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

PROTEASE E BUTIRATO DE SÓDIO NAS DIETAS PRÉ-INICIAL E INICIAL DE SUINOS

Juliana Luis e Silva
Orientador: Dr. Romão da Cunha Nunes

GOIÂNIA
2013

UFG

sistema de bibliotecas ufg

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

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

1. Identificação do material bibliográfico: ☐ **Dissertação** ☒ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **JULIANA LUIS E SILVA** E-mail: **julianazootec@hotmail.com**

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

Vínculo Empregatício do autor: Agência de fomento:

País: **BRASIL** UF:**GO** CNPJ: Sigla:

Título: PROTEASE E BUTIRATO DE SÓDIO NAS DIETAS PRÉ- INICIAL E INICIAL DE SUINOS Palavras-chave: **ácido orgânico, desempenho, digestibilidade, enzima, histomorfometria, leitões**

Título em outra língua: **PROTEASE AND SODIUM BUTYRATE DIETS IN PRE–INITIAL AND INITIAL SWINES**

Palavras-chave em outra língua: **digestibility, enzyme, histomorphometry, organic acid, performance, piglets**

Área de concentração: **PRODUÇÃO ANIMAL** Data defesa: (dd/mm/aaaa) **12/12/2013**

Programa de Pós-Graduação:**CIÊNCIA ANIMAL**

Orientador(a):**ROMÃO DA CUNHA NUNES** E-mail: **romao@vet.ufg.br**

Co-orientador(1): **ELIANE SAYURY MYAGI OKADA** E-mail: eliane_miyagi@hotmail.com

Co-orientador(2): **JOSÉ HENRIQUE STRINGHINI** E-mail: **henrique@vet.ufg.br**

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?[1] ☒ total ☐ parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[ ] Capítulos. Especifique:

[ ] Outras restrições:

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

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

Goiânia 11 de março de 2014

Juliana Luis e Silva
Assinatura do(a) autor(a)

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

JULIANA LUIS E SILVA

PROTEASE E BUTIRATO DE SÓDIO NAS DIETAS PRÉ-INICIAL E INICIAL DE SUINOS

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

Área de concentração:
Produção Animal

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

Orientador:
Prof. Dr. Romão da Cunha Nunes – UFG

Comitê de Orientação:
Prof. Dra. Eliane Sayury Myagi Okada - UFG
Prof. Dr. José Henrique Stringhini - UFG

GOIÂNIA
2013

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

S586p

Silva, Juliana Luis e.
Protease e Butirato de Sódio nas Dietas Pré-inicial e Inicial de Suínos [manuscrito] : / Juliana Luis e Silva. - 2013.
78 f. : figs, tabs.

Orientador: Prof. Dr. Romão da Cunha Nunes.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, 2013.
Bibliografia.

1. Suinos – Alimentação e rações 2. Leitões (suínos) - Desempenho. 3. Suinos – Histomorfometria I. Título.

CDU: 636.4:636.084.1

JULIANA LUIS E SILVA

Tese defendida e aprovada em **12/12/2013** pela Banca Examinadora constituída pelos professores:

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

Prof. Dr. Leonardo Atta Farias - UFPI

Profa. Dra. Marcia Nunes Bandeira Roner - UFS

Profa. Dra. Fernanda Gomes de Paula (memoria)

Profa. Dra. Fabyola Barros Carvalho

Aos meus pais Ana Luis e Silva e Wanderley de Oliveira Silva pelo carinho, apoio e incentivo no decorrer dessa jornada.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Um turbilhão de coisas vem na minha cabeça, cenas antigas me fazem pensar, sentir, chorar e sorrir...

Agradeço primeiramente a Deus, por me mostrar o caminho nas horas incertas, ter me dado forças para seguir sempre em frente, e permitir achar graça mesmo em meio aos momentos mais difíceis.
Aos meus pais, Ana Luis Silva e Wanderley de Oliveira Silva por estarem sempre presentes, isso me faz muito feliz.

Ao Professor Romão da Cunha Nunes, ao comitê de orientação, às professoras Heloísa Helena de Carvalho Mello, Alessandra Gimenez Mascarenhas, por toda ajuda ofertada, aos funcionários do DPA, o Sr. Antonio Idalino da fábrica de ração, ao Francisco Medeiros e Franklin dos Santos do setor de suínos e aos estagiários Allysson Frebonio, Isabela Cruvinel, Priscila Neves e Erika Franco.
Às empresas DSM e Super Frango pela doação das matérias primas das rações experimentais.

À Laudicéia Oliveira da Rocha e Claudia Paula de Freitas Rodrigues, pela ajuda nos momentos em que não pude estar presente, pelas horas que passamos sem que percebessemos quando estamos juntas e ao telefone, pelos desabafos, por dividirem as tristezas e o trabalho e multiplicarem a alegria, por tornarem tudo muito mais fácil e divertido...por nossa amizade.

A Fernanda Gomes de Paula pela ajuda na estatística e a Roberta Dias pelas análises dos parâmetros sanguíneos.

A todos, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I. CONSIDERAÇÕES GERAIS
1. INTRODUÇÃO 01
2. REVISÃO DA LITERATURA..... 03
2.1 Ácidos orgânicos..... 03
2.1.1 Butirato de sódio..... 12
2.2 Enzimas na alimentação de suínos..... 18
2.2.1 Protease..... 21
3. REFERÊNCIAS 22

CAPÍTULO II. PROTEASE E BUTIRATO DE SÓDIO NAS DIETAS PRÉ-INICIAL, INICIAL I E INICIAL II PARA SUÍNOS: DESEMPENHO E INCIDÊNCIA DE DIARREIA
1 INTRODUÇÃO..... 38
2. MATERIAL E MÉTODOS..... 39
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 42
4. CONCLUSÃO..... 46
5. REFERÊNCIAS 46

CAPÍTULO III. PROTEASE E BUTIRATO DE SÓDIO NAS DIETAS PRÉ-INICIAL, INICIAL I E INICIAL II PARA SUÍNOS: DIGESTIBILIDADE, PARÂMETROS SANGUÍNEOS, PESO DE ÓRGÃOS, PH E HISTOMORFOLOGIA INTESTINAL
1 INTRODUÇÃO..... 53
2. MATERIAL E MÉTODOS..... 55
2.1 Condições experimentais..... 55
2.2 Rações experimentais..... 55
2.3 Ensaio I – Experimento de digestibilidade..... 57
2.4 Ensaio II - Parâmetros sanguíneos, peso de órgãos, pH e histomorfologia intestinal..... 58
2.4.1 Parâmetros sanguíneos..... 59
2.4.2 Peso de órgãos, ph e histomorfologia intestinal..... 60
2.5 Análise estatística..... 61
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 61
3.1 Temperatura e umidade..... 61
3.2 Digestibilidade..... 62
3.3 Parâmetros sanguíneos..... 64
3.4 Peso de órgãos..... 66
3.5 pH do trato digestivo..... 67
3.6 Histomorfologia intestinal..... 69
4. CONCLUSÃO..... 71
5. REFERÊNCIAS..... 72

CAPÍTULO IV. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 77

PROTEASE E BUTIRATO DE SÓDIO NAS DIETAS PRÉ-INICIAL E INICIAL DE SUINOS

RESUMO

Objetivou-se avaliar o desempenho zootécnico, parâmetros digestíveis, frequência de diarreia, parâmetros sanguíneos, peso de órgãos, ph do conteúdo do trato digestivo e histomorfologia intestinal de suínos em fase de creche alimentados com ração contendo protease e butirato de sódio. No ensaio de desempenho foram utilizados 80 leitões híbridos comerciais, machos castrados, com 21 dias de idade e peso médio inicial de 5,11 ± 0,4645 kg, distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro tratamentos, cinco repetições e quatro animais por repetição. O experimento de desempenho foi dividido em três fases, sendo fase pré-inicial de 5,5 a 9 kg, inicial 1 de 9,3 a 15 kg e inicial 2 de 15 a 30 kg. Os tratamentos consistiram de ração basal, ração basal com 200ppm de inclusão de protease, ração basal com 0,3% de inclusão de butirato de sódio e ração basal com protease (200ppm) e butirato de sódio (0,3%). Foi determinado o ganho de peso diário, consumo diário de ração, conversão alimentar; frequência de diarreia; perfil hematológico e bioquímico; pH dos conteúdos do estômago, duodeno, jejuno, íleo, cólon, ceco e reto; pesagem de órgãos e parâmetros histomorfométricos nos segmentos de duodeno, jejuno e íleo. O experimento de digestibilidade com suínos em fase de creche foi dividido em duas fases, sendo fase I com animais de peso médio de 11,770 ± 0,730 kg e fase II em que os animais pesavam em média 23,070 ± 1,280 kg. Em cada experimento de digestibilidade, foram utilizados 16 leitões híbridos comerciais, machos castrados, o delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com quatro tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos consistiram de ração basal, ração basal com 200ppp de inclusão de protease, ração basal com 0,3% de inclusão de butirato de sódio e ração basal com protease (200ppm) e butirato de sódio (0,3%). Foi determinado a digestibilidade da energia e os coeficientes de digestibilidade e de metabolizabilidade da matéria seca, energia bruta, proteína bruta e matéria mineral. Protease e butirato de sódio não

influenciaram os parâmetros de ganho de peso diário, consumo diário de ração e conversão alimentar. A protease diminui a incidência de diarreia na fase inicial 2. Butirato de sódio e protease isolados e sua associação melhoraram o coeficiente de metabolizabilidade da proteína; a protease aumentou a absorção de minerais. Butirato de sódio diminuiu o número de plaquetas no sangue. Não houve diferenças nos valores de pH dos conteúdos intestinais do estômago, duodeno, jejuno, íleo, cólon, ceco, reto. Butirato de sódio apresentou menores valores de peso relativo do intestino delgado e do pâncreas, protease diminuiu o peso do intestino delgado e do fígado, a associação de protease e butirato de sódio diminuiu o peso do pâncreas. Butirato de sódio aumentou a base da vilosidade do duodeno e a protease diminuiu a altura da vilosidade no íleo. A produção e atividade enzimática da protease não foi limitar no desempenho pós desmame. O melhor aproveitamento de nutrientes causado pela protease e butirato de sódio, diminiui a carga funcional dos órgãos do trato digestivo, refletindo em menores pesos de intestino delgado, fígado e pâncreas. Butirato de sódio contribui para o desenvolvimento da mucosa intestinal de leitões.

Palavras-chave: ácido orgânico, desempenho, digestibilidade, enzima, histomorfometria, leitões

PROTEASE AND SODIUM BUTYRATE DIETS IN PRE – INITIAL AND INITIAL SWINES

ABSTRACT

It was aimed to evaluate the zootechnical performance, digestible parameters, diarrhea frequency, blood parameters, organs weight, ph content of the digestive tract and intestinal histomorphology of pigs in the nursery stage fed with feed containing protease and sodium butyrate. In the performance test 80 commercial crossbreed castrated male piglets, 21 days old and initial average weight of 5.11 ± 0.4645 kg, allotted in an experimental lineation randomized block, with four treatments, five repetitions and four animals by repetition. The experiment performance was divided into three phases, being the pre-initial from 5.5 to 9 kg, initial 1 from 9.3 to 15 kg, and initial 2 from 15 to30 kg. Treatments consisted of basal diet, containing 200ppm inclusion of protease, basal diet with 0.3% addition of sodium butyrate and basal diet with protease (200ppm) and sodium butyrate (0.3 %). It was determined the daily weight gain, daily feed intake, nourish conversion, diarrhea frequency; hematological and biochemical profile; pH of the contents of the stomach, duodenum, jejunum, ileum, colon, cecum and rectum; weighing of organs and histomorphometry parameters was determined in the segment of duodenum, jejunum and ileum . The digestibility experiments with pigs from nursery stage has been divided into two stages, with stage I to animals with an average weight of 11.770 ± 0.730 kg and stage II in which animals weighed on average 1.280 kg ± 23,070. In each digestibility experiment, 16 commercial crossbred castrated male piglets were used, the experimental lineation was randomized blocks with four treatments and four repetitions. Treatments consisted of basal diet, basal diet with 200ppp inclusion of protease, basal diet with 0.3% addition of sodium butyrate and basal diet with protease (200ppm) and sodium butyrate (0.3 %). It was determined the digestible energy and coefficient of digestibility and metabolizabilety dry material, gross energy, crude protein and mineral material. Protease and sodium butyrate did not influence the parameters of daily weight gain, daily feed intake and feed conversion. The protease decreases the

incidence of diarrhea in the initial phase 2. Sodium butyrate and protease isolated and its association improved metabolisability coefficient of the protein, the protease increased mineral absorption. Sodium butyrate decreased the number of blood platelets. There were no differences in pH values of the intestinal contents of the stomach, duodenum, jejunum, ileum, colon, cecum, and rectum. Sodium butyrate showed lower relative weight value of the small intestine and pancreas, protease decreased the weight of the small intestine and the liver, the association of protease and sodium butyrate decreased by the pancreatic weigh. Sodium butyrate increased the base of the duodenal villi protease and villus height decreased in the ileum. The production and enzymatic activity of the protease was not limiting in post weaning performance. The better utilization of nutrients caused by protease and sodium butyrate decreased the functional load of the organs of the digestive tract, reflecting lower weight of the small intestine, liver and pancreas. Sodium butyrate contributes to the development of intestinal mucosa of piglets.

Keywords: digestibility, enzyme, histomorphometry, organic acid, performance, piglets

CAPÍTULO I. CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

O processo de digestão dos alimentos guarda em si um grande desafio. Os nutrientes imobilizados dentro de tecidos ou estruturas celulares, compondo macromoléculas complexas não podem ser absorvidos diretamente, devendo ser misturados com os sucos digestivos que contém as enzimas responsáveis por hidrolisar tais macromoléculas, transformando-as em nutrientes que podem ser absorvidos e aproveitados pelo animal para as suas necessidades de manutenção, crescimento e reprodução (SILVA JUNIOR, 2009), isso envolve processos biológicos e físico-químicos complexos que devem ocorrer de forma coordenada e equilibrada para uma digestão eficiente e que promova saúde e bem estar animal (METZLER et al., 2008).

Somado a isso, a pressão pela maior competitividade, atingida com o menor custo associado ao maior desempenho zootécnico, levou as formulações de dietas mais elaboradas e com elevada densidade nutricional, de modo a prover energia e nutrientes suficientes para atender à demanda gerada pelo rápido crescimento dos animais (NOVAK et al., 2007). Da mesma forma que o entendimento científico sobre a digestão está se aprofundando, vem ocorrendo uma progressiva implementação de novas tecnologias, como a utilização de ácidos orgânicos e enzimas em rações, auxiliando a produção de proteína animal de forma mais eficiente e que atenda os padrões de qualidade exigidos pelo consumidor.

Os ácidos orgânicos são conhecidos por melhorar o desempenho dos animais (PARTANEN & MROZ, 1999), reduzir a concentração de coliformes ao longo do trato gastrointestinal (PRESSER et al., 1997), diminuir o pH da digesta no intestino delgado, melhorar a atividade de enzimas digestivas, aumentar a secreção do pâncreas e a digestibilidade dos nutrientes (DIBNER & BUTTIN, 2002). São importantes para a biologia intestinal normal, absorção de água e de sais no cólon, fornecimento de energia e na manutenção da barreira intestinal (KORUDA et al., 1990).

A utilização de enzimas exógenas surgiu como alternativa para aumentar o valor nutritivo de ingredientes alimentares de baixos coeficientes de digestibilidade e apresentam significativa fração de polissacarídeos não-amiláceos estruturais, fósforo fítico (CHESSON, l987) e fatores antinutricionais, que não são hidrolisados pelas enzimas digestivas dos suínos (FURLAN et al., 1997); bem como potencializar a ação das enzimas endógenas, diminuindo a viscosidade da dieta e a poluição ambiental causada por nutrientes excretados nas fezes, na tentativa de melhorar o desempenho e a rentabilidade da criação.

Portanto, objetivou-se avaliar a utilização de protease e butirato de sódio sobre o desempenho, a incidência de diarreia, a digestibilidade de nutrientes, o perfil sanguíneo, o pH dos conteúdos do trato digestório, o peso de órgãos e a histomorfologia intestinal.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos incluem ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), contendo de um a sete átomos de carbono, com pKa (pH em que 50% do ácido esta dissociado) entre 3-5, amplamente distribuídos na natureza como constituintes normais de plantas ou tecidos animais (LEE, 2007).

Os AGCC, em especial os ácidos acético, propiônico e butírico, são os principais metabólitos de fermentação microbiana anaeróbica de carboidratos, da fibra dietética e dos polissacarídeos que ocorrem no ceco e no cólon de mamíferos, de forma semelhante à que ocorre no rúmen (FLEMING & ARCE, 1986).

Proteólise microbiana seguida por desaminação de aminoácidos também fornece AGCC (EI-SHAZLY, 1952). Mensuráveis concentrações de AGCC ocorrem no estômago de animais não ruminantes sendo maiores na parte cranial do estômago, local em que o pH não é muito baixo, para que as bactérias acidófilas possam desenvolver (BUGAUT, 1987). Glicoproteínas de muco e células de membranas lançadas no intestino são degradadas por glicosidases bacterianas e constituem fonte de AGCC (PRIZONT, 1981).

Uma vez que as taxas relativas de absorção de ácidos graxos na forma não dissociada estão relacionadas com sua solubilidade em água na ausência de bile, é provável que AGCC, mais solúveis do que os ácidos graxos de cadeia média numa fase aquosa (WESTERGAARD & DIETSCHY, 1976), sejam facilmente absorvidos pela parede do estômago de mamíferos (BUGAUT, 1987).

AGCC são absorvidas no intestino grosso, por difusão passiva e mecanismos de transporte ativo (WESTEGAABD & DIETSCHY, 1976). Aproximadamente 95-99% dos AGCC produzidos no intestino grosso são absorvidos (VON ENGELHARDT et al., 1989). A quantidade de AGCC absorvidos por kg de peso corporal varia consideravelmente entre espécies; no suíno é de 95 mmol por dia, dependendo da eficiência da superfície epitelial (STEVENS et al., 1980).

A absorção passiva de AGCC no trato gastrointestinal tem lugar principalmente por difusão não iônica na forma solúvel em lipídeos (BUGAUT, 1987), portanto as taxas de absorção devem aumentar com o comprimento da cadeia, bem como com a diminuição do pH da digesta (RONNAU et al., 1989). STEVENS & HUME (1998) observaram que o grau de solubilidade lipídica aumentou por um fator de 2,8 a cada grupo de CH_2 adicional.

