	6,75	6,76	6,77	7,67	ns	-
<i>21 - 35 dias de idade</i>								
CDR, g	209	223	239	226	224	15,72	ns	-
GDP, g	185	205	221	202	196	19,68	ns	-
CA	1,11	1,10	1,08	1,13	1,09	6,37	ns	-
Peso final, kg	9,18	9,41	9,63	9,39	9,33	11,94	ns	-
<i>21 - 49 dias de idade</i>								
CDR, g	476	524	519	480	487	16,38	0,007	quadrático
GDP, g	327	369	371	367	341	18,89	ns	-
CA	1,44	1,44	1,40	1,31	1,42	8,21	0,041	linear
Peso final, kg	15,79	17,11	17,17	16,19	15,51	12,96	0,042	quadrático
<i>21 - 63 dias de idade</i>								
CDR, g	684*	780	777	802	794	14,12	0,002	linear
GDP, g	406	438	443	443	444	15,16	ns	-
CA	1,74	1,76	1,76	1,73	1,77	4,68	ns	-
Peso final, kg	23,50	23,19	25,38	25,56	25,50	10,09	ns	-

^a Coeficiente de variação;

^b Contrastes polinomiais para os níveis de refinose;

* Indica diferença ($P<0,05$, Dunnett) entre cada nível de refinose e a dieta MFS.

rafinose à dieta. Observou-se melhora linear ($y=-0,054x + 1,459$; $R^2 = 0,27$) na conversão alimentar à medida que o nível de refinose aumentou. O ganho diário de peso não foi afetado ($P>0,05$) pelas dietas nessa fase, no entanto, houve efeito

quadrático ($y = -1,479x^2 + 3,8897x + 14,854$; $R^2 = 0,34$) para o peso final, estimando-se o maior peso final aos 28 dias pós-desmame para o teor de 1,31% de rafinose.

No período total do experimento (dos 21 aos 63 dias de idade), observou-se aumento linear ($y = 0,0347x + 0,714$; $R^2 = 0,23$) do consumo diário de ração com o acréscimo dos teores de rafinose nas dietas. Os animais alimentados com a dieta MFS tiveram desempenho similar aos demais em todos os períodos, com exceção do último, no qual o consumo diário de ração dos animais que receberam a dieta MFS foi maior ($P < 0,05$) em relação àqueles que consumiram a dieta sem inclusão de rafinose.

Ainda que numericamente diferente, a ocorrência de diarreia não foi influenciada ($P > 0,05$) pelos tratamentos (Tabela 6). Credita-se esse fato ao baixo número de ocorrências do escore diarreico observado de modo geral nos animais utilizados no experimento, além da variabilidade dos dados, o que impossibilitou o teste estatístico detectar diferenças entre as médias.

Tabela 6 – Total de ocorrências dos escores fecais e incidência de diarreia dos 25 aos 46 dias de idade.

Escore ^a	Rafinose, %				MFS	CV ^b	Contraste ^c	
	0	0,75	1,50	2,25			P	Efeito
1	136	136	129	136	136	-	-	-
2	130	128	133	132	132	-	-	-
3	25	26	41	41	34	-	-	-
4	7	4	11	10	10	-	-	-
Diarreia, %	2,38	1,36	3,74	3,40	2,40	49,45	ns	-

^a 1 – fezes duras; 2 – fezes normais; 3 – fezes pastosas e 4 – fezes líquidas (diarreicas);

^b Coeficiente de variação;

^c Contrastes polinomiais para os níveis de rafinose.

As variáveis de morfologia da porção inicial do jejuno, como a altura dos vilos, profundidade das criptas, relação da altura dos vilos/profundidade das criptas, número de células caliciformes coradas pela técnica do PAS e densidade de vilos não foram influenciadas ($P > 0,05$) pelas dietas experimentais (Tabela 7). No entanto, nessa porção do intestino, houve efeito quadrático ($y = 1,031x^2 - 2,584x + 6,344$; $R^2 = 0,19$) para as inclusões de rafinose, sobre o número de células caliciformes AB,

sendo o menor número estimado para o teor de 1,25% de rafinose. Verificou-se maior ($P<0,05$) número de células caliciformes AB nos animais que receberam a dieta MFS em relação aos alimentados com a dieta contendo 1,50% de rafinose.