A taxa de absorção depende do pKa e do pH luminal; quando o pH luminal é abaixo do pKa, AGCC são absorvidos rapidamente. O valores de pKa do acetato, propionato e butirato são 4,75; 4,87 e 4,81, respectivamente. Uma vez que o pH luminal no íleo, cólon e ceco do suíno é geralmente maior do que 6,5 a maioria dos AGCC permanecem na sua forma dissociada e são mal absorvidos (PARTANEN & MROZ, 1999). Contudo, existe a presença de um microclima constante de pH na superfície luminal de animais monogástricos; sendo suas concentrações de H^+ independentes das concentrações de H^+ no fluido luminal na gama do pH fisiológico, assim, as concentrações de AGCC não dissociados no microclima podem ser constantes e independentes do pH no fluido luminal (VON ENGELHARDT,1989).

Este microclima é necessário para a protonação dos AGCC, para difundirem passivamente através da membrana celular na forma não ionizada (BUGAUT, 1987). No pH neutro, 99% dos AGCC estão presentes como ânions na digesta (RONNAU et al., 1989). A fonte da maioria dos íons H+ necessários para a absorção de AGCC na forma não dissociada pode ser fornecida a partir do ganho de Na +- H+ e HCO- (RASCHKA & DANIEL, 2005), na membrana apical do cólon distal a partir da bomba de K +- H+ (RECHKEMMER et al., 1996) e uma pequena fração da solução luminal (RONNAU et al., 1989). A troca iónica Na ± H pelas células epiteliais pode diminuir o pH local na superfície de absorção, conduzindo à mudança do estado iônico para o ácido livre, e a absorção do produto por causa do gradiente de concentração entre as células epiteliais luminais e o fluido luminal (CHANG & RAO, 1994).

Na mucosa gastrointestinal, os AGCC podem servir para síntese de lipídeos mais complexos, ou ser parcialmente metabolizados ou catabolizados a CO_2 (BUGAUT, 1987). AGCC são metabolizados dentro do colonócito pela via de β-oxidação, com a necessidade da presença de coenzima A para produzir energia, entrando no ciclo de Krebs (D'ARGENIO et al., 1994). Acetato

e butirato absorvidos, incluindo os que são formados no metabolismo intermediário, entram no ciclo do ácido cítrico, após serem convertidos em acetil-CoA (PARTANEN & MROZ, 1999). A principal via metabólica da propionato é succinil-CoA com metilmalonil-CoA como intermediário (KOZLOSKI, 2009).

AGCC difundem livremente através do citosol das mucosas e entram no sangue venoso, permanecendo na forma de ácidos graxos livres (BUGAUT, 1987). Mínimo transporte de AGCC ocorre no sistema linfático (KIDDLE et al., 1951). À parte da mucosa do cólon, o fígado é o principal sítio de metabolismo AGCC (SCHEPPACH, 1994).

O acetato é utilizado como uma fonte de combustível no músculo cardíaco esquelético (SCHEPPACH et al., 1991) e na mucosa do intestino (GARDINER et al., 1995). Os AGCC, em especial o butirato, são a fonte de combustível preferida para colonócitos (CAMPBELL et al., 1997). O metabolismo dos ácidos graxos de cadeia curta fornece a maior parte da energia requerida pelo epitélio do intestino grosso (SAKATA & YAJIMA, 1984). Absorção de AGCC no intestino grosso pode representar de 10 a 31% da energia de manutenção exigido pelos suínos (STEVENS & HUME, 1998).

Ácidos orgânicos podem reduzir a carga de coliformes ao longo do trato gastrointestinal (LEE & GAMMELL, 1972) e, assim, reduzir a mortalidade de leitões. Nem todos estes ácidos tem efeitos na flora intestinal, os ácidos orgânicos associados à atividade antimicrobiana específica são ácidos de cadeia curta, (C1-C7), ácidos fracos e parcialmente dissociados (DIBNER & BUTTIN, 2002). A eficácia da inibição microbiana de um ácido é dependente do seu valor de pKa, os ácidos orgânicos com valores de pKa mais elevados são conservantes mais eficientes e sua eficácia antimicrobiana é geralmente melhorada com o comprimento da cadeia e aumento do grau de insaturação (FOEGEDING & BUSTA, 1991).

Cada ácido tem o seu próprio espectro de atividade antimicrobiana. Alguns ácidos, tais como ácido fórmico, ácido propiónico, e ácido butírico tem amplas atividades antimicrobianas e podem ser eficazes contra bactérias e fungos, incluindo leveduras (PARTANEN & MROZ, 1999). Misturas de ácidos na dieta podem ser mais vantajosas do que ácidos individuais isoladamente, como resultado de uma maior amplitude de atividades (WALSH et al., 2007).

Testando a sobrevivência de *Salmonella enterica sorovar typhimurium* durante a exposição de 100nM de ácidos graxos de cadeia curta, KWON & RICKE (1998) observaram que o butirato e o valerato têm maior eficácia antimicrobiana do que o propionato e o acetato.

A ação antimicrobiana ocorre por meio da depressão do pH da dieta; no entanto, a capacidade dos ácidos orgânicos em alterar as formas não dissociado e dissociado, dependendo do pH do meio ambiente, tornam-os eficazes agentes antimicrobianos. Quando o ácido está na forma não dissociada, pode difundir-se livremente através da membrana semipermeável de microrganismos para o citoplasma da célula. Uma vez no interior da célula bacteriana, local em que o pH é mantido próximo de sete, o ácido irá se dissociar causando acidez no citoplasma, suprimindo as reações enzimaticas e os sistemas de transporte de nutrientes e inibindo a atividade de decarboxilases e catalases, necessárias para crescimento e multiplicação celular (PARTANEN & MROZ, 1999). Além disso, o processo de transporte do próton livre da célula requer energia, que irá contribuir para reduzir a disponibilidade de energia para a proliferação, resultando em bacteriostase (DIBNER & BUTTIN, 2002).

Alguns agentes patogénicos gastrointestinais desenvolveram sistemas complexos para responder a exposição de condições extremas de ácido no estômago e de ácidos orgânicos dentro do intestino delgado (MERRELL & CAMILLI, 2002). Um mecanismo importante de adaptação de *Salmonella typhimurium* é a resposta de tolerância à ácido (ATR), em que a resistência ao ácido é aumentada após a exposição aos AGCC, reforçada pelo pH ácido e pela anaerobiose (KWON & RICKE, 1998). A ATR foi melhor caracterizada em *Escherichia coli* e *Salmonella t*yphimurium, demonstrando que a exposição ao pH que causa injúria subletal induz a expressão de numerosos proteínas de choque ácido, que promovem a sobrevivência de bactérias a extremos ácidos (FOSTER, 2000).

Os organismos que permitem redução do pH intracelular são mais resistentes a ácidos graxos voláteis do que organismos que tentam manter um pH intracelular neutro, a acumulação de ânions é responsável pelo efeito da toxicidade de ácidos da fermentação em pH baixo (RUSSELL, 1992). Acumulação de ânions pode explicar a inibição de *Cl. acetobutylicum* por

butirato, quando o crescimento cessou, a concentração de butirato externo foi de apenas 28,3 mmol/L, mas a concentração aniónica interna de butirato foi de 161 mmol/L (TERRACCIANO & KASHKET, 1986).

Resistência a ácidos fracos conservantes pode assumir várias formas. Prótons e ânions conservantes podem ser ejetados de *S. cerevisiae* por H +- ATPase e bomba Pdr12p (PIPER et al., 1998). Os ácidos podem ser removidos por metabolismo (MOLLAPOUR & PIPER, 2001). Descarboxilação de ácido sórbico em 1,3-pentadieno foi relatado em leveduras (CASAS et al., 2004), facilitada pela descarboxilase do ácido fenilacrílico codificada pelo gene padA1 em *Aspergillus niger* (STRATFORD et al., 2009).

A explicação para a levedura *C. krusei* resistir a um ambiente hostil e manter a condição de quase homeostase do pH pode ser explicado pelo fato da sua membrana plasmática ser menos permeável à ácido láctico, por ter maior capacidade de tamponamento do citosol ou ainda por apresentar resposta mais imediata da atividade H +- ATPase e maior quantidade endógena de reservas de energia (HALM et al., 2004).

A relação entre o efeito positivo dos ácidos orgânicos no crescimento dos leitões e o aumento da ingestão de alimentos é conhecida (PARTANEN & MROZ, 1999). A melhora no crescimento de suínos alimentados com dietas acidificadas tem sido atribuída à melhora na palatabilidade (BOLDUAN et al., 1988). Ao mesmo tempo, alimentação com doses elevadas de ácidos orgânicos pode reduzir o consumo de ração e o crescimento, pela redução da aceitação do alimento (ROTH & KIRCHGESSNER, 1998).

Para RADECKI et al. (1988) o melhor desempenho dos leitões alimentados com rações contendo ácidos orgânicos é decorrente da acidificação do conteúdo gástrico, compensando o baixo nível de secreção de ácido clorídrico em leitões desmamados, auxiliando-os nos processos digestivos e minimizando o comprometimento no crescimento, marcante nesta fase. De acordo com DIBNER & BUTTIN (2002), o benefício do ácido orgânico no desempenho ocorre pela estimulação direta da proliferação celular gastrointestinal.

Os ácidos orgânicos aumentam a digestibilidade de proteínas, por reduzirem o pH do estômago e permitir maior ativação da pepsina, junto à

menor secreção de suco gástrico e menor diluição do bolo alimentar (SILVA JUNIOR, 2009). A adição de ácido fórmico, de ácido fumárico, ou de ácido n-butírico na quantidade de 300 mEq de ácido/kg para suínos em crescimeto melhorou significativamente a absorção de aminoácidos essenciais (exceto para a arginina, a metionina, e cisteína) por unidades de até 5,4%, e a digestibilidade ileal da proteína bruta tendeu a aumentar (MROZ et al., 2000).

PARTANEN & MROZ (1999) relataram melhora na digestibilidade dos nutrientes com uso de ácidos orgânicos, para suínos em crescimento (20 a 40 kg), em particular em proteína e de energia, atribuída a diminuição do pH, resultando em maior dissociação de compostos minerais; redução da taxa de esvaziamento gástrico; formação de complexos de quelatos minerais, que são facilmente absorvidos e melhoram a saúde do intestino dos animais, por sua atividade antimicrobiana. Para MAYER (1994), o aumento da acidez da digesta reduz a taxa de esvaziamento gástrico, aumentando o tempo para a hidrólise de proteínas no estômago.

ECKEL et al. (1992) descrevem redução significativa de amônia no estômago, no intestino delgado e no ceco de leitões desmamados alimentados com 1,25% de ácido fórmico, decorrente da redução da desaminação microbiana de aminoácidos, tornando-os disponíveis para absorção, resultando em aumento da digestibilidade e redução da excreção de nitrogênio amoniacal. MROZ et al. (1997) relataram melhorias significativas de até 5% na digestibilidade ileal aparente da proteína bruta e aminoácidos essenciais da dieta, por ácidos fórmico, fumárico e n-butírico; as digestibilidades de matéria seca, matéria orgânica, cálcio (até 8,9%), e fósforo (até 7%) também foram melhoradas; os melhores resultados foram observados com ácido n-butirico, resultando em uma maior retenção de cálcio e fósforo do que a dieta basal; estas melhorias na digestibilidade foram associadas com melhorias significativas na média de ganho de peso diário.

Os ácidos orgânicos podem melhorar a absorção dos minerais (JONGBLOED et al., 2000), embora resultado contrário também têm sido relatado (RADECKI et al., 1988). A influência no transporte intestinal de cálcio foi verificada *in vitro* por MINEO et al. (2001) que, utilizando ácido acético, propiônico e butírico juntos ou de forma isolada em preparações de tecido da mucosa do ceco e cólon de ratos, comprovaram o efeito positivo dos ácidos

graxos de cadeia curta no mecanismo de transporte paracelular de cálcio no intestino.

A presença de ácidos graxos de cadeia curta no intestino grosso, diminui o pH intraluminal (RASCHKA & DANIEL, 2005) e aumenta a solubilidade do cálcio (YOUNES et al., 2001), gerando um gradiente de concentração de cálcio entre a mucosa e a serosa intestinal, promovendo a entrada passiva de cálcio através do transporte transepitelial (RASCHKA & DANIEL, 2005). A infusão de AGCC no cólon ou reto estimula a absorção de Ca em humanos *in vivo* (TRINIDAD et al., 1999). Perfusão luminal de AGCC também aumenta absorção Ca no cólon em ratos, AGCC podem estimular o fluxo de cálcio através da ativação de um transportador de Ca2+/+2H (LUTZ & SCHARRER, 1991).

Ácidos orgânicos complementares podem ligar-se a vários cátions do intestino e atuar como agentes quelantes (PARTANEN & MROZ, 1999), resultando no aumento da absorção intestinal de minerais (JONGBLOED, 2000). AGCC são prontamente absorvidos e aumentam o fluido do cólon e a absorção de sódio (BOND & LEVITT, 1976). AGCCs podem diminuir as perdas de fluidos das fezes que ocorrem como consequência de alterações da absorção intestinal de carboidratos, sendo importantes na regulação de fluido e na absorção de eletrólitos no intestino grosso (BINDER & MEHTA, 1989).

Dois modelos foram propostos para explicar a absorção de AGCC e sua estimulação na absorção de Na e Cl, a absorção da forma protonada de AGCC por difusão não iônica e o processo de troca AGCC-HCO (BINDER & MEHTA, 1989). A formação da forma protonada de AGCC foi atribuída à hidratação do CO_2, por anidrase carbônica, embora se tenha sugerido que o processo de troca de Na-H na membrana apical também pode ser responsável (BUGAUT, 1987). À medida que o pH no interior da célula epitelial intestinal é mais elevado do que no microclima, o AGCCs ionizados desassociam para reformar prótons e AGCC ionizados em parte, por *turnover* da membrana apical, por trocas de Na-H e Cl-AGCC, respectivamente, o resultado é o aumento da absorção de Na e de Cl (BINDER & MEHTA, 1989).

AGCC afetam a proliferação das células da mucosa, a secreção de mucina, a motilidade ileal e cecal, o fluxo de sangue na mucosa do cólon e a diferenciação celular dos colonócitos (SCHEPPACH, 1994). AGCC

estimularam a proliferação das células do jejuno, cólon e ceco de ratos, em estudos *in situ*, os feitos do AGCC foram dependentes da dose, e variaram entre ácidos (butirato > acetato > propionato), exigindo um mecanismo sistêmico mediador; independente do pH luminal baixo (SAKATA, 1987). Ao contrário, nos estudos *in vivo*, AGCC geralmente inibiram a proliferação, dependente da dose, de células em cultura (SAKATA & YAJIMA, 1984) e do tecido cecal isolado em ratos (SAKATA, 1987). AGCC, especialmente butirato, estimulam a expressão de genes e a diferenciação pós-mitóticas em diversos tipos de células (SAKATA & YAJIMA, 1984).

Secreções pancreáticas também são conhecidas por estimular a proliferação da mucosa do intestino delgado (AI-MUKHTAR, 1983). Ácidos orgânicos complementares em conjunto com os ácidos orgânicos produzidos intraluminalmente podem modular secreções endócrinas/exócrinas pancreáticas e intestinais (HARADA et al., 1986), na ordem de ácido fórmico > ácido láctico > pirúvico > ácido acético > ácido butírico > ácido propiónico. A acidificação do conteúdo duodenal em suínos com ácidos monocarboxílicos afeta secreção biliar e pancreática através de liberação de secretina (HARADA et al., 1986) e de insulina (GALFI & BOKORI, 1990). Doses suprafisiológicas de acetato, propionato ou n-butirato podem estimular respostas plasmáticas de glucagon em leitões em crescimento (SANO et al., 1995).

LUPTON et al. (1985) sugeriram que o efeito estimulador do pH baixo no lúmen epitelial na proliferação do intestino grosso depende da relação entre o pH do lúmen e a proporção de células na fase S do ciclo celular. Já para YAJIMA (1985), o mecanismo receptor de AGCC no cólon de ratos é específico para AGCC e não é sensível aos prótons. LEEK & HARDING (1975) mostraram que um reflexo vago-vagal transmite sinais a partir de um mecanismo receptor em ruminantes. SAKATA & VON ENGELHARDT, (1983) sujeriram que o sistema nervoso autônomo medeia alguns dos efeitos do AGCCs sobre a proliferação da mucosa em um estudo de toxicidade aguda na proliferação epitelial em ratos.

A superprodução e/ou acumulação de AGCC no intestino, devido à digestão bacteriana, no entanto, pode ser tóxico para as células da mucosa intestinal e causar lesão da mucosa (SANGILD et al., 2006). Superprodução e/ou acúmulo de AGCC no intestino e a incapacidade para limpar os AGCC

intraluminais, por causa da motilidade gastrointestinal deficiente em crianças prematuras, contribuem para patogénese neonatal da enterocolite necrosante (NAFDAY et al., 2005).

AGCC estimulam a liberação de muco pela mucosa em ratos (SAKATA & SETOYAMA, 1995), por efeitos locais nos receptores quimiossensíveis ligados aos nervos colinérgicos, que são responsáveis pela liberação de muco epitelial da cripta (SHIMOTOYODOME et al., 2000).

Os AGGCC afetam a motilidade colónica. Propionato, n-butirato e n-valerato aumentaram a resposta contrátil de segmentos médio e distal, mas não proximais, do cólon *in vivo* de ratos, pelo um reflexo entérico envolvendo nervos locais sensoriais e colinérgicos, com o limiar de concentração de 0,04 mM e a saturação concentração de 1,0 mM; ácidos acético e láctico são dificilmente eficazes (YAJIMA, 1985).

Dietas suplementadas com ácidos orgânicos reforçam as células mononucleares do sangue periférico e linfócitos mesentéricos, a proliferação de Concanavalina A e a estimulação de mitose dos linfócitos, proporcionando identificar a seletiva imuno-regulação das propriedades da dieta suplementada com ácidos orgânicos, com efeito sobre a imunidade celular (LEE et al., 2007).

Um fator de influência na resposta de ácidos orgânicos é a capacidade de tamponamento da dieta. A capacidade tamponante da ração foi definida como a capacidade desta ração em resistir a mudança do pH após a adição de qualquer ácido ou uma solução básica (JASAITIS et al., 1987). Para MAKKINK, (2001), a capacidade de tamponamento é a medida da quantidade de ácido (0,1 M HCl) necessária para alcançar um pH determinado (normalmente 3 a 5) de uma amostra de 10g do ingrediente.

A capacidade de tamponamento do ácido é menor em cereais, intermediária ou elevada em alimentos protéicos e alta em fontes de minerais, exceto em cálcio e fosfato monossódico (JASAITIS et al., 1987). Nos resultados relatados por JUNG & BOLDUAN (1986) o alto conteúdo mineral na dieta aumentou o pH gástrico e a atividade microbiana. Elevada capacidade tampão da dieta, como resultado da suplementação de cálcio inorgânico e (ou) de fontes de fósforo levam a menor digestibilidade ileal da matéria orgânica e proteína bruta (BLANK et al., 1999).

Ácidos orgânicos reduzem a capacidade de tamponamento da dieta, permitindo a acidificação mais eficaz da digesta no intestino delgado, o que é fundamental para a atividade efetiva das enzimas digestivas e controle da proliferação microbiana (DIBNER & BUTTIN, 2002).

A resposta de suínos a ácidos orgânicos diminui com o aumento da idade do animal, e o desenvolvimento da secreção gástrica (KIRCHGESSNER & ROTH, 1982). Desafios impostos pelas condições ambientais e de alojamento existentes, podem favorecer e potencializar a ação dos ácidos orgânicos no desempenho de leitões desmamados (RADCLIFFE et al., 1998).

Outro fator que afeta a magnitude da resposta para os ácidos orgânicos é a natureza dos ingredientes (DIBNER & BUTTIN, 2002). A adição de ácidos orgânicos é mais efetiva em melhorar o desempenho dos leitões desmamados quando realizada em dietas simples, à base de cereais e farelo de soja, do que em rações de maior complexidade, com proteínas de origem animal e produtos lácteos (SILVA et al., 2008). Os ingredientes dietéticos podem diminuir o efeito do ácido orgânico por fermentação intestinal da lactose contida no soro de leite, produzindo ácido lático e ocultando o efeito adicional do ácido orgânico, particularmente em leitões desmamados (DIBNER & BUTTIN, 2002).

A ativação ou a inibição de diferentes vias metabólicas com diferentes ácidos orgânicos estão envolvidas nas alterações observadas com acidificante e não apenas no efeito simples causado pelo pH mais baixo (CASTILLO et al., 2006), o que poderia explicar a complexidade diversa e, por vezes, efeitos contraditórios de acidificantes diferentes nas populações microbianas descritas na literatura (CANIBE et al., 2001).

2.1.1 Butirato de sódio

Muitos ácidos orgânicos estão disponíveis na forma de sais de sódio, potássio ou cálcio, tendo a vantagem de serem geralmente inodoros e mais fáceis de manusear no processo de alimentação, devido a sua forma sólida e menos volátil (CANIBE et al., 2001), são menos corrosivos e podem ser mais solúveis em água do que os ácidos livres (PARTANEN & MROZ, 1999). Em ensaios experimentais, o butirato de sódio é frequentemente usado

em vez de ácido butírico, uma vez que é sólido, estável e de odor menos intenso (KOTUNIA et al., 2004).

Alguns sacárideos são materiais não digeríveis que atingem o intestino grosso, no entanto, em apenas alguns poucos casos os sacarídeos estimulam a produção de butirato no intestino grosso; indicam-se o ácido glucônico, tributirina, lactitol, glicose e sorbitol como estimuladores da produção de butirato (MORTENSEN et al., 1988). Leitões desmamados (PIVA et al., 2002b), alimentados com tributirina e lactitol como precursores de ácido butírico, tiveram melhora no crescimento e diminuição da profundidade das criptas cecais, a concentração de ácido butírico cecal não foi afetada.

Ácido butírico, um ácido alifático de carbono 4-carboxílico, tem formula molecular $C_4H_8O_2$ (Figura 1), ocorre a partir da acetil-CoA dependente catabólico da oxidação de ácidos graxos saturados de cadeia longa (WIDMER et al., 1996). Bactérias produtoras de butirato estão limitadas a gêneros fermentadores de açúcar, como *Clostridium spp*., *Eubacterium spp*., *Fusobacterium spp.* e *Butyrivibrio spp*. e que utilizam o ácido, como *M. elsdenii* (TSUKAHARA et al., 2002).

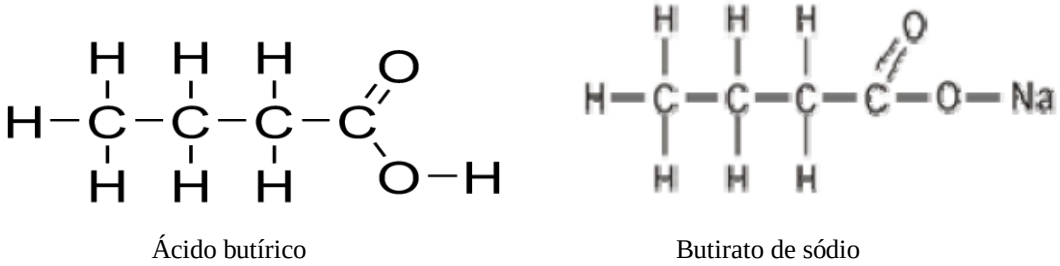

FIGURA 1- Fórmula molecular do ácido butírico e do butirato de sódio

Clostridia e *Escherichia coli* sintetizam ácido butírico por uma enzima acil-CoA transferase (SRAMEK & FRERMAN, 1975). Em glândulas mamárias de cabras em lactação, o ácido butírico é sintetizado via sintetase de ácidos graxos de malonil-CoA e acetil-CoA (NANDEDKAR et al., 1969). Em glândulas mamárias de coelhos em lactação, crotonil-CoA é formado a partir de acetil-CoA através de uma inversão de b-oxidação, e em seguida, o ácido butírico é sintetizado a partir de crotonil-CoA por sintetase de ácido graxo (LIN & KUMAR, 1971).

Se outros tecidos sintetizam ácido butírico por vias análogas como as glândulas mamárias em lactação, pode-se especular que o ácido butírico seja formado em tecidos que são capazes de ativar a b-oxidação de ácidos graxos e que também contêm sintetase de ácido graxo (por exemplo, o fígado), evidencia- se, portanto, que o ácido butírico é produzido no leitão por tecidos não drenados no sistema porta hepático (KIEN et al., 2000).

Butirato pode ser absorvido rapidamente pelo tecido do estômago (BUGAUT, 1987), não podendo chegar intacto no trato digestório inferior e afetar o intestino (WEBER & KERR, 2008). Em suínos alimentados com 0,3% de butirato de sódio, verificou-se que o aumento dos níveis de butirato estava presente no estômago, mas não no jejuno (MANZANILLA et al., 2006). No entanto, AGCC podem ser revestidos em microencapsulados, e libertados lentamente durante o transporte no trato gastrointestinal, podendo alcançar o intestino delgado e cecos (VAN IMMERSEEL et al., 2004).

Fibra fermentável para suínos, na forma de trigo e centeio aumentou as concentrações plasmáticas periféricas de butirato (BACH KNUDSEN et al., 2005); portanto o butirato pode ser absorvido a partir do trato digestório e estar presente na circulação periférica (WEBER & KERR, 2008). Butirato é preferencialmente absorvido pelo epitélio do cólon, local em que é metabolizado ativamente para produzir energia (POIRIER et al., 1996). Butirato se encontra em alta concentração na circulação portal hepática (SMYTH et al., 1954) e é excretado no leite materno (MAIGA et al., 1995), suor e fezes (MCINTOSH et al., 1996). Ácido butírico não é transportado do intestino através da linfa de ratos (KIEN et al., 2000), no entanto, grande parte do ácido butírico produzido no rúmen ou lúmen do cólon é metabolizado pelo tecido do intestino ou do fígado (REILLY & ROMBEAU, 1993).

O butirato de sódio, sal de sódio do ácido butírico, se destaca por apresentar propriedades funcionais. A alimentação de butirato de sódio a 800 ppm para leitões nas primeiras oito semanas após o desmame apresentou efeitos apreciáveis no primeiro período de estudo (0 a 14 dias) com maior ganho de peso diário e maior consumo diário de ração; também aconteceu maior consumo de ração na segunda fase (15 - 35 dias), embora não tenha sido associado a um maior ganho de peso diário; esta perda de eficiencia alimentar esta ligada à eficaz resposta da arquitetura intestinal para butirato de

sódio apenas durante a primeira fase; o aumento do desempenho pode ser associado com o efeito benéfico do ácido butírico sobre a proliferação do epitélio intestinal (PIVA, 2002a). Isto tem maior valor biológico no desmame, quando o aumento do peso do intestino delgado e grosso é três vezes mais rápido do que o crescimento da massa do corpo inteiro (SAKATA & SETOYAMA, 1997).

GALFI & BOKORI (1990) observaram que butirato de sódio em 1700 ppm melhorou o ganho de peso diário, o consumo diário de ração e a eficiência alimentar de suínos em crescimento. A melhora no desempenho produtivo observado com ácido butírico pode estar relacionada com as alterações na microflora e sua provável interação com as exigências nutricionais dos animais (MANZANILLA et al., 2006).

A inclusão de 0,3% de butirato de sódio para leitões aumentou a eficiência alimentar (MANZANILLA et al., 2006) e o ganho de peso foi em média 1,5 vezes maior do que o tratamento controle (KOTUNIA et al., 2004). BIAGI et al. (2007) não encontraram efeito no desempenho de suínos recém desmamados alimentados com butirato de sódio.

O ácido butírico é um aditivo vulgarmente conhecido como fonte de metionina, mas é na verdade um ácido orgânico convertido em metionina no interior do corpo (DIBNER & BUTTIN, 2002). MACHINSKY et al. (2010) encontraram efeito da utilização de 0,3% de butitrato de sódio 85% (equivalente a 0,2% de ácido butítico) sobre o aumento da digestibilidade aparente da proteína bruta em suínos, o que pode ser explicada pela capacidade dos ácidos orgânicos reduzirem o pH gástrico; em meio ácido as enzimas proteolíticas estão mais ativas e há uma diminuição na taxa de esvaziamento, existindo mais tempo para a digestão protéica no estômago.

MROZ et al. (2000) observaram que a adição de ácidos fórmico, fumárico e butírico para suínos exerceram efeito positivo na retenção de cálcio. A estimulação da absorção de Na+ por absorção de AGCC no intestino foi relatada em suínos (ARGENZIO & WHIPP, 1979). O acoplamento AGCC e sódio fornece um mecanismo poderoso para a movimentação de água para fora do lúmen do intestino grosso, assim, a produção e a absorção de AGCC podem ser consideradas antidiarreicos (BRONNE & PANSU, 1998).

BINDER & MEHTA (1989) revelaram que a presença de butirato na mucosa estimula a eletroneutro absorção ativa de Na-Cl, levando à especulação de que este aumento seja resultado da absorção da forma não iónica de butirato e sua posterior reciclagem através da membrana apical por trocas paralelas de Na-H e Cl-butirato. Entre os AGCC, o butirato é considerado o mais eficaz na absorção de sódio e absorção de água (HOLTUG et al.,1992).

GALFI & BOKORI (1990) observaram aumento do comprimento das microvilosidades do íleo e das profundidades das criptas no ceco de suínos em crescimento alimentados com 0,17% de Na-butirato. PIVA et al., (2002b) tiveram efeito positivo do ácido butírico nas estruturas dos vilos ileais e criptas cecais. Suínos em crescimento alimentados com butirato revestido por lipídeos tiveram aumento da área das vilosidades do intestino delgado (CLAUS et al., 2006). SALMINEN et al. (1998) relataram que butirato de sódio aumentou significativamente a proliferação de células estaminais nas criptas intestinais.

Em MANZANILLA et al., (2006) o ácido butírico diminuiu a relação altura do vilo/profundidade da cripta através de um aumento na profundidade da cripta; nos animais tratados com ácido butírico, a relação mais baixa apareceu em coincidência com a diminuição do número linfócitos intra epiteliais e de núcleos de linfócitos na lâmina. JIANG et al. (2000) relacionam maior número de núcleos em lâmina à maior ativação do sistema imunitário. Linfócitos apresentam importantes funções na regulação da renovação do epitélio, crescimento e diferenciação (MATSUMOTO et al., 1999).

Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) desempenham papel fundamental como fonte de energia, sendo o ácido butírico mais facilmente oxidado a CO_2 entre todos os AGCC no intestino (FLEMING & GILL, 1997). O ácido butírico é a fonte de energia principal para as células epiteliais do cólon de ratos, sendo mais pronunciado no cólon distal do que no colon proximal em colonócitos, (ROEDIGER, 1980) mesmo na presença de glucose e glutamina (DARCY-VRILLON et al., 1993). Há também evidências de que em humanos, o ácido butírico, em vez de glucose e glutamina, seja o substrato de combustível preferido da mucosa do íleo terminal (CHAPMAN et al., 1995). A utilização preferencial de butirato na mucosa do intestino grosso do suíno *in vivo* tem sido relatada (RERAT et al., 1985).

Para KOTUNIA et al. (2004), o butirato de sódio apresentou efeito trófico no músculo liso no duodeno, jejuno e íleo proximal de suínos, sugerindo que a hipertrofia pode envolver não só a túnica mucosa do intestino; em consequência, a motilidade do intestino delgado pode ser aumentada, alterando a taxa de passagem, a digestão e absorção. A concentração plasmática de colecistoquinina foi cerca de quatro vezes mais elevada em leitões suplementados com butirato de sódio em relação ao controle (KOTUNIA et al., 2004). A colecistoquinina endógena desempenha papel significativo na regulação da estrutura, desenvolvimento e função do pequeno intestino de bezerros e suínos (BIERNAT et al.,1999). FRANKEL et al. (1994) sugerem a participação de nervos autónomos mediando os efeitos troficos dos AGCC no jejuno; em seu estudo, os níveis de gastrina jejunal foram significativamente aumentados, sugerindo que a gastrina pode ser outra mediadora na indução dos AGCC no trofismo jejunal.

O butirato contribui para a manutenção da integridade intestinal por suprimir a secreção de urocinase das células da cripta do cólon (GIBSON et al., 1994). Além disso, o acetoacetato de 3-hidroxibutirato estimula a síntese de proteínas em enterócitos isolados (HIGASHIGUCHI et al., 1993).

Usando um modelo de monocamada de células Caco-2 de barreira intestinal, o efeito de butirato na barreira intestinal é paradoxal. Butirato em baixas concentrações (2 mM) promove a função da barreira intestinal, medido por um significativo aumento da resistência elétrica transepitelial e significativa diminuição na permeabilidade de inulina. Butirato em concentrações elevadas (8 mM) reduz a resistência elétrica transepitelial e aumenta a permeabilidade de inulina. O comprometimento da função da barreira intestinal induzida por elevadas concentrações de butirato está relacionado com a citotoxicidade induzida pelo butirato, levando a apoptose e a redução do número de células Caco-2 viáveis (PENG et al., 2007).

Butitaro de sódio não afetou as contagens bacterianas de clostrídios, enterobactérias e bactérias produtoras de ácido lático no jejuno, íleo e ceco de leitões abatidos com 10 semanas de idade (BIAGI et al., 2007). GALFI & BOKORI (1990), usando 0,17% de n-butirato sódio na dieta de leitões desmamados, observaram aumento da concentração de butirato ileal e

alterações na microbiota ileal, com diminuição de coliformes e aumento de lactobacilos.

2.2. Enzimas na alimentação de suínos

Os leitões consomem pouco alimento sólido antes do desmame, necessitando de tempo pós-desmame, para aumentar a capacidade secretora e o tamanho do trato gastrointestinal para lidar com alimentos sólidos, período caracterizado por baixo crescimento dos animais, atribuído à redução da atividade das enzimas dietéticas, prejudicando a digestibilidade (OFFICER, 1995).

Somado a isso, temos a busca por menor custo de produção e alto desempenho zootécnico; a necessidade de alcançar altos níveis de ingestão de ração, sem predispor o leitão à problemas digestivos e fornecer nutrientes suficientes para atender à exigência do rápido crescimento dos animais; o que implica na busca de uma ração altamente digestiva, na inclusão de alimentos de elevada densidade nutricional, principalmente em energia e proteína (SILVA JUNIOR, 2009).

Esta elevada densidade nutricional pode sobrecarregar o sistema digestivo, causando perdas no aproveitamento e má absorção de nutrientes (SILVA JUNIOR, 2009), propiciando um meio rico em substratos para bactérias patogênicas, que aumentam a incidência de diarreia e outras enfermidades intestinais (OETTING et al., 2006).

A nutrição animal emprega a suplementação da dieta com proteases, lipases e amilases, visando um auxílio adicional para as enzimas equivalentes endógenas dos animais, por vezes sobrecarregadas devido às formulações modernas, muito ricas em energia, proteínas ou outros nutrientes, especialmente em animais jovens como os leitões, que podem ter níveis menores de produção de enzimas digestivas (SILVA JUNIOR, 2009).

As enzimas na alimentação animal são hidrolases, utilizadas como aditivos alimentares com o objetivo de complementar a atividade endógena do aparelho digestivo, incluindo proteases e amilases; remover fatores

antinutricionais, como β-glucanos e o ácido fítico de alimentos problemáticos; e tornar certos nutrientes mais disponíveis para a absorção (WALSH, 1993).

Foi assumido que enzimas exógenas teriam capacidade de melhorar a digestibilidade das rações para suínos, pela degradação de compostos presentes em ingredientes de origem vegetal que interferem negativamente na digestão dos alimentos. A suplementação enzimática faria com que suínos alimentados com rações com níveis nutricionais reduzidos e suplementada com enzimas exógenas, considerando o incremento nutricional por elas proporcionado, tivessem os mesmos ganho de peso e conversão alimentar e menor excreção de poluentes nas fezes do que animais alimentados com rações contendo maiores níveis nutricionais (RUIZ, 2008).

Para conseguir o efeito positivo, as enzimas alimentares devem funcionar cataliticamente dentro do trato digestório. A maioria das enzimas alimentares de origem bacteriana tem exposição ótima em pH neutro. Enzimas de fungos apresentam atividade máxima em condições ácidas (pH 4,0-6,0). Enzimas microbianas funcionam de forma mais eficiente no interior do intestino delgado, onde os valores de pH estão próximos do neutro, embora as condições de pH mais baixos possam ser encontradas nas zonas superiores do intestino delgado perto do estômago. Portanto, as misturas de enzimas de fontes de fungos e bactérias são frequentemente incluídas na alimentação para assegurar a atividade ao longo de um amplo rspectro de pH (WALSH, 1993).

Enzimas para alimentação animal devem sobreviver ao pH baixo, as enzimas proteolíticas no trato digestório, bem como o calor e umidade encontradas no processamento de alimentos para animais. O bolo alimentar pode proporcionar proteção adicional de enzimas durante a sua passagem através do estômago. Quantidades consideráveis de atividade proteolítica endógena também estão associadas com o estômago. No entanto, pela sua própria natureza, a maioria das enzimas microbianas são resistentes ao ataque proteolítico (WALSH, 1993).