Tabela 7 – Valores de altura dos vilos (AV), profundidade das criptas (PC), relação da altura dos vilos/profundidade das criptas (AV/PC), número de células caliciformes (CC) e densidade de vilos (DV) nas porções inicial e final do jejuno de leitões em função das dietas experimentais.

	Rafinose, %				MFS	CV ^a	Contraste ^b	
	0	0,75	1,50	2,25			P	Efeito
<i>Jejuno inicial^c</i>								
AV, μm	349,9	352,9	379,4	373,2	371,8	15,92	ns	-
PC, μm	250,2	266,3	255,4	259,0	262,3	8,30	ns	-
AV/PC	1,3	1,3	1,5	1,4	1,4	17,10	ns	-
CC, PAS ^d	6,0	6,6	4,7	5,8	5,7	24,70	ns	-
CC, AB ^d	6,0	5,9	4,0 [*]	6,0	5,2	25,14	0,002	quadrático
DV, mm2	34,7	38,8	35,6	37,4	35,6	18,38	ns	-
<i>Jejuno final^c</i>								
AV, μm	394,4 [*]	457,6	476,3	477,1	536,0	18,16	0,048	linear
PC, μm	256,1	253,7	243,0	245,3	263,5	9,56	ns	-
AV/PC	1,5 [*]	1,8	2,0	1,9	2,0	19,54	0,026	linear
CC, PAS ^d	6,7	6,4	5,2	6,9	6,3	22,34	ns	-
CC, AB ^d	7,2 [*]	5,5	4,7	5,5	4,9	23,65	0,041	quadrático
DV, mm ²	40,3	37,8	40,3	42,0	36,6	22,05	ns	-

^a Coeficiente de variação;

^b Contrastes polinomiais para os níveis de rafinose;

^c Jejuno inicial – a 1 metro da junção com o duodeno; Jejuno final – a 1 metro da junção com o íleo;

^d PAS – Coloração das células pela técnica do Shift PAS; AB – Coloração das células pela técnica do Alcean Blue pH 2,5;

* Indica diferença ($P<0,05$, Dunnett) entre cada nível de rafinose e a dieta MFS.

Na porção final do jejuno, houve aumento linear para a altura dos vilos ($y=0,19x + 1,614$; $R^2 = 0,22$) e para a relação entre a altura dos vilos/profundidade das criptas ($y=35,531x + 411,370$; $R^2 = 0,20$), à medida em que os teores de rafinose nas dietas aumentaram. Houve efeito quadrático ($y=1,578x^2 - 3,943x + 7,310$; $R^2 = 0,35$) para o número de células caliciformes AB, sendo o menor ($P<0,05$) valor estimado para o nível de 1,25% de rafinose purificada. Notou-se maior ($P<0,05$) altura dos vilos e maior AV/PC para os animais alimentados com a dieta MFS em relação aos que receberam a dieta sem inclusão de rafinose. Ainda no mesmo

segmento, verificou-se menor ($P<0,05$) número de células caliciformes AB no jejuno dos animais alimentados com a dieta MFS em relação aos que receberam aquela sem inclusão de rafinose. A profundidade das criptas, o número de células caliciformes coradas pela técnica do PAS e a densidade dos vilos não foram influenciados ($P>0,05$) pelas dietas também na porção final do jejuno.

Não houve efeito ($P>0,05$) dos níveis de rafinose sobre o pH do conteúdo do intestino delgado (Tabela 8). A dieta MFS causou aumento ($P<0,05$) do pH no conteúdo do intestino delgado dos leitões quando comparada àquela com inclusão de 0,75% de rafinose. No conteúdo do ceco, observou-se menor ($P<0,05$) pH nos animais alimentados com a dieta contendo 2,25% de rafinose em relação aos que receberam a dieta MFS.

Tabela 8 – pH e contagem de bactérias lácticas e *E. coli* (log ufc/g) no conteúdo intestinal de leitões aos 35 dias de idade.