Diferenças de consistência nas respostas à suplementação enzimática em suínos estão relacionadas à idade dos animais (GDALA et al., 1997). Suínos mais jovens tendem mostrar mais resposta à suplementação enzimática (DIEBOLD et al., 2004), devido ao trato digestório e sistemas enzimáticos mais desenvolvidos em suínos mais velhos (JACELA, 2010).

A resposta à utilização de enzimas é maior sobre as matérias primas de baixa qualidade (BEDFORD et al., 1998). Recomenda-se que na realização de experiências para avaliar enzimas, as dietas sejam formuladas de modo que sejam deficientes em um nutriente particular (por exemplo, energia) potencialmente aumentada com a adição da enzima, sustentada pela idéia de que uma dieta que satisfaz completamente as necessidades nutricionais do animal não deixa espaço para a enzima exercer efeito comparável e mensurável (BEDFORD, 2002c).

Outro fator que pode influenciar o efeito potencial da enzima é o tamanho das partículas da dieta. Um modo proposto de ação das enzimas suplementares em dietas de suíno é a sua capacidade para ajudar a quebrar alimentos em frações menores, permitindo que as enzimas endógenas atinjam o substrato e exerçam seu efeito. No entanto, o efeito das enzimas exógenas pode ser limitado pela exposição aumentada de nutrientes causada pela quebra de componentes da parede celular durante a moagem (JACELA et al., 2010).

A atividade de complexos multienzimáticos é mais eficaz do que a atividade de uma enzima isolada (CAMPBELL & BEDFORD, 1992). A atividade das enzimas pode sofrer variações dependentes do substrato de crescimento, da estirpe selecionada, e das condições de cultura utilizadas em sua preparação (LEE et al., 1998).

É importante lembrar que os níveis de inclusão das enzimas devem refletir os níveis de substrato na alimentação. A compreensão mais abrangente da estrutura molecular de componentes da dieta deve facilitar o entendimento da seleção das atividades enzimáticas específicas, isto é, enzimas orientadas para os seus substratos. Nos casos em que coquetéis de várias enzimas são incorporados ao alimento, o coquetel deve complementar a composição da alimentação (WALSH, 1993).

As enzimas reduzem a viscosidade do bolo alimentar, aumentam a digestibilidade dos nutrientes e minimizam a capacidade tamponante da dieta. Quando descontrolados, estes fatores contribuem para desequilíbrio e perdas. A alta viscosidade da dieta promove má absorção, fermentação bacteriana prejudicial e perda de sais biliares. Alta capacidade tamponante aumenta a diluição das enzimas digestivas e reduz a digestibilidade da proteína bruta, aumentando o risco de problemas entéricos (SILVA JUNIOR, 2009).

As enzimas, assim como os promotores de crescimento, reduzem a carga de contaminação com bactérias prejudiciais ou perigosas no intestino dos animais, e aumentam a flora benéfica (SILVA JUNIOR, 2009); mediados pela digestão acelerada e melhorias na extração de nutrientes no intestino delgado, limitando o subtrato no íleo para crescimento bacteriano (BEDFORD, 2000b).

As enzimas também reduzem a contaminação ambiental relacionada com a produção animal pela redução dos teores de contaminantes ambientais como a amônia ou fosfato hidrossolúvel, que são liberados através das excretas dos animais (SILVA JÚNIOR, 1999) pela melhoria da digestão dos alimentos.

Para SILVA JUNIOR (1999) o efeito das enzimas é equivalente ao efeito dos AGCC em termos de ganho de peso e conversão alimentar; animais que recebem o uso de enzimas apresentam menores taxas de mortalidade, como resultado do efeito positivo no desempenho imune e saúde intestinal. A combinação de enzimas e AGCC apresenta resultados técnicos superiores ao uso isolado de um deles, porém o efeito combinado é menor do que a soma dos efeitos isolados dos dois método (BEDFORD, 2000a).

2.2.1 Protease

O mau aproveitamento das proteínas causa uma maior excreção de nitrogênio, que é um elemento poluidor e o desperdício da proteína, que é um nutriente caro (FIREMAN, 1987). As proteínas pouco digestíveis, ou com fatores anti-nutricionais, ou proteínas alergênicas podem ter seu uso potencializado através da utilização de proteases (CLASSEN, 1996).

DIERICK et al. (2004) adicionaram 0,05 e 0,01% de proteases à dieta (milho e soja) de leitões e verificaram melhoras na taxa de crescimento e conversão alimentar, além disso, o número de linfócitos intra-epiteliais e a profundidade da cripta foram reduzidos, resultando em maior altura de vilosidade e relação vilosidade: cripta, indicando o funcionamento saudável da mucosa quando a protease foi usada. MARSMAN et al. (1997) avaliaram o tratamento enzimático da soja com protease para frangos de corte, não

obtendo melhora no desempenho dos animais, no entanto o tratamento enzimático aumentou a digestibilidade ileal da proteína bruta.

GHAZI et al. (2002) trabalharam com farelo de soja pré-tratado com protease alcalina (isolado a partir de espécies de *Bacillus*) e protease ácida (isolado de *Aspergillus*). Em seguida, eles incorporaram o farelo de soja tratado (250g/kg da dieta) em rações para frangos de corte. Protease ácida melhorou o desempenho do pintainho de 7-28 dias de idade e aumentou a digestibilidade ileal aparente de nitrogênio e retenção de nitrogênio aparente ao longo do trato digestivo. Eles também conduziram dois experimentos *in vitro* usando farelo de soja pré-tratadas, em que o tratamento ácido protease melhorou a digestibilidade aparente do nitrogênio e a energia metabolizável verdadeira. Nenhuma resposta foi obtida utilizando preparações de protease isolada de *Bacillus* e ativos em neutro pH.

O'DOHERTY & FORDE, (1999) investigaram os efeitos da adição de ervilhas (400kg/kg de ração) tratadas com protease ativa em pH neutro para suínos em crescimento e terminação. A adição de protease não teve efeito sobre a digestibilidade dos nutrientes ou o conteúdo de energia digestível das dietas, mas melhorou o ganho de peso e conversão alimentar dos suínos. Soja tratada com protease ativa em pH neutro *(Bacillus* subtilis) não afetou a digestibilidade ileal aparente (CAINE et al. 1997a) e verdadeira (CAINE et al. 1997b) de proteína bruta e aminoácidos em leitões recém desmamados.

4. REFERÊNCIAS

1. AI-MUKHTAR M,Y.T.; SAGOR, G.R.; GHATI, M.A. The role of pancreatic secretico-biliary secretions in intestinal adaptation after resection and its relationship to enteroglucagon. **British Journal of Surgery**, v. 70, p. 398-400, 1983.

2. ARGENZIO R. A.; WHIPP, S. C. Inter-relationship of sodium, chloride, bicarbonate and acetate transport by the colon of the pig. **Journal of Physiology**, v. 295, p. 365-381, 1979.

3. BACH KNUDSEN,K. E. ; SERENA, A.; KJAER, A.K. B.; JORGENSEN, H.; ENGBERG, R. Rye bread enhances the production and plasma concentration of butyrate but not the plasma concentrations of glucose and insulin in pigs. **Journal of nutrition**, v. 135 n. 7, p. 1696-704, 2005.

4. BEDFORD, M.R.; SCOTT, T.A.; SILVERSIDES, F.G.; CLASSEN, H.L.; SWIFT, M.L.; PACK, M. The effect of wheat cultivar, growing environment and enzyme supplementation on digestibility of amino acids by broilers. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 78, p. 335-342, 1998.

5. BEDFORD, M.R. Removal of antibiotic growth promoters from poultry diets: implications and strategies to minimise subsequente problems. **Poultry Science**, v.56, p.347-365, 2000a.

6. BEDFORD, M.R. Exogenous enzyme in monogastric nutrition – their current value and future benefits. **Animal Feed Science Technology**, v.86, p.1-13, 2000b.

7. BEDFORD, M. R. The foundation of conducting feed enzyme research and the challenge of explaining the results. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 11, p. 464- 470, 2002c.

8. BIAGI, G.; PIVA, A.; MOSCHINI, M.; VEZZALI, E.; ROTH, F.X. Performance, intestinal microflora, and wall morphology of weanling pigs fed sodium butyrate. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 1184-1191, 2007.

9. BIERNAT, M.; ZABIELSKI, R.; SYSA, P.; SOSAK-SWIDERSKA, B.; LE HUEROU-LURON I.; GUILLOTEAU, P. Small intestinal and pancreatic microstructures are modified by an intraduodenal CCK-A receptor antagonist administration in neonatal calves. **Regulatory Peptides**, v. 23, n. 85, p. 77-85, 1999.

10. BINDER, H. J.; MEHTA, P. Short-chain fatty-acids stimulate active sodium and chloride absorption in vitro in the rat distal colon. **Gastroenterology**, v. 4, n. 96, p. 989-996, 1989.

11. BLANK, R.; MOSENTHIN, R.; SAUER, W. C; HUANG, S. Effect of fumaric acid and dietary buffering capacity on ileal and fecal amino acid digestibilities in early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 2974-2984, 1999.

12. BOLDUAN, VON G.; JUNG, H.; SCHNABEL, E.;SCHNEIDER, R. Recent advances in the nutrition of weaner piglets. **Pig News and Information**, v. 9, p. 381-385, 1988.

13. BOND, J.H.; LEVITT, M.D. Fate of soluble carbohydrate in the colon of rats and man. **Journal of Clinical Investigation**, v. 57, p. 1158-64, 1976.

14. BRONNER, F.; PANSU, D. Nutritional aspects of calcium absorption. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 9-12, 1999.

15. BUGAUT, M. Occurrence, absorption and metabolism of short chain fatty acids in the digestive TRACT OF MAMMALS. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 86B, n. 3, p. 439-472, 1987.

16. CAINE, W.R.; SAUER, W.C.; TAMMINGA, S.; VERSTEGEN, M. W. A.; SCHULZE, H. Apparent ileal digestibilitie s of amino acids in newly weaned pigs fed diets with protease-treated soyabean meal. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2962-2969, 1997a.

17. CAINE, W.R.; TAMMINGA, S.; VERSTEGEN, M.W.A.; SAUER, W. C.; SCHULZE, H. Endogenous recoveries and tru ileal digestibilities of amino acids in newly weaned pigs fed diets with protease-treated soyabean meal. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2970-2979, 1997b.

18. CAMPBELL, J.M.; FAHEY Jr., G.C.; WOLF, B.W. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 127, p. 130-136, 1997.

19. CAMPBELL, G.L; BEDFORD, M.R. Enzymes applications for monogastric feed: A review. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 449-466, 1992.

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

21. CASAS, E.; ANCOSB B.; VALDERRAMAA, M.J.; CANOB, P.; PEINADO, J.M. Pentadiene production from potassium sorbate by osmotolerant yeasts. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 93-96, 2004.

22. CASTILLO, M.; MARTIN-ORÚE, S. M.; ROCA, M.; MANZANILLA, E. G.; BADIOLA, I.; PEREZ, J. F; GASA, J. The response of gastrointestinal microbiota to the use of avilamycin, butyrate, and plant extract in early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 2725-2734, 2006.

23. CHANG E.B.; RAO M.C. Intestinal water and electrolyte transport. Mechanisms of physiological and adaptive responses. In: JOHNSON, L. R.; ALPERS, D. H.; CHRISTENSEN, J.; JACOBSEN, E. **Physiology of the Gastrointestinal Tract**. 3 ed. New York: Lippencott Raven Press, 1994. p. 2027-2075.

24. CHAPMAN, M. A.; M. GRAHN, M. F.; HUTTON, M.; WILLIAMS, N. S. Butyrate metabolism in the terminal ileal mucosa of patients with ulcerative colitis. **British Journal of Surgery***,* v. 82, p.36-38, 1995.

25. CHESSON, A. Supplementary enzymes to improve the utilization of pig and poultry diets. In: **Recent advance in animal nutrition**, Butterworths, 1987, p.71-89.

26. CLASSEN, H.L. Cereal grain starch and exogenous enzymes in poultry diets. **Animal Feed Science Technology**, v. 62, p. 21-27. 1996.

27. CLAUS, R.; GUNTHNER, D.; LETZGUB, H. Effects of feeding fatcoated butyrate on mucosal morphology and function in the small intestine of the pig. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 91, p. 312-318, 2006.

28. DARCY-VRILLON, B.; MOREL, M.T.; CHERBUY, C.; BERNARD, F.; POSHO, L.; BLACHIER, F.; MESLIN, J.C.; DUEE, P. H. Metabolic characteristics of pig colonocytes after adaptation to a high fiber diet. **Journal of Nutrition**, v. 123 n. 2, p. 234-243, 1993.

29. D'ARGENIO, G.; COSENZA,V.; SORRENTINI, I.; RITIS, F.; GATTO, A.; CAVE, M. D.; D'ARMIENTO, F. P.; MAZZACCA, G. Butyrate, mesalamine, and factor XIII in experimental colitis in the rat: effects on transglutaminase activity. **Gastroenterology**, v. 6, p. 399-404, 1994.

30. DIBNER, J. J.; BUTTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 11 p. 453-463, 2002.

31. DIEBOLD, G.; MOSENTHIN, R.; PIEPHO, H.P.; SAUER, W. C. Effect of supplementation of xylanase and phospholipase to a wheat-based diet for weanling pigs on nutrient digestibility and concentrations of microbial metabolites in ileal digesta and feces. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 2647-2656, 2004.

32. DIERICK, N.; DECUYPERE, J.; MOLLY, K. et al. Microbial protease addition to a soybean meal diet for weaned piglets; effects on performance, digestion, gut flora and gut function. Recents advances of research in antinutritional factors legume seeds and oilseeds. **EAAP publication**, Wageningen Academic Publishers, n.110, 2004.

33. ECKEL, B.; ROTH, F. X.; KIRCHGESSNER, M.; EIDELSBURGER, U. Zum einfluss von ameisensaure auf die konzentrationen an ammoniak und biogenen aminen im gastrointestinaltrakt. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 67, p. 198-205, 1992.

34. EL-SHAZLY, K. Degradation of protein in the rumen of the sheep 1. some volatile fatty acids, including. **Biochemical**, v. 51, p. 640-647, 1952.

35. FIREMAN, F. A. T; FIREMAN, A. K. B. A. T. Enzimas na alimentação de suínos. **Ciência Rural**, v.28, p.173-178. 1998.

36. FLEMING, S. E.; ARCE, D. S. Volatile fatty acids: their production, absorption, utilization and roles in human health. **Clinical Gastroenterology**, v. 15, p. 787-814, 1986.

37. FLEMING, S. E.; GILL, R. Aging stimulates fatty acid oxidation in rat colonocytes but does not influence the response to dietary fiber. **Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 52A, n. 6, p. B3I8-B330, 1997.

38. FOEGEDING P. M.; BUSTA, F. F. Chemical food preservatives. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation.** Philadelphia, PA: Lea & Febiger, 1991. p. 802-832.

39. FOSTER J.W. Microbial responses to acid stress. In: STORZ, G.; HENGGE-ARONIS, R. **Bacterial Stress Responses**. Washington DC: ASM Press, 2000. p. 99-115.

40. FRANKEL, W. L.; ZHANG, W.; SINGH, A.; KLURFELD, D. M.; DON, S.; SAKATA, T.; MODLIN, I.; ROMBEAU, J, L. Mediation of the trophic effects of short-chain fatty acids on the rat jejunum and colon. **Gastroenterology**, v. 106, p. 375-380,1994.

41. FURLAN, A. C.; FRAIHA, M.; MURAKAMI, A. E.; MARTINS, E. L.; SCAPINELLO, C.; MOREIRA, I. Utilização de complexo multienzimático em dietas de frangos de corte contendo triticale. 1. Ensaio de digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 4, p. 759-764, 1997.

42. GALFI, P.; BOKORI, J. Feeding trial in pigs with a diet containing sodium n-butyrate. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 38, p. 3-17, 1990.

43. GARDINER, K.R.; KIRK, S.J.; ROWLANDS, B.J. Novel substrates to maintain gut integrity. **Nutrition Research Reviews**, v. 8, p.43-66, 1995.

44. GDALA, J.; JANSMAN, A.J.M.; HUISMAN, J.; BUCACZEWSKA, L.; VAN LEEUWEN, P. The influence of α-galactosidase supplementation on ileal digestibility of lupin seeds carbohydrates and dietary protein in young pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 67, p.115-125, 1997.

45. GHAZI, S.; ROOKE, J. A.; GALBRAITH, H.; BEDFORD, M. R. The potential for the improvement of the nutritive value of soybean meal by different proteases in broiler chicks and broiler cockerels. **British Poultry Science**, v. 43, n.1, p. 70-7, 2002.

46. GIBSON, P. R.; ROSELLA, O.; ROSELLA, G.; YOUNG, G. P. Butyrate is a potent inhibitor of uroquinase secretion by normal colonic epithelium in vitro. **Gastroenterology**, v. 107, p. 410-419, 1994.

47. HALM, M.; HORNBAEK, T.; ARNEBORG, N.; SEFA-DEDEH, S.; JESPERSEN, L. Lactic acid tolerance determined by measurement of intracellular pH of single cells of *Candida krusei* and *Saccharomyces cerevisiae* isolated from fermented maize dough. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, Issue 1, p. 97-103, 2004.

48. HARADA, E.; NIIYAMA, m.; SYUTO, B. Comparason of pancreatic exocrine secretion via endogenus secretin by intestinal infusion of hidrochloric acid and minocarboxylic acid in anesthetized piglets. **Japanese jornal of physiology**, v. 36, p. 843-856, 1986.

49. HIGASHIGUCHI, T.; HASSELGREN, P.; WAGNER, K.; FISCHER, J. E. Effect of glutamine on protein synthesis in isolated intestinal epithelial cells. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 17, 1993 17 n. 4, p. 307-314, 1993.

50. HOLTUG, K.; RASMUSSEN, H. S.; MORTENSEN, P. B. An in vitro study of short-chain fatty acid concentrations, production and absorption in pig (sus scrofa) colon. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 103A, n. 1. p. 189-187, 1992.

51. JACELA, J. Y.; DRITZ, S. S.; DEROUCHEY, J. M.; TOKACH, M. D.; GOODBAND, R. D.; NELSSEN, J. L. Effects of supplemental enzymes in diets containing distillers dried grains with solubles on finishing pig growth performance. **The Professional Animal Scientist**, v. 26, p. 412-424, 2010.

52. JASAITIS, D. K.; WOHLT, J. E.; EVANS, J. L. Influence of feed ion content on buffering capacity of ruminant feedstuffs in vitro. **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 1391-1403, 1987.