Intestinal de leitões dos 55 dias de idade.								
	Rafinose, %				MFS	CV ^a	Contraste ^b	
	0	0,75	1,50	2,25			P	Efeito
<i>Intestino delgado</i>								
pH	6,37	5,83*	6,39	6,33	6,46	6,90	ns	-
Bactérias lácticas	7,79	8,04	7,88	8,04	8,26	5,48	ns	-
<i>E. coli</i>	6,61*	5,42	4,59	6,25*	4,24	21,05	0,031	quadrático
<i>Ceco</i>								
pH	6,14	5,94	6,02	5,89*	6,19	14,67	ns	-
Bactérias lácticas	8,78*	9,05	8,84*	9,25	9,37	4,20	ns	-
<i>E. coli</i>	6,15	4,89	3,48	4,97	4,84	21,84	0,025	quadrático

^a Coeficiente de variação;

^b Contrastes polinomiais para os níveis de rafinose;

* Indica diferença ($P<0,05$, Dunnett) entre cada nível de rafinose e a dieta MFS.

A inclusão de rafinose não influenciou ($P>0,05$) as contagens de bactérias lácticas nos conteúdos do intestino delgado e do ceco dos animais (Tabela 8). Quanto aos níveis de rafinose, esses não afetaram ($P>0,05$) o número de bactérias lácticas no intestino delgado e no ceco. Porém, houve efeito quadrático para o número de ufc/g de *E. coli* no intestino delgado ($y=1,266x^2 - 3,104x + 6,720$; $R^2 = 0,20$) e no ceco ($y=1,220x^2 - 3,406x + 630$; $R^2 = 0,31$), sendo os menores ($P<0,05$) valores estimados para os níveis de 1,23 e 1,40% de rafinose, respectivamente. O número de ufc/g *E. coli* foi menor ($P<0,05$) no intestino delgado dos animais que consumiram

a dieta MFS em relação aos que receberam as dietas com inclusões de 0 e 2,25% de rafinose. No ceco não observou-se efeito ($P>0,05$) sobre esta variável. Também no ceco dos leitões que consumiram a dieta MFS, verificou-se maior ($P<0,05$) quantidade de bactérias lácticas em relação aos alimentados com as dietas contendo 0 e 1,50% de rafinose.

4. Discussão

Os resultados desse estudo indicaram que a rafinose purificada não causa prejuízo ao desempenho de leitões. Ao contrário, estimou-se que a inclusão de 1,16% proporcionou o melhor consumo diário de ração e a inclusão de até 2,25% melhorou a conversão alimentar dos 21 aos 49 dias de idade. Esses achados discordaram dos verificados por Liying et al. (2003) e Pan et al., (2002), que observaram menor ganho de peso de leitões recém-desmamados alimentados com dietas contendo 1 e 2% de estaquiase purificada. Essas diferenças quanto ao desempenho dos leitões não são esperadas, no entanto, de acordo com Mussatto e Mancilha, (2007), a facilidade com que os Gos são degradados, depende de fatores como o grau de polimerização, do efeito sinérgico entre bactérias e substratos, além das ligações glicosídicas e o grau de ramificação. Dessa forma, pode-se especular que a rafinose, por possuir uma molécula de galactose a menos em relação à estaquiase, possa ser mais facilmente degradada e por isso, ter seus efeitos menos prejudiciais ou até mesmo benéficos.

Um achado interessante foi que o desempenho dos animais que consumiram a dieta sem a inclusão de rafinose foi pior em relação aos que consumiram dietas com maiores teores de Gos. Possivelmente a inclusão de 2,25% de caulim como matéria inerte possa ter suprimido o consumo dos animais, uma vez que essa dieta ficou com aspecto pulverulento. O ganho de peso dos leitões alimentados com a dieta MFS foi superior em 13% em relação aos que receberam a dieta sem inclusão de rafinose.

Alguns estudos, no intuito de provar que melhores índices zootécnicos de aves e suínos seriam alcançados pela remoção dos Gos, falharam. Nos trabalhos de

Angel et al. (1988), Ruiz et al. (2008) e Veldman et al. (1993), as dietas foram suplementadas com a enzima α -galactosidase, porém não observou-se benefícios da técnica. Esses resultados levaram os autores a correlacionarem outros componentes, que não os Gos, aos baixos índices de desempenho e utilização dos nutrientes. Observou-se, nesse estudo, que mesmo a dieta MFS, que continha 1,55, 2,03 e 2,01% de Gos, proporcionou consumo diário de ração e ganho de peso satisfatórios para o período total do experimento, quando comparados às demais dietas.