53. JIANG, R.; CHANG, X.; STOLL, B.; FAN, M.Z.; ARTHINGTON, J.; WEAVE,R E.; CAMPBELL, J.; BURRIN, D.G. Dietary plasma protein reduces small intestinal growth and lamina propria cell density in early weaned pigs. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 21-26, 2000.

54. JONGBLOED, A. W.; MROZ, Z.; VAN DER WEIJ-JONGBLOED, R.; KEMME, P. A. The effects of microbial phytase, organic acids, and their interaction in diets for growing pigs. **Livestock Production Science**, v. 67, p. 113-122, 2000.

55. JUNG, H.; G. BOLDUAN, G. ZurWirkung unterschiedlicher mineralstoffanteile in der ration des absetzferkels. **Mhertz Veterinär Medizin**, v. 41, p. 50-52, 1986.

56. KIDDLE, P.; MARSHALL, R. A.; PHILLIPSON, A. T. A comparison of the mixtures of acetic, propionic and butyric acids in the rumen and in the blood leaving the rumen. **Journal of Physiology**, v. 113, p. 207-217, 1951.

57. KIEN, L. K.; CHANG, J. C.; COOPER, J. R. Butyric acid is synthesized by piglets. **American Society for Nutritional Sciences**, v. 3, p. 234-237, 2000.

58. KIRCHGESSNER, M.; ROTH, F.X. Fumaric acid as a feed additive in pig nutrition. **Pig News and Information**, v. 3, p. 259-264, 1982.

59. KORUDA, M. J.; ROLENDALLI, R.H.; BLISS, D. Z.; HASTINGS, J.; ROMBEAU J.L.; SETTLE, R. G. Parenteral nutrition supplemented with short-chain fatty acids: effect on the smallbowel mucosa in normal rats. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 51, p. 685-689, 1990.

60. KOTUNIA, A.; WOLIŃSKI, J.; LAUBITZ, D.; JURKOWSKA, M.; ROMÉ, V.; GUILLOTEAU, P.; ZABIELSKI, R. Effect of sodium butyrate on the small

intestine development in neonatal piglets feed by artificial sow.**Journal of Physiology and Pharmacology,** v. 55, p. 59-68, 2004.

61. KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos Ruminantes**. 3.ed., Santa Maria: Ed. UFSM, 2009. 214p.

62. KWON, Y. M.; RICKE; S. C. Induction of acid resistance of *salmonella typhimurium* by exposure to short-chain fatty acids. **Applied and environmental microbiology**, v. 64, n. 9, p. 3458-3463, 1998.

63. LEE, B.; POMETTO, A. L.; DEMICI, A.; HINZ, P. N. Media evaluation for the production of microbial enzymes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 4775-4778, 1998.

64. LEE, A.; GEMMELL, E. Changes in the mouse intestinal microflora during weaning: role of volatile fatty acids. **American Society for Microbiology**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 1972.

65. LEE, D. N.; LIU, S. R.; CHEN, Y. T.; WANG, R. C.; LIN, S. Y.; WENG, C. F. Effects of diets supplemented with organic acids and nucleotides on growth, immune responses and digestive tract development in weaned pigs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 91, p.508-518, 2007.

66. LEEK, B. F.; HARDING, R. H. In: MCDONALD, W.; WARNER, A. C. I. **Digestion and Metabolism in the Ruminant**. Armidale: University of New England Publishing Unit, 1975. p. 60-76.

67. LIN, C. Y.; KUMAR, S. Primer specificity of mammary fatty acid synthetase and the role of the soluble p-oxidative enzymes. **The journal of biological chemistry**, v. 246, n. 10, p. 3284-3290, 1971.

68. LUPTON, J. R.; CODER, D. M.; JACOBS, L. R. Influence of luminal pH on rat large bowel epithelial cell cycle. **American Journal of Physiology**, v. 249, n. 3, p. G382-G388, 1985.

69. LUTZ, T.; SCHARRER E. Effect of short-chain fatty acids on calcium absorption by the rat colon. **Experimental Physiolgy**, v. 76 n. 4, p. 615-618, 1991.

70. MACHINSKY, T.G.; KESSLER, A. M.; RIBEIRO, A. M. L.; MORAES, M. L.; SILVA, I. C. M.; CORTES, M. E. M. Digestibilidade de nutrientes e balanço de Ca e P em suínos recebendo dietas com ácido butírico, fitase e diferentes níveis de cálcio. **Ciência Rural**, v. 40, p. 2350-2355, 2010.

71. MAIGA, H. A.; SCHINGGETHE, D. J.; LUDENS, F. C. Evaluation of diets containing supplemental fat with different sources of carbohydrates for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 1122-1130, 1995.

72. MAKKINK, C. Acid binding capacity in feedstuffs. **Feed International**, v. 22, n. 10, p. 24-27, 2001.

73. MANZANILLA, E.G.; NOFRARÍAS, M.; ANGUITA, M.; CASTILLO, M.; PEREZ, J. F., MARTÍN-ORÚE, S. M.; KAMEL, C.; GASA, J. Effects of butyrate, avilamycin, and a plant extract combination on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. **Journal of Animal Science***,* v. 84, p. 2743-2751, 2006.

74. MARSMAN, G. J. P.; GRUPPEN, H.; VAN DER POEL, A. F. B.; KWAKKEL, R. P.; VERSTEGEN, M.W.A.; VORMAGEN, A. G. J. The effect of thermal processing and enzyme treatments of soybean meal on growth performance, ileal nutrient digestibilities and chyme characteristics in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 76, p. 864-872, 1997.

75. MATSUMOTO, S.; NANNO M.; WATANABE, N.; MIYASHITA, M.; AMASAKI, H.; SUZUKI K.;UMESAKI, Y. Physiological roles of γ δ T- cell receptor intraepithelial lymphocytes in cytoproliferation and differentiation of mouse intestinal epithelial cells. **Immunology**, v. 97, p. 18-25, 1999.

76. MAYER, E. A. The physiology of gastric storage and emptying. In: JOHNSON, L. R.; ALPERS, D. H.; CHRISTENSEN, J.; JACOBSEN, E., **Physiology of the Gastrointestinal Tract**. 3 ed. New York: Lippencott Raven Press,1994. v. 1, p. 929-976.

77. METZLER, B. U,; MOSENTHIN, R.; BAUMGARTEL, T.; RODEHUTSCORD, M. The effect of dietary phosphorus and calcium level, phytase supplementation, and ileal infusion of pectin on the chemical composition and carbohydrase activity of fecal bacteria and the level of microbial metabolites in the gastrointestinal tract of pigs. **Journal Animal Science**, v. 86, p. 1544-1555, 2008.

78. MCINTOSH, G. H.; LE LEU, R. K.;ROYLE, P. J.; YOUNG, G. P. A comparative study of the influence of differing barley brans on DMH-induced intestinal tumours in male Sprague-Dawley rats. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 11, p. 113-119, 1996.

79. MERRELL; D. S.; CAMILLI, A. Acid tolerance of gastrointestinal pathogens. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, p. 51-55, 2002.

80. MINEO, H.; HARA, H.; TOMITA, F. Short-chain fatty acids enhance diffusional Ca transport in the epithelium of the cecum and colon. **Life Sciences**, New York, n. 69, p. 517-526, 2001.

81. MOLLAPOUR, M.; PIPER, P.W. The ZbYME2 gene from the food spoilage yeast Zygosaccharomyces bailii confers not only YME2 functions in Saccharomyces cerevisiae, but also the capacity for catabolism of sorbate and benzoate, two major weak organic acid preservatives. **Molecular Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 919-930, 2001.

82. MORTENSEN, P. B.; HOLTUG, K.; RASMUSSEN, H. S. Short-chain fatty acid production from mono and disaccharides in a fecal incubation system: implication for colonic fermentation of dietary fiber in humans. **Journal of nutrition**, v. 118, p. 321-325, 1988.

83. MROZ, Z.; JONGBLOED, A. W.; PARTANEN, K. H.; VREMAN, K.; KEMME, P. A.; KOGUT, J.The effects of calcium benzoate in diets with or without organic acids on dietary buffering capacity, apparent digestibility, retention of nutrients, and manure characteristics in swine. **Journal of animal Science**, v. 78, p. 2622-2632, 2000.

84. MROZ, Z.; JONGBLOED, A. W.; PARTANEN, K.; VREMAN, K.; VAN DIEPEN, J. T. M.; KEMME, P. A.; KOGUT, J. **The effect of dietary buffering capacity and organic acid supplementation (formic, fumaric, or n-butyric acid) on digestibility of nutrients (protein, amino acids, energy and minerals), water intake and excreta production in growing pigs.** ID-DLO Rep. No. 97. 014. Institute for Animal Science and Health, Branch Runderweg, Lelystad, The Netherlands. 1997.

85. NAFDAY, S.M.; CHEN, W.; PENG, L.Y.; BABYATSKY, M.W.; HOLZMAN, I.R.; LIN, J. Short chain fatty acids induce colonic mucosal injury in rats with different postnatal ages. **Pediatric Research**, v. 57, p. 201-204, 2005.

86. NANDEDKAR, A. K. N.; SCHIRMER, E. W.; PYNADATH T. I.; KUMAR, S. Biosynthesis of Fatty Acids in Mammary, Tissue I. Purification and Properties of Fatty Acid Synthetase from Lactating-Goat Mammary Tissue. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 134, p. 554-562, 1969.

87. NOVAK, C.L.; YAKOPUT H.M.; REMUS, J. Response to varying dietary energy and protein with or without enzyme supplementation on growth and performance of Leghorns: Growing period. **Journal of Applied Poultry Research**, v.16, p.481-493, 2007.

88. O'DOHERTY, J.V; FORDE, S. The effect of protease and α-galactosidase supplementation on the nutritive value of peas for growing and finishing pigs. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v. 38, p. 217-226,1999.

89. OETTING, L. L.; UTIYAMA, C. E.; GIANI, P. A.; RUIZ, U. S.; MIYADA, V. S. Efeitos de antimicrobianos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal e a frequência de diarreia em leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n. 5, p. 2013-2017, 2006.

90. OFFICER, D. I. Effect of multienzyme supplements on the growth performance of piglets during the pre- and post-weaning periods. **Animal Feed Science and Technology**, v. 56*,* p.55-65, *1995*.

91. PARTANEN, K.H.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pigs diets. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 12, n. 1, p. 117-145, 1999.

92. PENG, L; HE, Z.; CHEN, W.; HOLZMAN, I. R.; LIN, J. Effects of butyrate on intestinal barrier function in a Caco-2 cell monolayer model of intestinal barrier. **Pediatric Research**, v. 61, p. 37-41, 2007.

93. PIPER, P.; MAHÉ, Y.; THOMPSON, S, PANDJAITAN, R.; HOLYOAK,C.; EGNER, R.; MUHLBAUER, M.; COOTE, P.; KUCHLER, K. The Pdr12 ABC transporter is required for the development of weak organic acid resistance in yeast. **The EMBO Journal**, v. 17, n. 15 p. 4257-4265, 1998.

94. PIVA, A.; MORLACCHINI, M.; CASADEI, G.; GATTA, P. P.; BIAGI, G.; PRANDINI, A. Sodium butyrate improves growth performance of weaned piglets during the first period after weaning. **Italian Journal of Animal Science**, v. 1, p. 35-41, 2002a.

95. PIVA, A.; PRANDINI, A.; FIORENTINI, L.; MORLACCHINI, M.; GALVANO, F.; LUCHANSKY, J. B. Tributyrin and lactitol synergistically enhanced the trophic status of the intestinal mucosa and reduced histamine levels in the gut of nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 670-680, 2002b.

96. POIRIER, H.; DEGRACE, P.; NIOT, I.; BERNARD, A.; BERNARD, P. Localization and regulation of the putative membrane fatty-acid transporter (FAT) in the small intestine Comparison with fatty acid-binding proteins (FABP). **European Journal of Biochemistry**, v. 238, p. 368-373, 1996.

97. PRESSER, K. A.; RATKOWSKY, D. A.; ROSS, T. Modelling the Growth Rate of *Escherichia coli* as a Function of pH and Lactic Acid Concentration. **Applied and Environmental Microbiology**, Tasmania, v. 63, N. 6, p. 2355-2360, 1997.

98. PRIZONT,R. Glycoprotein degradation in the blind loop syndrome: identification of glycosidases in jejunal contents. **Journal of Clinical Investigation**, v. 67, p. 336-344, 1981.

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

100. RADECKI, S.V.; JUHL, M.R.; MILLER, E.R. Fumaric and citric acids as feed additives in starter pig diets: effect on performance and nutrient balance. **Journal of Animal Science**, v. 66, n. 10, p. 2598-2605, 1988.

101. RASCHKA, L.; DANIEL, H. Mechanisms underlying the effects of inulin-type fructans on calcium absorption in the large intestine of rats. **Bone**, v. 37, p. 728-735, 2005.

102. RECHKEMMER, G.; FRIZZELL, R. A.; HALMT, D. R. Active potassium transport across guinea-pig distal colon: action of secretagogues. **Journal of Physiology**, v. 493, n. 2, p. 485-502, 1996.

103. REILLY, K. J.; ROMBEAU, J. L. Metabolism and potential clinical applications of short-chain fatty acids. **Clinical Nutrition**, v. 12, p. S97-S105, 1993.

104. RERAT, A.; FISZLEWICZ, M.; HERPIN, P.; VAUGELADE, P.; DURAND, M. Mesure de l'apparition dans la veine porte des acides gras volatils formes au cours de la digestion chez le porc eveille. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, v. 300, p. 467-470, 1985.

105. ROEDIGER, W. E., Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. **Gut**, v. 21, p. 793-798, 1980.

106. RONNAU, K. ; GUTH, D.; ENGELHARDT, W. v. Absorption of dissociated and undissociated short-chain fatty acids across the colonic epithelium of guinea-pig. **Quarterly journal of experimental physiology**, v. 74, p. 511-519, 1989.

107. ROTH, F. X.; M. KIRCHGESSNER. Organic acids as feed additives for young pigs: Nutritional and gastrointestinal effects. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 7, p. 25-33, 1998.

108. RUIZ, U. S.; THOMAZ, M. C.; HANNAS, M. I.; FRAGA, A. L.; WATANABE, P. H; SILVA, S. Z. Complexo enzimático para suínos: digestão, metabolismo, desempenho e impacto ambiental. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v. 37, n. 3, p. 458-468, 2008.

109. RUSSELL, J.B. Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH: anion accumulation versus uncoupling. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 73, p. 363-370. 1992.

110. SAKATA, T. Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fiber, gut microbes and luminal trophic factors. **British Journal of Nutrition**, v. 58, n. 95, p. 95-103. 1987.

111. SAKATA, T.; ENGLEHARDT, W.V. Stimulating effect of short chain fatty acids on the epithelial cell proliferation in the rat large intestine. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 74A, p. 459-462, 1983.

112. SAKATA, T.; SETOYAMA, H. Bi-phasic allometric growth of the small intestine, cecum and the proximal, middle, and distal colon of rats (Rattus norvegicus Berkenhout, 1764) before and after weaning. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 118, n. 3, p. 897-902, 1997.

113. SAKATA, T.; SETOYAMA, H. Local stimulatory effect of short-chain fatty acids on the mucus release from the hindgut mucosa of rats *(Rattus norvegicus).* **Comparative Biochemistry and Physiology,** v. 111, n. 3, p. 429-432,1995.

114. SAKATA, T.; YAJIMA, T. Influence of short chain fatty acids on the epithelial cell division of digestive tract. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, v. 69, p. 639-648, 1984.

115. SALMINEN, S.; BOULEY, C.; BOUTRON-RUAULT, M. C; CUMMINGS, J. H.; FRANCK, A.; GIBSON, G.R.; ISOLAURI, E.; MOREAU, M. C.; ROBERFROID, M.; ROWLAND, I. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. **British Journal of Nutrition**, v. 80, p. 147-171, 1998.

116. SANGILD, P.T.; SIGGERS, R. H.; SCHMIDT, M.; ELNIF, J., BJORNVAD, C. R.; THYMANN, T.; GRONDAHL, M. L.; HANSEN, A. K.; JENSEN, S. K.; BOYE, M.; MOELBAK, L.; BUDDINGTON, R. K.; WESTROM, B. R.; HOLST J. J.; BURRIN, D. G. Diet and colonization dependent intestinal dysfunction predisposes to necrotizing enterocolitis in preterm pigs. **Gastroenterology**, v. 130, p.1776-1792, 2006.

117. SANO, H.; NAKAMURA, E.; TAKAHASHI, H.; TERASHIMA, Y. Plasma insulin and glucagon responses to acute challenges of acetate, propionate, n-butyrate and glucose in growing gilts (*Sus scrofa*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 110, n. 4, p. 375-378, 1995.

118. SCHEPPACH, W. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. **Gut,** London, v. 35, p. S35-S38, 1994.

119. SCHEPPACH, W.; POMARE, E. W.; ELIA, M.; CUMMINGS, J. H. The contribution of the large intestine to blood acetate in man. **Clinical Science**, v. 80, p. 177-182, 1991.

120. SHIMOTOYODOME, A.; MEGURO, S.; HASE, T.; TOKIMITSU, I.; SAKATA, T. Short chain acids but not lactate or succinate stimulate mucus release in the rat colon. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A, Edinburgh,** v. 125, p. 525-531, 2000.

121. SILVA, A. M. R.; BERTO, D. A.; LIMA, G. J. M. M; WECHSLER, F. S.; PADILHA, P. M.; CASTRO, V. S. Valor nutricional e viabilidade econômica de rações suplementadas com maltodextrina e acidificante para leitões desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 286-295, 2008.

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

123. SMYTH, H. F. Jr.; CARPENTER, C. P.; WEIL, C. S.; POZZANI, U. C. Range-finding toxicity data: list V. **A.M.A. archives of industrial hygiene and occupational medicine**, v. 10, n. 1, p. 61-68, 1954.

124. SRAMEK, S. J.; FRERMAN, F.E. *Escherichia coli* coenzyme A-transferase: kinetics, catalytic pathway and structure. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 171, p. 27-35, 1975.

125. STEVENS, C. E.; ARGENZIO, R. A.; CLEMENS, E. T., Microbial digestion: Rumen versus large intestine. In: RUCKEBUSCH, Y.; THIVEND, P. **Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants**. Lancaster: MTP Press, 1980. p. 685-706.

126. STEVENS, C. E.; HUME, I. D. Contributions of microbes in vertebrate gastrointestinal tract to production and conservation of nutrients. **Physiological Reviews**, New York, v. 78, n. 2, p. 393-425, 1998.