Embora a grande parte dos trabalhos sobre a rafinose correlacione a ingestão desse oligossacarídeo com incidência de diarreia, essa variável não foi afetada nesse estudo. A adição de até 2% de estaquiose purificada também não influenciou essa variável no trabalho de Liying et al. (2003). Shoaf et al. (2006), verificaram que a rafinose causou diminuição da aderência de *Escherichia coli* às células do epitélio intestinal, sendo essa bactéria, uma das principais causas de diarreia em leitões. Embora os teores de Gos da dieta MFS tenham sido aproximadamente três vezes maiores em relação à dieta sem inclusão de rafinose, não observou-se diferença entre os tratamentos. Dessa maneira, percebe-se que os teores de Gos encontrados normalmente em dietas formuladas à base de milho e farelo de soja, não são responsáveis por causar diarreia em leitões. De qualquer maneira, o número de ocorrências do escore 4 (diarreia) foi muito menor em relação aos demais escores em todos os animais do experimento. O baixo número de ocorrências desse escore aumentou a variabilidade dos dados, o que contribuiu para que o método estatístico não identificasse diferenças significativas. Isso possivelmente deve-se ao vazio sanitário, de três meses, realizado nas instalações anteriormente ao início do ensaio, bem como a ótima condição sanitária dos animais utilizados.

A ação da rafinose sobre a morfologia intestinal de leitões foi mais pronunciada sobre a porção final do jejuno em relação à inicial, na qual somente o número de células caliciformes AB foi influenciado pelas dietas. Na porção final, além das células caliciformes AB, a altura dos vilos e a relação entre a altura dos vilos e profundidade das criptas também foram afetados. É esperado, de fato, que os efeitos dos Gos, sejam mais pronunciados no final do jejuno, visto que, esses

carboidratos são passíveis de degradação pelos microrganismos que habitam o intestino delgado e a população microbiana, cresce à medida em que se aproxima do ceco.

Verificou-se que a inclusão de rafinose provocou aumento linear da altura dos vilos, bem como da relação altura dos vilos e profundidade das criptas. Os trabalhos que avaliaram a influência da rafinose sobre a morfologia intestinal são escassos. Juśkiewicz et al. (2009), verificaram que os Gos produzem efeitos diferentes sobre a morfologia intestinal de perus de acordo com a idade dos animais. Na quarta semana de vida dos animais, a dieta com 2,70% de Gos provocou aumento da profundidade das criptas e menor relação entre altura de vilos e profundidade das criptas em comparação à dieta contendo 0,23% de Gos. Já, na oitava semana, os resultados foram os inversos dos verificados na quarta semana. No presente estudo, a diferença observada entre a dieta sem a inclusão de rafinose e a dieta MFS, pode estar relacionada com o consumo diário de ração (209 vs 224 gramas, respectivamente), uma vez que o menor consumo de ração possui relação direta com menores alturas de vilos (Pluske, 2001).

As células caliciformes AB são produtoras de mucinas ácidas, e sua ação está relacionada à acidificação do muco que recobre o epitélio intestinal, impedindo que microrganismos patogênicos, como a *E. Coli*, se liguem à mucosa. Nesse estudo, foi estimado menor número de células caliciformes AB para o teor de 1,25% de rafinose. Isso pode estar relacionado aos efeitos previamente estabelecidos pelos Gos, sobre a acidificação do conteúdo intestinal, com consequente inibição do crescimento de microrganismos patogênicos, portanto, não haveria a necessidade da mucosa intestinal produzir mucinas ácidas para prevenir a colonização do intestino por bactérias patogênicas. Devido a propriedade dos Gos em aumentar a velocidade de passagem da digesta pelo trato digestório, pode não ter ocorrido uma fermentação desejável para os maiores teores desse carboidrato. O mesmo raciocínio vale para a dieta MFS, que embora, com teor de Gos de 1,55%, proporcionou número de células caliciformes AB maior em relação a dieta com inclusão de 1,50% de rafinose, pois Iji e Tivey, (1998) relataram que Gos purificados e adicionados à dietas são mais facilmente fermentados que os presentes na matriz dos ingredientes. Essa hipótese pode ser reforçada pelo fato desse efeito ter

ocorrido na porção inicial do intestino delgado, onde a degradação desses compostos pelos microrganismos é menor.

Embora esperava-se um efeito mais pronunciado da rafinose sobre a população de bactérias láticas, como descrito anteriormente por Smiricky-Tjardes et al. (2003), foi sobre a contagem de *E. coli* que foram observados os efeitos mais expressivos. Nesse estudo evidenciou-se que a rafinose possui características prebióticas, uma vez que as menores quantidades de *E. coli* contabilizadas no intestino delgado e no ceco foram estimadas para as inclusões de 1,23 e 1,40%, respectivamente. Autores como Liying et al. (2003) e Smiricky-Tjardes et al. (2003), verificaram que a adição de Gos às dietas de leitões estimularam o crescimento de bactérias benéficas no trato digestório de leitões. Curiosamente, Liying et al. (2003), observaram que a inclusão de 1% de estaquiase, produziu efeitos melhores sobre a microbiologia intestinal em relação à adição de 2% desse carboidrato. Nesse estudo, a inclusão de 2,25% também não acarretou em melhores resultados. Embora não se tenha uma explicação muito plausível para esse fato, pode-se inferir que dietas com baixos teores de Gos não exercem efeito prebiótico, por não terem substrato para o desenvolvimento de bactérias benéficas, enquanto dietas com teores elevados desses compostos acabam por diminuir em demasia a taxa de passagem da digesta e por isso, comprometem a fermentação dos Gos pelos microrganismos. Porém, estudos precisam ser realizados para validar essa hipótese.

Outro achado que merece destaque, é que os animais alimentados com a dieta MFS, que continha 1,55% de Gos, tiveram a contagem de *E. coli* no intestino delgado menor em relação aos alimentados com a dieta sem inclusão de rafinose ou com a inclusão de 2,25%. Isso reforçou a ideia de que um teor mínimo de Gos em dietas de leitões é benéfico. A dieta MFS também promoveu maior desenvolvimento de bactérias láticas no ceco em relação àquelas sem inclusão de rafinose ou com 1,50% do carboidrato. Esperava-se que a dieta com inclusão de 1,50% de rafinose promovesse desenvolvimento de bactérias láticas, de modo igual ou até mesmo superior à dieta MFS, porém isso não se confirmou.

5. Conclusão

A rafinose melhora o desempenho e não causa diarreia em leitões recém-desmamados. Adicionalmente, esse carboidrato exerce efeitos prebióticos, uma vez que melhoras quanto à microbiologia e morfologia intestinal dos leitões pós-desmame foram observadas. Leitões alimentados com dietas formuladas com milho e farelo de soja e que contém em torno de 1,50% de galacto-oligossacarídeos têm desempenho, incidência de diarreia, microbiologia e morfologia intestinal melhores, em relação à leitões alimentados com dietas contendo teores menores desses carboidratos.

6. Referências bibliográficas

AOAC Official Method 991.14 (Petrifilm *E. coli* Count Plate). In: HORWITZ, W. (ed.), Official Methods of Analysis of AOAC International, 18thed. Gaithersburg, Maryland: AOAC International, 2005. Chapter 17, p.32.

Angel, C.R., Sell, J.L., Zimmerman, D.R., 1988. Autolysis of. alpha.-galactosides of defatted soy flakes: influence on nutritive value for chickens. Journal of Agricultural and Food Chemistry 36, 542-546.

Choct, M., Dersjant-Li, Y., McLeish, J., Peisker, M., 2010. Soy oligosaccharides and soluble non-starch polysaccharides: a review of digestion, nutritive and anti-nutritive effects in pigs and poultry. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 23, 1386-1398.

Clarke, E., Wiseman, J., 2000. Developments in plant breeding for improved nutritional quality of soya beans II. Anti-nutritional factors. The Journal of Agricultural Science 134, 125-136.

Dersjant-Li, Y., Peisker, M., 2010. The impact of soy oligosaccharides on digestion and intestinal health in weaning piglets. Livestock Science 134, 187-189.

Fledderus, J., 2005. Possibilities of soy concentrate in piglet feeds without AGP's, Report.