127. STRATFORD, M.; PLUMRIDGE, A.; NEBE-VON-CARON, G.; ARCHER, D. B. Inhibition of spoilage mould conidia by acetic acid and sorbic acid involves different modes of action, requiring modification of the classical weak-acid theory. **International Journal of Food Microbiology**, v. 136, p. 37-43, 2009.

128. TERRACCIANO, J. S.; KASHKET, E. R. Intracellular Conditions Required for Initiation of Solvent Production by Clostridium acetobutylicum. **Applied and environmental microbiology**, v. 52, n. 1, p. 86-91, 1986.

129. TRINIDAD, T. P.; WOLEVER, T. M.; THOMPSON, L.U. Effects of calcium concentration, acetate, and propionate on calcium absorption in the human distal colon. **Nutrition**; v. 15, n. 7/8 p. 529-33, 1999.

130. TSUKAHARA, T.; KOYAMA, H.; OKADA, M.; USHIDA, K. Stimulation of butyrate production by gluconic acid in batch culture of pig cecal digesta and identification of butyrate-producing bacteria. **Journal of nutrition**, v. 132, p. 2229-2234, 2002.

131. VAN IMMERSEEL, F.; FIEVEZ, V.; DE BUCK, J.; PASMANS, F.; MARTEL, A.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R. Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella enteritidis* in young chickens. **Poultry science**, v. 83, p. 69-74, 2004.

132. VON ENGELHARDT, W.; RÖNNAU, K.; RECHKEMMER, G.; SAKATA, T. Absorption of short-chain fatty acids and their role in the hindgut of monogastric 53 animals. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 23, p. 43-53, 1989.

133. WALSH, G.A.; POWER, R.F.; HEADON, D.R. Enzymes in the animal feed industry. **Trends in Biotechnology**, v. 11, p. 946-957,1993.

134. WALSH, M. C.; SHOLLY, D. M.; HINSON R. B.; SADDORES, K. L.; SUTTON, A. L.; RADCLIFFE, J. S.; ODGAARD, R.; MURPHY, J.; RICHERT; B. T. Effects of water and diet acidification with and without antibiotics on weanling pig growth and microbial shedding. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 1799-1808, 2007.

135. WEBER, T. E.; KERR, B. J., Effect of sodium butyrate on growth performance and response to lipopolysaccharide in weanling pigs. **Journal of Animal Science***,* v. 86, p. 442-450, 2008.

136. WESTEGAABD, H; DIETSCHY, J. M. The mechanism whereby bile acid micelles increase the rate of fatty acid and cholesterol uptake into the intestinal mucosal cell. **Journal of clinical investigation**, v. 58, p. 97-108, 1976.

137. WIDMER, J.; FASSIHI, K.S.; SCHLICHTER, S.C.; WHEELER, K.S.; CRUTE, B.E.; KING, N.; NUTILE-McMENEMY, N.; NOLL, W.W.; DANIEL, S.; HA, J.; KIM, K.H.; WITTERS, L.A. Identification of a second human acetyl-CoA carboxylase gene. **Biochemical Journal**, v. 316, p. 915-922, 1996.

138. YAJIMA, T. Contractile effect of short-chain fatty acids on the isolated colon of the rat. **Journal of Physiology**, v. 368, 667-678, 1985.

139. YOUNES, H.; COUDRAY, C.; BELLANGER, J.; DEMIGNE, C.; RAYSSIGUIER, Y., REMESY, C. Effects of two fermentable carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium balance in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 86, p. 479-85, 2001.

CAPÍTULO II. PROTEASE E BUTIRATO DE SÓDIO NAS DIETAS PRÉ-INICIAL, INICIAL I E INICIAL II PARA SUÍNOS: DESEMPENHO E INCIDÊNCIA DE DIARREIA

RESUMO

Objetivou-se avaliar o desempenho zootécnico e a frequência de diarreia de suínos em fase de creche alimentados com ração contendo protease e butirato de sódio. Foram utilizados 80 leitões híbridos comerciais, machos castrados, com 21 dias de idade e peso médio inicial de 5,11 ± 0,4645 kg, distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro tratamentos, cinco repetições e quatro animais por repetição. O experimento de desempenho foi dividido em três fases, sendo fase pré-inicial de 5,5 a 9 kg, inicial 1 de 9,3 a 15 kg e inicial 2 de 15 a 30 kg. Os tratamentos consistiram de ração basal, ração basal com 200ppm de inclusão de protease, ração basal com 0,3% de inclusão de butirato de sódio e ração basal com protease (200ppm) e butirato de sódio (0,3%). Foi determinado o ganho de peso diário, consumo diário de ração, conversão alimentar e frequência de diarreia nos animais. Protease e butirato de sódio, isolados ou associados, não melhoram o desempenho de suínos em fase de creche. A protease diminui a incidência de diarreia de leitões de 15 a 30 Kg de peso vivo. A produção e atividade enzimática da protease não foi limitar no desempenho pós desmame.

Palavras-chave: ácido orgânico, creche, enzimas, fezes, leitões

CHAPTER II. PROTEASE AND SODIUM BUTYRATE DIETS IN PRE - INITIAL, INITIAL, INITIAL I AND INITIAL II FOR SWINE: PERFORMANCE AND OCURRENCE OF DIARRHEA

ABSTRACT

It was aimed to evaluate the performance and the frequency of diarrhea of pigs in the nursery phase fed diets containing protease and sodium butyrate. 80 commercial hybrids castrated males piglets, 21 days of age and initial weight of 5.11 ± 0.4645 kg, allotted in a completely randomized block design, with four treatments five replicates and four animals by repetition. The experiment was divided into three stages, being the pre-starter from 5.5 to 9 kg initial I 9.3 to 15 1 kg, initial II of 15 initial 30 kg. Treatments consisted of basal diet, basal diet containing 200ppm inclusion of protease, basal diet with 0.3% addition of sodium butyrate and basal diet with protease (200ppm) and sodium butyrate (0.3%). It was determined the daily weight gain, daily feed intake, feed conversion and frequency of diarrhea in animals. Protease and sodium butyrate, alone or combined, do not improve the performance of pigs in the nursery stage. The protease reduces the incidence of diarrhea in piglets of 15-30 kg live weight. The production and enzymatic activity of the protease was not limiting in post weaning performance.

Keywords: enzymes, feces, nursery, organic acid, piglets

1 INTRODUÇÃO

O desmame em suínos é frequentemente associado ao baixo consumo de ração, ganho de peso reduzido ou nulo, e, em alguns casos, à diarréia e à morte (CANIBE et al., 2001). Mudanças ambientais, a produção insuficiente de enzimas e as dietas que conduzem ao pH gástrico elevado e a alterações morfológicas do epitélio intestinal são fatores envolvidos neste processo.

O leitão desmamado tem pouca capacidade de produzir ácido clorídrico no estômago, dificultando a redução do pH gástrico para 3,5; valor considerado ideal; agravado pelo baixo nível de acidez do intestino e por variações no pH intestinal, causados por padrões de alimentação irregulares e mistura inadequada do conteúdo intestinal (BLANCHARD, 2000). Essa pequena quantidade de ácido clorídrico produzida é insuficiente para ativar todo o pepsinogênio produzido pela mucosa gástrica, com isso, a clivagem inicial de ligações peptídicas pode não ocorrer no estômago do suíno jovem e alimentos intactos podem entrar no intestino delgado (GIESTING & EASTER, 1985). Os nutrientes não absorvidos são substratos para bactérias, o que pode resultar em diarreia, em encurtamento das vilosidades, em aumento da profundidade das criptas e incremento no *turnover* dos enterócitos (FREITAS et al., 2006).

Antibióticos promotores de crescimento foram utilizados para reduzir a incidência de diarreia pós-desmame e melhorar o desempenho animal. Contudo, o risco da seleção de genes resistentes aos antibióticos em patógenos intestinais e a possibilidade de disseminação transversal dessa resistência a patógenos humanos (PHILLIPS et al., 2004), somado a demanda do consumidor por alimentos livres de drogas, resultaram na proibição do uso de antibióticos utilizados como promotores de crescimento animal (PIVA et al., 2002a). A União Europeia já proibe completamente a utilização de antibióticos como promotores de crescimento desde janeiro de 2006. Nesse sentido, pesquisas com novos aditivos alimentares, como os ácidos orgânicos e enzimas, que tenham os efeitos dos antibióticos promotores de crescimento sem suas desvantagens potenciais estão sendo realizadas.

Enzimas e ácidos orgânicos encontram-se no intestino dos animais e atuam em sinergia para equilíbrio, saúde intestinal e uma absorção eficiente de nutrientes (SILVA JUNIOR, 2009). Em particular, a protease é conhecida por melhorar o valor nutritivo dos alimentos, aumentar a digestibilidade de nitrogênio, de proteínas e de aminoácidos, que são nutrientes de alto custo e poluidores, essenciais para o aumento do desempenho, da taxa de deposição de proteína e tecido muscular; ainda diminui os fatores antinutricionais, reforça as enzimas endógenas e diminui a contaminação bacteriana.

O butirato de sódio melhora o desempenho (PIVA et al., 2002a), o ganho de peso (KOTUNIA et al., 2004) e a conversão alimentar de leitões desmamados (MANZANILLA et al., 2006); estimula o crescimento dos vilos e criptas no ceco de suínos (PIVA et al., 2002b), tem efeito anti-inflamatório nas células da mucosa gástrica e intestinal (ANDOH et al., 1999), é principal fonte de energia para as células epiteliais do íleo terminal (CHAPMAN et al., 1995), reduz o crescimento de bactérias intestinais (GALFI & BOKORI, 1990), aumenta a digestibilidde da proteína bruta (MACHINSKY et al., 2010), a retenção de nitrogênio (ROMER & ABEL, 1999) e absorção de minerais (MROZ et al., 2000).

Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito da adição de protease e butirato de sódio nas dietas, sobre o desempenho e incidência de diarreia de leitões nas fases pré-inicial, inicial I e inicial II.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Setor de Suinocultura do Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (DPA/EVZ/UFG). Os procedimentos com os animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Programa de Pós Graduação da Universidade Federal de Goiás - CEP/PRPPG/UFG, inscrito sob o protocolo 323/11.

Os tratamentos experimentais consistiram em uma ração basal, ração basal com 200ppm de inclusão de protease, ração basal com 0,3% de inclusão de butirato de sódio e ração basal com protease (200ppm) e butirato de sódio (0,3%). As rações foram formuladas de acordo com as

recomendações de ROSTAGNO et al. (2011) em função do peso dos animais, sendo a fase pré-inicial (5,5 a 9,0 kg); inicial I (9,3 a 15,0 kg) e inicial II (15 a 30kg) (TABELA 1).

TABELA 1 – Composição centesimal das dietas experimentais basais nas fases pré-inicial (5,5 a 9,0 kg), inicial 1 (9,3 a 15,0 kg) e inicial 2 (15 a 30kg)

Ingredientes* (%)	**Pré Inicial**	**Inicial 1**	**Inicial 2**
Milho grão	64,137	63,000	75,334
Soja farelo 45%	15,102	18,606	11,314
Glúten de milho 60%	2,000	2,000	2,000
Plasma sanguíneo	5,000	2,500	1,000
Hemácias	-	2,500	4,000
Farinha de vísceras de frango	3,000	3,000	3,000
Óleo de soja	3,124	2,683	-
Açúcar	3,000	1,781	-
Sal comum	0,242	0,274	0,417
Fosfato bicálcico	1,775	1,501	1,108
Calcário	0,582	0,683	0,743
L-lisina	0,722	0,396	0,195
Dl-metionina	0,149	0,088	0,023
L-treonina	0,267	0,136	0,032
L-triptofano	0,080	0,032	0,014
Suplemento mineral[1]	0,250	0,250	0,250
Suplemento vitamínico[2]	0,250	0,250	0,250
Caulim	0,320	0,320	0,320
TOTAL	100	100	100
Composição nutricional	**Pré Inicial**	**Inicial 1**	**Inicial 2**
Energia metabolizável (kcal/kg)	3,400	3,375	3,257
Proteína bruta (%)	20,00	21,000	18,130
Lisina digestível (%)	1,450	1,330	1,037
Metionina digestível	0,406	0,372	0,290
Treonina digestível (%)	0,914	0,838	0,653
Triptofano digestível (%)	0,261	0,239	0,187
Cálcio (%)	0,850	0,825	0,735
Fósforo disponível (%)	0,500	0,450	0,365
Sódio	0,280	0,230	0,250

*Sem promotor de crescimento. [1]Suplemento mineral: 5mg de cobre; 80mg de zinco; 80mg de ferro; 20 mg de manganês; 0,25 mg de selênio e 0,14 mg de I; [2] Suplemento vitamínico: 6.000UI vit. A; 1.320UI vit D3; 12mg vit. E; 1,47 mg vit. K3; 0,9 mg vit. B1; 3mg vit. B2; 1,8mg vit. B6; 12 mcg vit. B12; 0,3 mg ác. fólico; 9,3 mg ác. pantotênico; 18 mg niacina; 0,09 mg biotina; 240mg de colina.

A protease (Tabela 2) e o butirato de sódio (Tabela 3) foram pré-misturados junto aos micro ingredientes e posteriormente acrescidos e misturados aos demais ingredientes das rações experimentais. Nas rações com protease e butirato de sódio isolados ou associados, os aditivos substituíram o inerte. O butirato de sódio não era microencapsulado.

Tabela 2 – Composição nutricional da protease

Composição nutricional*	**Pré Inicial**	**Inicial**
Proteína Bruta (%)	3455	3105
Lisina digestível (%)	63	41
Metionina digestível (%)	39	22
Metionina + Cistina Digestível (%)	127	99
Treonina Digestível (%)	381	295

*Rodozyme ProAct

Tabela 3 – Composição do butirato de sódio

Composição nutricional*	**Níveis de garantia**
Ácido butírico total (mín.)	250 g/Kg
Ácido butírico total (máx.)	180 g/Kg
Sódio (máx.)	40 g/Kg

*C4 powder – monobutyrin 25

Foram utilizados 80 leitões híbridos comerciais, machos castrados, com 21 dias de idade e peso médio inicial de 5,11 ± 0,4645 kg. Os animais foram distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro tratamentos, cinco repetições, perfazendo o total de 20 unidades experimentais. O critério utilizado para formação dos blocos foi o peso dos animais. Cada unidade experimental foi composta por quatro animais, alojados em gaiolas suspensas com 2 m^2, um comedouro de PVC com duas bocas e um bebedouro automático, tipo chupeta.

As variáveis de desempenho (consumo diário de ração, ganho de peso diário e conversão alimentar) foram analisadas para a fase pré-inicial de 5,5 a 9 kg, inicial 1 de 9,3 a 15 kg e inicial 2 de 15 a 30 kg e período total do experimento, tendo sido calculadas por meio de pesagens dos animais e quantificações das rações. O consumo de ração e água foi à vontade. A

duração do período experimental foi de 56 dias, de 12 de maio a 10 de julho de 2012, até que os animais atingissem o peso médio de 30,00 Kg.

A incidência de diarreia foi avaliada diariamente por um único observador em todo o período experimental, às 17h. Atribuído os seguintes critérios de escores fecais: 1-fezes com consistência normal; 2-fezes pastosas; 3-fezes líquidas ou diarreicas. O escore de fezes de 0 e 1 foram considerados não diarréicos e 2 e 3 indicavam a ocorrência de diarreia (VASSALO et al.,1997).

A temperatura e a umidade máximas e mínimas do galpão experimental foram monitoradas com hidrotermômetro digital.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa SAS versão 8.0 (SAS, 2000), sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan ($\alpha = 0,05$), à exceção do escore de diarreia, para estes dados foi utilizado o teste de qui-quadrado ($\alpha = 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias de temperatura do galpão foram de 29,4ºC (máxima); 19,52ºC (mínima) e as médias de umidade de 80,64% (máxima) e 52,5% (mínima). Os valores encontrados estão fora dos padrões recomendados. A temperatura ideal para suínos na fase de creche situa-se entre 24 e 20°C, devendo a temperatura do ar ser próxima dos 24°C nas primeiras semanas de alojamento, e em torno de 20°C nas últimas (CAMPOS et al., 2009). A umidade relativa do ar assume importante papel como facilitador ou como complicador dos mecanismos de dissipação de calor por via evaporativa. Para suínos, a umidade ambiente ideal não deve ultrapassar 70%, segundo SAMPAIO et al. (2004). Os animais podem ter gastado mais energia com a manutenção da homeotermia (BAÊTA & SOUZA, 1997), e a amplitude térmica da temperatura afetou negativamente o desempenho dos leitões, conforme constatado por CAMPOS et al., (2009).

Não houve diferença significativa para os parâmetros de ganho de peso diário, consumo diário de ração e conversão alimentar de suínos na fase de creche alimentados com dietas contendo protease e butirato de sódio (Tabela 4). Considerou-se que a complexidade das dietas tenha inibido a ação

do ácido, o que estaria de acordo com SILVA et al. (2008), que afirmam que a adição de ácidos orgânicos é mais efetiva em melhorar o desempenho dos leitões desmamados quando realizada em dietas simples, à base de cereais e farelo de soja, do que em rações de maior complexidade, com proteínas de origem animal e produtos lácteos.

TABELA 4 – Desempenho de suínos em fase de creche alimentados com dietas contendo protease e butirato de sódio

Variáveis	Tratamentos*				CV[1]	P-value
	BASAL	PRO	BUT	PRO+BUT		
Fase Pré-inicial (5,5 a 9,0 Kg)						
Peso inicial (kg)	5,09	5,09	5,16	5,09	1,46	0,994
Peso final (kg)	9,23	9,27	9,30	9,12	8,54	0,985
Ganho de peso diário (kg)	0,23	0,23	0,24	0,23	21,15	0,995
Consumo diário de ração (kg)	0,34	0,33	0,32	0,31	13,38	0,799
Conversão alimentar	1,47	1,52	1,33	1,39	20,02	0,756
Fase Inicial 1 (9,3 a 15,0 Kg)						
Peso inicial (kg)	9,22	9,27	9,3	9,12	8,54	0,985
Peso final (kg)	16,47	16,55	16,67	16,67	11,70	0,998
Ganho de peso diário (kg)	0,42	0,42	0,43	0,44	21,83	0,991
Consumo diário de ração (kg)	0,60	0,58	0,61	0,63	19,38	0,947
Conversão alimentar	1,43	1,38	1,43	1,44	9,17	0,868
Fase Inicial 2 (15 a 30,0 Kg)						
Peso inicial (kg)	16,47	16,55	16,67	16,67	11,70	0,998
Peso final (kg)	31,16	30,95	31,20	31,23	6,36	0,996
Ganho de peso diário (kg)	0,69	0,68	0,68	0,69	5,42	0,964
Consumo diário de ração (kg)	1,24	1,29	1,24	1,27	8,46	0,833
Conversão alimentar	1,80	1,90	1,81	1,86	6,47	0,517
Período total (5,5 a 30,0 Kg)						
Peso inicial (kg)	5,093	5,093	5,16	5,09	9,48	0,994
Peso final (kg)	31,16	30,95	31,20	31,23	6,36	0,996
Ganho de peso diário (kg)	0,44	0,44	0,44	0,45	10,33	0,997
Consumo diário de ração (kg)	0,72	0,73	0,72	0,74	9,52	0,979
Conversão alimentar	1,63	1,66	1,62	1,66	4,47	0,740

*BASAL - dieta basal, PROT- 200ppm protease, BUT - 0,3% butirato de sódio, PRO+BUT - 200ppm de protease + 0,3% de butirato de sódio;[1]coeficiente de variação;

Observou-se diferença (P = 0,029) para frequência de diarreia na fase inicial 2 (15 a 30 Kg de peso vivo) em que os animais que receberam tratamento com protease apresentaram menor frequência de diarreia, seguido do tratamento com associação de protease e butirato de sódio, quando comparados a ração controle (Tabela 5).

TABELA 5 – Frequência de diarreia de suínos em fase de creche alimentados com dietas contendo protease e butirato de sódio*

Frequência	**Tratamentos****				
	BASAL	**PRO**	**BUT**	**PROT + BUT**	**P-value**
Fase Pré-inicial (5,5 a 9,0 Kg)					
Presença	38	47	50	46	
% Presença	10,11	12,50	13,30	12,23	P=0,577
Ausência	338	329	326	330	
% Ausência	88,89	87,50	86,70	87,77	
Fase Inicial 1 (9,3 a 15,0 Kg)					
Presença	42	50	34	37	
% Presença	14,38	17,12	11,64	12,67	P=0,242
Ausência	250	242	258	255	
% Ausência	85,62	82,88	88,36	87,33	
Fase Inicial 2 (15 a 30 Kg)					
Presença	14	2	10	8	
% Presença	3,30	0,47	2,36	1,89	P=0,029
Ausência	410	442	414	416	
% Ausência	96,70	99,53	97,64	98,18	
Período total (5,5 a 30,0 Kg)					
Presença	98	99	96	107	
% Presença	8,17	8,25	8,00	8,92	P=0,860
Ausência	1102	1101	1104	1093	
% Ausência	91,83	91,75	92,00	91,08	

*Análise de Qui-quadrado; ** BASAL - dieta basal, PRO – 200ppm protease, BUT - 0,3% butirato de sódio, PRO+BUT – 200ppm de protease + 0,3% de butirato de sódio;

Um fator que deve ser considerado para explicar a ausência de diferenças nos resultados de frequência de diarreia nos animais alimentados com butirato de sódio é o reduzido desafio sanitário nas instalações do teste. Somado a isso, RICKE (2003) sugere a possibilidade que se desenvolva algum tipo de tolerância aos ácidos orgânicos por parte de microrganismos patógenos existentes na flora intestinal quando se utilizam subdoses de ácidos orgânicos, proporcionando aos microrganismos a oportunidade de induzir resistência ao estresse gerado pela ação dos ácidos. Os estudos de UTIYAMA et al. (2006), SANTOS et al. (2010) e BRAZ et al. (2011) não identificaram efeito de acidificantes sobre a frequência de diarreia, corroborando com os resultados deste trabalho.

A alta digestibilidade da ração fornecida aos leitões deve ter contribuido para a ausência de resposta na porcentagem de animais com diarreia, pois pode ter reduzido a quantidade de substrato não digerível e disponível aos patógenos no lúmen intestinal e consequentemente reduzido o efeito dos aditivos na microbiota patogênica. Resíduos alimentares não digeridos e não absorvidos servem como substratos para fermentação pela microbiota intestinal, elevando a produção de ácido lático e de ácidos graxos voláteis. Estes substratos, juntamente com íons (sódio, potássio e cloreto), aumentam a osmolaridade do conteúdo intestinal, provocando um fluxo de água para a luz intestinal, pela dificuldade na reabsorção de água, desencadeando o processo diarreico (NABUURS et al., 1993).

A presença de plasma sanguíneo na composição das rações pode ter contribuído para ausência de respostas, uma vez que apenas na fase inicial 2, em que a porcentagem de uso deste ingrediente foi menor (1%) quando comparada as demais fases (5% para a fase pré-inicial e 2,5% para a fase inicial 1) pode-se observar diferenças na frequência de diarreias. Segundo BOSI et al. (2004), o plasma desidratado suíno pode manter a integridade da mucosa intestinal (ajudando o leitão a resistir a agressões bacterianas e a melhorar a sua eficiência alimentar) bem como reduzir a resposta pro inflamatória local dos intestinos. Segundo PÉREZ-BOSQUE et al. (2004), o grau de ativação das células imunitárias pode limitar a disponibilidade de energia alimentar para o crescimento.

4. CONCLUSÃO

A utilização de protease e butirato de sódio, isolados ou associados, não melhora o desempenho de suínos em fase de creche. A utilização de protease diminui a incidência de diarreia de leitões de 15 a 30kg de peso vivo.

5. REFERÊNCIAS

1. ANDOH A.; BAMBA, T.; SASAKI, M. Physiological and anti-inflammatory roles of diatery fiber and butyrate in intestinal functions. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 23, p. 70-73, 1999.

2. BAÊTA, F.C.; SOUZA, C.F. **Ambiência em edificações rurais: conforto animal.** Viçosa: Editora UFV, 1997. 246 p.

3. BLANCHARD, P. Less buffering, more enzymes and organic acids. **Feed Mix**, edição especial, p.14-15, 2000.

4. BOSI, P.; CASINI, L.; FINAMORE, A.; CREMOKOLINI, C.; MERIALDI, G.; TREVISI, P.; NOBILI, F.; MENGHERI E. Spray-dried plasma improves growth performance and reduces inflammatory status of weaned pigs challenged with enterotoxigenic Escherichia coli K88. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 1764-1772, 2004.

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

6. CAMPOS, J. A.; TINÔCO, I. F.; BAÊTA, F. C; CECON, P. R.; MAURI, A.L. Qualidade do ar, ambiente térmico e desempenho de suínos criados em creches com dimensões diferentes. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 339-347, 2009.

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

8. CHAPMAN, M. A.; M. GRAHN, M. F.; HUTTON, M.; WILLIAMS, N. S. Butyrate metabolism in the terminal ileal mucosa of patients with ulcerative colitis. **British Journal of Surgery**, v. 82, p. 36-38, 1995.

9. FREITAS, L. F.; LOPES, D. C.; FREITAS, A. F.; CARNEIRO, J. C.; CORASSA, A. PENA, S. M; COSTA, L. F. Avaliação de ácidos orgânicos em

dietas para leitões de 21 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n.4, p.1711-1719, 2006.

10. GALFI, P.; J. BOKORI. Feeding trial in pigs with a diet containing sodium n-butyrate. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 38, p. 3-17, 1990.

11. GIESTING, D. W.; EASTER, R. A. Response of starter pigs to supplementation of corn-soybean meal diets with organic acids. **Journal of animal science**, v. 60, n. 5, p. 1288-1294, 1985.

12. KOTUNIA, A.; WOLIŃSKI, J.; LAUBITZ, D.; JURKOWSKA, M.; ROMÉ, V.; GUILLOTEAU, P.; ZABIELSKI, R. Effect of sodium butyrate on the small intestine development in neonatal piglets feed by artificial sow. **Journal of Physiology and Pharmacology,** v. 55, p. 59-68, 2004.

13. MACHINSKY, T.G.; KESSLER, A. M.; RIBEIRO, A. M. L.; MORAES, M. L.; SILVA, I. C. M.; CORTÉS, M. E. M. Digestibilidade de nutrientes e balanço de Ca e P em suínos recebendo dietas com ácido butírico, fitase e diferentes níveis de cálcio. **Ciência Rural**, v.40, p.2350-2355, 2010.

14. MANZANILLA, E. G.; NOFRARÍAS, M.; ANGUITA, M., CASTILLO, M.; PEREZ, J. F., MARTÍN-ORÚE, S. M.; KAMEL, C.; GASA, J. Effects of butyrate, avilamycin, and a plant extract combination on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. **Journal of Animal Science***,* v. 84, p. 2743-2751, 2006.

15. MROZ, Z.; JONGBLOED, A. W.; PARTANEN, K. H.; VREMAN, K.; KEMME, P. A.; KOGUT, J.The effects of calcium benzoate in diets with or without organic acids on dietary buffering capacity, apparent digestibility, retention of nutrients, and manure characteristics in swine. **Journal of animal Science**, v.78, p. 2622-2632, 2000.

16. NABUURS, M.J.A.; ZIJDERVELD, F.G.; LEEUW, P.W. Villus height and crypt depth in weaned and unweaned pigs, reared under various circumstances in the Netherlands. **Research in Veterinary Science**, Amsterdan, v. 55, p. 78-84, 1993.

17. PERÉZ-BOSQUE, A., C.; PELEGRI, M.; VICARIO, M.; CASTELL, L.; RUSSELL, J. M.; CAMPBELL, J. D. I. I. I.; QUIGLEY, J.; POLO, C.; AMAT, M. MORETO. Dietary plasma protein affects the imune response of weaned rats challenged with *S. aureus* superantigen. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 2667-2672, 2004.

18. PHILLIPS, I.; CASEWELL, M.; COX, T.; DE GROOT, B.; FRIIS, C.; JONES, R.; NIGHTINGALE, C.; PRESTON, R.; WADDELL, J. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 53, p. 28-52, 2004.

19. PIVA, A.; MORLACCHINI, M.; CASADEI, G.; GATTA, P. P.; BIAGI, G.; PRANDINI, A. Sodium butyrate improves growth performance of weaned piglets during the first period after weaning. **Italian Journal of Animal Science**, v. 1, p. 35-41, 2002a.

20. PIVA, A.; PRANDINI, A.; FIORENTINI, L.; MORLACCHINI, M.; GALVANO, F.; LUCHANSKY, J. B. Tributyrin and lactitol synergistically enhanced the trophic status of the intestinal mucosa and reduced histamine levels in the gut of nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 670-680, 2002b.

21. RICKE, S. C. Perspective on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, p. 632-639, 2003.

22. ROMER, A.; ABEL, H. J. Effects of dl, methionine hydroxyanalogue (MHA) or DL-methionine (DL-Met) on N-retention in broiler chickens and pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 81, p. 193–203, 1999.

23. ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T., EUCLIDES, R. F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos:** Composição de alimentos e exigências nutricionais. 3ª Edição. Viçosa: Imprensa Universitária, 2011. 252 p.

24. SAMPAIO, C.A.P.; CRISTIANI, J.; DUBIELA, J.A.; BOFF, C.E.; OLIVEIRA, M.A. Avaliação do ambiente térmico em instalação para crescimento e terminação de suínos utilizando os índices de conforto térmico nas condições tropicais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 785-790, 2004.

25. SANTOS, V.M.; THOMAZ, M.C.; PASCOAL, L.A.F.; RUIZ, U.S.; WATANABE, P.H.; HUAYNATE, R.A.R.; SILVA, S.Z.; FARIA, H.G. Digestibilidade, desempenho e características morfofisiológicas do trato digestório de leitões desmamados sob dietas com mananoligossacarídeo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 99-105. 2010.

26. SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistical analysis system, Release 8.0. Cary, NC, 2000. 544 p.

27. SILVA, A. M. R.; BERTO, D. A.; LIMA, G. J. M. M; WECHSLER, F. S.; PADILHA, P. M.; CASTRO, V. S. Valor nutricional e viabilidade econômica de rações suplementadas com maltodextrina e acidificante para leitões desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 286-295, 2008.

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

29. UTIYAMA, C. E.; OETTING, L. L.; GIANI, P. A.; RUIZ, U. S.; MIYADA, V. S. Efeitos de antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal, a frequência de diarreia e o desempenho de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 2359-2367, 2006.

30. VASSALO, M.; FIALHO, E.T.; OLIVEIRA, A. I. G.; TEIXEIRA, A. S; BERTECHINE, A. G. Probióticos para leitões dos 10 aos 30 kg de peso vivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 1, p. 131-138, 1997.

CAPÍTULO III. PROTEASE E BUTIRATO DE SÓDIO NAS DIETAS PRÉ-INICIAL, INICIAL I E INICIAL II PARA SUÍNOS: DIGESTIBILIDADE, PARÂMETROS SANGUÍNEOS, PESO DE ÓRGÃOS, PH E HISTOMORFOLOGIA INTESTINAL

RESUMO

Objetivou-se avaliar a digestibilidade, os parâmetros sanguíneos, o peso de órgãos, o pH do conteúdo do trato digestivo e a histomorfologia intestinal de suínos em fase de creche alimentados com protease e butirato de sódio. O experimento de digestibilidade foi dividido em duas fases, sendo fase I com animais de peso médio de 11,770 ± 0,730 kg e fase II em que os animais pesavam em média 23,070 ± 1,280 kg. Em cada experimento de digestibilidade, foram utilizados 16 leitões híbridos comerciais, machos castrados. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com quatro tratamentos e quatro repetições. O critério utilizado para formação dos blocos foi o peso dos animais. Os tratamentos consistiram de ração basal, ração basal com 200ppm de inclusão de protease, ração basal com 0,3% de inclusão de butirato de sódio e ração basal com protease (200ppm) e butirato de sódio (0,3%). Foram determinados os coeficientes de digestibilidade e metabolizabilidade da matéria seca, energia bruta, proteína bruta e matéria mineral. Para os parâmetros sanguíneos, peso de órgãos e histomorfologia foram utilizados 80 leitões híbridos comerciais, machos castrados, com 21 dias de idade e peso médio inicial de 5,11 ± 0,4645 kg, distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro tratamentos, cinco repetições e quatro animais por repetição. Foi utilizado os mesmos tratamentos do experimento anterior. Avaliado o perfil hematológico e bioquímico; pH dos conteúdos do estômago, duodeno, jejuno, íleo, cólon, ceco e reto; pesagem de órgãos e parâmetros histomorfométricos nos segmentos de duodeno, jejuno e íleo. Butirato de sódio melhorou o coeficiente de metabolizabilidade da proteína na fase inicial I, na fase inicial 2 a protease isolada e a associação de protease e butirato de sódio incrementaram a metabolizabilidade da proteína e a

protease ainda aumentou a absorção de minerais. Butirato de sódio diminuiu o número de plaquetas no sangue. Não houve diferenças nos valores de pH dos conteúdos intestinais do estômago, duodeno, jejuno, íleo, cólon, ceco, reto. O tratamento com butirato de sódio apresentou menores valores de peso relativo do intestino delgado e do pâncreas. Protease diminuiu o peso do intestino delgado e do fígado. A associação de protease e butirato de sódio diminuiu o peso do pâncreas. Butirato de sódio aumentou a base da vilosidade do duodeno e a protease diminuiu a altura da vilosidade no íleo. O melhor aproveitamento de nutrientes causado pela protease e butirato de sódio, diminiui a carga funcional dos órgãos do trato digestivo, refletindo em menores pesos de intestino delgado, fígado e pâncreas. Butirato de sódio contribui para o desenvolvimento da mucosa intestinal de leitões.

Palavras-chave: ácidos orgânicos, enzimas, leitões, metabolismo, morfologia intestinal, sangue

CHAPTER III. PROTEASE AND SODIUM BUTYRATE IN DIETS PRE - INITIAL, INITIAL INITIALII AND INITIAL II FOR SWINE: DIGESTIBILITY, BLOOD PARAMETERS, WEIGHT OF ORGANS, PH AND BOWEL HISTOMORPHOLOGY

ABSTRACT

Aimed to evaluate the digestibility, blood parameters, organs weight, pH of the contents of the digestive tract and bowel histomorphology of pigs in the nursery stage fed with protease and sodium butyrate. The digestibility experiment was divided into two stages, being stage I to animals with an average weight of 11.770 ± 0.730 kg and stage II in which animals weighed on average 1.280 kg ± 23,070. In each digestibility experiment, 16 commercial hybrid castrated males piglets were used. The experimental design was randomized blocks with four treatments and four replications. The criterion used for completing the blocks was the weight of the animals. Treatments consisted of basal diet, basal diet containing 200ppm inclusion of protease, basal diet with 0.3% addition of sodium butyrate and basal diet with protease (200ppm) and sodium butyrate (0.3 %). It was determined coefficient of digestibility and metabolizability of dry material, gross energy, crude protein and mineral material. For blood parameters, organs weight and histomorphology 80 commercial hybrids castrated males piglets were used, 21 days of age and initial weight of 5.11 ± 0.4645 kg, allotted in a completely randomized block design, with four treatments, five replicates of four animals each. The same treatments in the previous experiment were used. Hematological and biochemical assessed profile; pH of the contents of the stomach, duodenum, jejunum, ileum, colon, cecum and rectum; weighing of organs and histomorphometric parameters in the segments of duodenum, jejunum and ileum. Sodium butyrate improved metabolization coefficient of the protein in the initial phase I, the initial phase II isolated protease and the association of protease and sodium butyrate increased the metabolizable protein and protease even increased mineral absorption. Sodium butyrate decreased the number of blood platelets. There was no difference in pH of

the intestinal contents of the stomach, duodenum, jejunum, ileum, colon, cecum, and rectum. Treatment with sodium butyrate had lower relative weight of the small intestine and the pancreas. Protease decreased the weight of the small intestine and the liver. The combination of protease and sodium butyrate decreased pancreatic weight. Sodium butyrate increased the base of the duodenal villi protease and villus height decreased in the ileum. The better utilization of nutrients caused by protease and sodium butyrate, decrease the functional load of the organs of the digestive tract, reflecting lower weights of the small intestine, liver and pancreas. Sodium butyrate contributes to the development of intestinal mucosa of piglets.

Keywords: blood, enzymes, intestinal morphology, metabolismo, organic acids, piglets

1 INTRODUÇÃO

Com a otimização dos sistemas de produção, os leitões são desmamados precocemente e a saída da maternidade para a creche representa um choque para estes animais, pois deixam a companhia da mãe e, em substituição ao leite materno, passam a se alimentar exclusivamente de ração sólida.

Os principais ingredientes das dietas, como milho, cujo amido é pouco aproveitado pelos leitões em função do sistema enzimático não estar totalmente desenvolvido, e o farelo de soja, que pode desencadear fatores alergênicos responsáveis pela queda nos índices de desempenho dos leitões, por desenvolver resposta imune no intestino, resulta em encurtamento das vilosidades e hiperplasia das criptas (LI et al., 1991), reduzindo a digestão de alimentos e absorção de nutrientes.