Grieshop, C.M., Kadzere, C.T., Clapper, G.M., Flickinger, E.A., Bauer, L.L., Frazier, R.L., Fahey, G.C., 2003. Chemical and nutritional characteristics of United States soybeans and soybean meals. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51, 7684-7691.

Iji, P.A., Tivey, D.R., 1998. Natural and synthetic oligosaccharides in broiler chicken diets. *World's Poultry Science Journal* 54, 129-143.

Juśkiewicz, J., Jankowski, J., Lecewicz, A., Przybylska-Gornowicz, B., Zieba, M., 2009. Effect of diets with different contents of soybean α -galactosides and crude fibre on modification of duodenal microstructure and selected parameters of nutrient utilization in young turkeys. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 12, 455-463.

Karr-Lilienthal, L.K., Kadzere, C.T., Grieshop, C.M., Fahey Jr, G.C., 2005. Chemical and nutritional properties of soybean carbohydrates as related to nonruminants: A review. *Livestock Production Science* 97, 1-12.

Kiernan, J.A., 1999. Histological and histochemical methods: theory and practice. *Shock* 12, 479.

Liyang, Z., Li, D., Qiao, S., Johnson, E.W., Li, B., Thacker, P.A., Han, I.K., 2003. Effects of stachyose on performance, diarrhoea incidence and intestinal bacteria in weanling pigs. *Archives of Animal Nutrition* 57, 1-10.

Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., Vidal-Valverde, C., 2008. Alpha-Galactosides: Antinutritional Factors or Functional Ingredients? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48, 301-316.

Mathew, A., Sutton, A., Scheidt, A., Patterson, J., Kelly, D., Meyerholtz, K., 1993. Effect of galactan on selected microbial populations and pH and volatile fatty acids in the ileum of the weanling pig. *Journal of Animal Science* 71, 1503-1509.

Mussatto, S.I., Mancilha, I.M., 2007. Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers* 68, 587-597.

Pan, B., Li, D., Piao, X., Zhang, L., Guo, L., 2002. Effect of Dietary Supplementation With α -Galactosidase Preparation and Stachyose on Growth Performance, Nutrient Digestibility and Intestinal Bacterial Populations of Piglets. *Archiv für Tierernaehrung* 56, 327-337.

Perryman, K.R., Olanrewaju, H., Dozier, W.A., 2013. Growth performance and meat yields of broiler chickens fed diets containing low and ultra-low oligosaccharide soybean meals during a 6-week production period. *Poultry Science* 92, 1292-1304.

Pluske, J., 2001. Morphological and functional changes in the small intestine of the newly-weaned pig. *Gut environment of pigs*, 1-27.

Rodrigues Brasil, A.P., de Rezende, S.T., do Carmo Gouveia Pelúzio, M., Guimarães, V.M., 2010. Removal of oligosaccharides in soybean flour and nutritional effects in rats. *Food Chemistry* 118, 251-255.

Rostagno, H., Albino, L., Donzele, J., Gomes, P., OLIVEIRA, R.d., Lopes, D., PEREIRA, A., BARRETO, S.d., 2005. Tabelas brasileiras para suínos e aves:

composição de alimentos e exigências nutricionais. Tabelas brasileiras para suínos e aves: composição de alimentos e exigências nutricionais.

Ruiz, U.d.S., Thomaz, M.C., Hannas, M.I., Fraga, A.L., Watanabe, P.H., Silva, S.Z.d., 2008. Complexo enzimático para suínos: digestão, metabolismo, desempenho e impacto ambiental. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37, 458-468.

Shoaf, K., Mulvey, G.L., Armstrong, G.D., Hutkins, R.W., 2006. Prebiotic galactooligosaccharides reduce adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to tissue culture cells. *Infection and immunity* 74, 6920-6928.

Smiricky-Tjardes, M.R., Grieshop, C.M., Flickinger, E.A., Bauer, L.L., Fahey, G.C., 2003. Dietary galactooligosaccharides affect ileal and total-tract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentative characteristics of growing pigs. *Journal of Animal Science* 81, 2535-2545.

Vanderzant, C., Splittstoesser, D., 1992. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*.

Veldman, A., Veen, W.A.G., Barug, D., Van Paridon, P.A., 1993. Effect of α -galactosides and α -galactosidase in feed on ileal piglet digestive physiology. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 69, 57-65.