A insuficiência digestiva e as desordens intestinais de leitões desmamados estão relacionadas a condição de não manterem o pH gástrico baixo pela baixa secreção de HCl, e seus efeitos sobre a ativação da pepsina, proliferação de coliformes (LOVATTO, 1996) e taxa de esvaziamento gástrico (MACHINSKY et al., 2010). A condição enzimática do sistema digestivo revela que os leitões têm capacidade limitada para digerir amido, sacarose, proteína e gordura, o que altera a osmolaridade do conteúdo intestinal (CORASSA et al., 2006), consequentemente, os nutrientes não absorvidos servem de substratos para o desenvolvimento de bactérias que podem causar distúrbios digestivos e aparecimento de diarréia.

Nos sistemas intensivos de produção de suínos, com frequência são utilizados antibióticos, em níveis subterapêuticos nas rações, para prevenir possíveis enfermidades e atuarem como promotores de crescimento, ao reduzirem microrganismos indesejáveis que se encontrem no tubo digestório. O possível desenvolvimento de resistência bacteriana a alguns antibióticos, que são utilizados na linha humana e o temor de que essa resistência provoque o desenvolvimento de cepas bacterianas resistentes aos antibióticos administrados aos suínos no decorrer da cadeia produtiva (PHILLIPS et al., 2004), tem pressionado a remoção de antimicrobianos das rações e

aumentado a busca por produtos alternativos que garantam máximo crescimento dos animais, dentre elas tem-se sugerindo o uso de enzimas e ácidos orgânicos.

A utilização de enzimas exógenas surgiu como alternativa para aumentar o valor nutritivo de ingredientes alimentares que possuem baixos coeficientes de digestibilidade e apresentam significativa fração de polissacarídeos não-amiláceos estruturais, fósforo fítico (CHESSON, 1987) e fatores antinutricionais, que não são hidrolisados pelas enzimas digestivas dos suínos (FURLAN et al., 1997). Além de potencializar a ação das enzimas endógenas, diminuindo, assim, a viscosidade da dieta, a poluição ambiental causada por nutrientes excretados nas fezes, na tentativa de melhorar o desempenho e a rentabilidade da criação.

Quanto aos ácidos orgânicos, alguns modos de ação são conhecidos; como a depressão do pH da dieta, o que lhe confere ação antimicrobiana (PARTANEN & MROZ, 1999); capacidade de estimular a conversão de pepsinogênio em pepsina através do estímulo pela redução do pH do meio gástrico, melhorando a capacidade digestiva protéica do animal (SILVA JUNIOR, 2009); aumenta a retenção de nitrogênio (ROMER & ABEL, 1999) e absorção de minerais (MROZ et al., 2000); estimula o crescimento dos vilos e criptas no ceco de suínos (PIVA et al., 2002), tem efeito anfi-inflamatório sobre as células da mucosa gástrica e intestinal (ANDOH et al., 1999), são fonte de energia para as células epiteliais do íleo terminal (CHAPMAN et al., 1995), afetam a proliferação das células da mucosa, secreção de mucina, motilidade ileal e cecal, fluxo de sangue na mucosa do cólon, e diferenciação celular dos colonócitos (SCHEPPACH, 1994).

Portanto, objetivou-se avaliar o efeito da adição de protease e butirato de sódio nas dietas de leitões na fase de creche, sobre a digestibilidade de nutrientes, os parâmetros sanguíneos, o peso de órgãos, o pH do conteúdo do trato digestório e as variáveis histomorfométricas intestinais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Condições experimentais

Os experimentos foram desenvolvidos no Setor de Suinocultura do Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (DPA/EVZ/UFG). Os procedimentos com os animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Programa de Pós Graduação da Universidade Federal de Goiás - CEP/PRPPG/UFG, inscrito sob o protocolo 323/11.

A temperatura e a umidade máximas e mínimas do galpão experimental foram monitoradas com hidrotermômetro digital.

2.2. Rações experimentais

Os tratamentos experimentais para os ensaios de digestibilidade e avaliação dos parâmetros sanguíneos, peso de órgãos, ph dos compartimentos do trato disgestivo e histomorfologia intestinal consistiram em ração basal, ração basal com 200ppm de inclusão de protease, ração basal com 0,3% de inclusão de butirato de sódio e ração basal com protease (200ppm) e butirato de sódio (0,3%). As rações foram formuladas de acordo com as recomendações de ROSTAGNO et al. (2011) para cada fase e em função do peso dos animais, fase pré-inicial (5,5 a 9,0 kg); inicial I (9,3 a 15,0 kg) e inicial II (15 a 30kg) (TABELA 1).

A protease (Tabela 2) e o butirato de sódio (Tabela 3) foram pré-misturados junto aos micro ingredientes e posteriormente acrescidos e misturados aos demais ingredientes das rações experimentais. Nas rações com protease e butirato de sódio isolados ou associados, os aditivos substituíram o inerte. O butirato de sódio não era microencapsulado.

TABELA 1 – Composição centesimal das dietas experimentais basais nas fases pré-inicial (5,5 a 9,0 kg), inicial 1 (9,3 a 15,0 kg) e inicial 2 (15 a 30kg) de leitões alimentados butirato de sódio e protease

Ingredientes* (%)	**Pré Inicial**	**Inicial 1**	**Inicial 2**
Milho grão	64,137	63,000	75,334
Soja farelo 45%	15,102	18,606	11,314
Glúten de milho 60%	2,000	2,000	2,000
Plasma sanguíneo	5,000	2,500	1,000
Hemácias	-	2,500	4,000
Farinha de vísceras de frango	3,000	3,000	3,000
Óleo de soja	3,124	2,683	-
Açúcar	3,000	1,781	-
Sal comum	0,242	0,274	0,417
Fosfato bicálcico	1,775	1,501	1,108
Calcário	0,582	0,683	0,743
L-lisina	0,722	0,396	0,195
Dl-metionina	0,149	0,088	0,023
L-treonina	0,267	0,136	0,032
L-triptofano	0,080	0,032	0,014
Suplemento mineral[1]	0,250	0,250	0,250
Suplemento vitamínico[2]	0,250	0,250	0,250
Caulim	0,320	0,320	0,320
TOTAL	100	100	100
Composição nutricional	**Pré Inicial**	**Inicial 1**	**Inicial 2**
Energia metabolizável (kcal/kg)	3,400	3,375	3,257
Proteína bruta (%)	20,00	21,000	18,130
Lisina digestível (%)	1,450	1,330	1,037
Metionina digestível	0,406	0,372	0,290
Treonina digestível (%)	0,914	0,838	0,653
Triptofano digestível (%)	0,261	0,239	0,187
Cálcio (%)	0,850	0,825	0,735
Fósforo disponível (%)	0,500	0,450	0,365
Sódio	0,280	0,230	0,250

*Sem promotor de crescimento. [1]Suplemento mineral: 5mg de cobre; 80mg de zinco; 80mg de ferro; 20 mg de manganês; 0,25 mg de selênio e 0,14 mg de I; [2] Suplemento vitamínico: 6.000UI vit. A; 1.320UI vit D3; 12mg vit. E; 1,47 mg vit. K3; 0,9 mg vit. B1; 3mg vit. B2; 1,8mg vit. B6; 12 mcg vit. B12; 0,3 mg ác. fólico; 9,3 mg ác. pantotênico; 18 mg niacina; 0,09 mg biotina; 240mg de colina.

Tabela 2 – Composição nutricional da protease

Composição nutricional*	**Pré Inicial**	**Inicial**
Proteína Bruta (%)	3455	3105
Lisina digestível (%)	63	41
Metionina digestível (%)	39	22
Metionina + Cistina Digestível (%)	127	99
Treonina Digestível (%)	381	295

*Rodozyme ProAct

Tabela 3 – Composição do butirato de sódio

Composição nutricional*	**Níveis de garantia**
Ácido butírico total (mín.)	250 g/Kg
Ácido butírico total (máx.)	180 g/Kg
Sódio (máx.)	40 g/Kg

*C4 powder – monobutyrin 25

2.3. Ensaio I – Experimento de digestibilidade

Foram realizados dois experimentos de digestibilidade com suínos em fase de creche, sendo a fase 1 com animais de peso médio de 11,770 ± 0,730 kg e fase 2 em que os animais pesavam em média 23,070 ± 1,280 kg. Em cada experimento de digestibilidade, foram utilizados 16 leitões híbridos comerciais, machos castrados, alojados em gaiolas para estudo de metabolismo, semelhante às descritas por PEKAS (1968). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com quatro tratamentos e quatro repetições. O critério utilizado para formação dos blocos foi o peso dos animais.

O período experimental teve duração de 15 dias: 10 dias de adaptação dos animais às gaiolas e às dietas experimentais e cinco dias de coleta das fezes e urina. Durante a fase de adaptação, foi quantificado diariamente o consumo voluntário de cada animal. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, às 7h e às 16h. A quantidade diária de ração foi fornecida por unidade de peso metabólico ($PV^{0,75}$) dos animais (SAKOMURA & ROSTAGNO, 2007). Após cada refeição, forneceu-se água à vontade aos animais.

Foi adicionado 2% de Fe_2O_3 nas rações para determinar o início e o final do período de coleta fezes (SAKOMURA & ROSTAGNO, 2007). As

fezes foram pesadas e homogenizadas diariamente, tomadas alíquotas de 20% do conteúdo total e acondicionadas em saco plástico armazenadas sob refrigeração para congelamento. Após o término do período de coleta, as fezes foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas, depois foram secas em estufa de ventilação forçada a 55ºC por 72 horas. Após esse processo, as amostras foram moídas em moinho de martelo e em seguida determinadas a matéria seca, energia bruta, proteína bruta e cinzas.

A urina excretada foi colhida uma vez por dia em recipientes contendo 20 mL de HCl (1:1), com a finalidade de evitar perda de nitrogênio e proliferação bacteriana. Para reter as impurezas principalmente de pêlos e fezes, foi colocado filtro no funil coletor. Após a pesagem a urina foi homogeneizada e colhida à alíquota de 20% ou 150 mL do conteúdo total diário, que foi armazenada em embalagens plásticas e guardadas para o congelamento. Ao final do período de coleta, as amostras foram homogeneizadas e retirada uma nova amostra para secagem a 55ºC por 72 horas em estufa de ventilação forçada para a determinação de matéria seca, energia bruta, proteína bruta e cinzas.

As análises laboratoriais da composição química das rações, fezes e urina foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal no Departamento de Produção Animal, de acordo com a metodologia descrita por SILVA & QUEIROZ (2002). A energia bruta da ração, fezes e urina foi determinada por bomba calorimétrica adiabática Modelo PARR, realizada no Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia. Foi empregado o método de SAKOMURA & ROSTAGNO (2007) para cálculo dos valores dos coeficientes de digestibilidade e metabolizabilidade da matéria seca, energia digestível, proteína bruta, matéria mineral.

2.4. Ensaio II - Parâmetros sanguíneos, peso de órgãos, pH e histomorfologia intestinal

Foram utilizados 80 leitões híbridos comerciais, machos castrados, com 21 dias de idade e peso médio inicial de 5,11 ± 0,4645 kg. Os animais

foram distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro tratamentos, cinco repetições, perfazendo o total de 20 unidades experimentais. O critério utilizado para formação dos blocos foi o peso dos animais. Cada unidade experimental foi composta por quatro animais, alojados em gaiolas suspensas com 2 m^2, um comedouro de PVC com duas bocas e um bebedouro automático, tipo chupeta. O consumo de ração e água foi à vontade. A duração do período experimental foi de 56 dias, de 12 de maio a 10 de julho de 2012, até que os animais atingissem o peso médio de 30,00 Kg.

Foram analisados os parâmetros hematológicos e bioquímicos; peso de órgãos; pH do estômago, duodedo, jejuno, íleo, cólon, ceco e reto; e histomorfologia intestinal de suínos em fase de creche alimentados com rações contendo protease e butirato de sódio.

2.4.1. Parâmetros sanguíneos

Antes do abate, foram colhidas amostras de sangue por venopunção jugular em tubos de vácuo com heparina, EDTA (ácido etilediaminotetracético e sal dissódico) a 10% e sem anticoagulantes (tubos vacutainer®). O sangue foi processado no mesmo dia, no Laboratório Multiusuário da Pós-Graduação em Ciência Animal, para análise do perfil hematológico e bioquímico. Foram usados reagentes comerciais (LABTEST®). A realização das análises sanguíneas foi segundo o procedimento determinado pelo fabricante para cada kit de reagente.

A análise do perfil hematológico foi realizada com o suporte tecnológico do BC-2800 vet, analisador de hematologia compacto, automático. A partir das amostras coletadas foram confeccionadas lâminas para avaliação morfológica das plaquetas e dos leucócitos. Os esfregaços foram secos ao ar e corados pela técnica de Leishman. Para determinação do fibrinogênio plasmático foi utilizada a técnica do microhematócrito.

Para realização das provas de função hepática e proteinograma e lipidograma sérico, as amostras foram centrifugadas depois da retração do coágulo. O soro foi separado em alíquotas e congelado à -20°C até o momento da realização dos exames de glicose, proteína sérica, albumina,

globulina e colesterol. As proteínas séricas foram determinadas pelo método colorimétrico, por reação com o biureto. A leitura foi feita em espectrofotômetro com comprimento de onda de 545 nm. A concentração sérica de colesterol foi determinada pelo método enzimático colorimétrico, por reação catalisada pela enzima colesterol oxidase e a dos triglicerídeos pelo método enzimático colorimétrico, mediante a reação catalisada pela lipoproteína lípase, ambos com leitura em analisador automático de química clínica.

2.4.2. Peso de órgãos, pH e histomofologia intestinal

Ao final do período experimental, após a pesagem, foi abatido um animal por unidade experimental, os quais antes de serem abatidos tiveram acesso às rações experimentais para que houvesse conteúdo intestinal nos segmentos do TGI. Os animais foram insensibilizados, por meio de choque elétrico de alta voltagem e baixa amperagem nas fossas temporais. Em seguida, foram desangrados e imediatamente feita à abertura abdominal do esterno até o púbis e efetuada a ligadura da porção cranial do esôfago e da porção caudal do reto.

Todo o trato gastrointestinal foi retirado e pesado (peso total do trato gastrointestinal, estômago cheio, estômago vazio, intestino delgado, intestino grosso, ceco), também foram pesados fígado, rins, pâncreas e baço. As pesagens foram usadas para mensurar o peso absoluto e relação órgão/corpo. No conteúdo do estômago, duodeno, jejuno, íleo, cólon, ceco e reto foi efetuada a leitura do pH por meio da inserção de eletrodo unipolar (pH100/pHTek®) (CANIBE et al., 2007).

Foram colhidas duas amostras de aproximadamente 1,0 cm de comprimento por segmento intestinal (duodeno, jejuno e íleo) de cada animal. As amostras foram lavadas em solução de formaldeído e fixadas por imersão em formol tamponado (10%). Após 24 horas na solução de fixação, as amostras foram lavadas em álcool 70% e posteriormente foram desidratadas conforme (LUNA, 1968). Após a desidratação procedeu-se o recorte e

imersão das amostras em parafina para obtenção dos cortes longitudinais, para confecção das lâminas histológicas.

As lâminas continham duas seções cortadas a 4 µm. As lâminas foram coradas com hematoxilina e eosina. As medições foram feitas mediante sistema de análise de imagem com ampliação de 10x (Microscópio Leica, Câmera Leica e software ImageJ). Foram medidas em cada seção de cada lâmina dez alturas das vilosidades (VH), dez larguras das vilosidades (VW) e dez profundidades das criptas (CD). A média das medidas VH, VW e CD foram tratadas como a unidade experimental (NOFRARÍAS et al., 2006; CANIBE et al., 2007).

A relação vilosidade/cripta foi calculada dividindo a altura das vilosidades pela profundidade das criptas. A área de superfície de absorção foi determinada mediante a fórmula $S_{(1)+(2)} = \pi(r^2/R) + \pi(R+r) \times \sqrt{h^2+(R-r)^2}$, em que: R: medida da base/2; r: medida do ápice/2; h: altura da vilosidade (NOFRARÍAS et al., 2006). A análise histomorfométrica foi realizada pela mesma pessoa.

2.5. Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa SAS versão 8.0 (SAS, 2000), sendo as médias comparadas por intermédio do teste de Duncan ($\alpha = 0,05$), à exceção do peso relativo dos órgãos, para esses dados foram utilizados $\alpha = 0,10$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1.Temperatura e umidade

A média de temperatura foi de 29,4ºC (máxima); 19,52ºC (mínima) e a média de umidade de 80,64% (máxima) e 52,5% (mínima). A temperatura ideal para suínos na fase de creche situa-se entre 24 e 20°C, devendo a temperatura do ar ser próxima dos 24°C nas primeiras semanas de alojamento,

e em torno de 20°C nas últimas (CAMPOS et al., 1999), a umidade ambiente deve ultrapassar 70% (SAMPAIO et al.,2004). Os valores encontrados estão fora dos padrões recomendados, contudo, para amenizar essas diferenças foram realizados o manejo de cortinas, o uso de lâmpadas para aquecimento dos leitões nos dias frios, nos dias mais quentes e nos horários mais quentes do dia, os animais eram molhados com água fria.

Segundo MENDONÇA (2010), temperaturas acima da zona de termoneutralidade reduzem a eficiência de utilização da energia ingerida, além de provocar a aceleração nas reações químicas devido à alta temperatura corporal, que responde com o aumento no metabolismo. Para NATIONAL RESEARCH COUNCIL, (1981) ambientes quentes diminuem a atividade da tireoide, diminuindo a taxa de passagem da digesta e resultando em alteração na digestibilidade dos nutrientes da ração; lembram ainda da modificação no tamanho dos órgãos e consequentemente, da exigência nutricional dos animais, como alterações fisiológicas provocadas pela adaptação a diferentes temperaturas.

Assim, considera-se que as condições ambientais do galpão experimental tenham influenciado no metabolismo, eficiência energética, motilidade intestinal associada a taxa de passagem e alteração da digestibilidade dos nutrientes da ração, bem como no peso dos órgãos.

3.2. Digestibilidade

Butirato de sódio melhorou o coeficiente de metabolizabilidade da proteína das rações na fase inicial 1, comparado com a ração basal e com a ração basal com 200ppm de protease (Tabela 4). O melhor aproveitamento da proteína causado pelo butirato de sódio pode ser explicado pela capacidade dos ácidos orgânicos reduzirem o pH gástrico, em meio ácido as enzimas proteolíticas estão mais ativas e há uma diminuição na taxa de esvaziamento, existindo mais tempo para a digestão proteica no estômago (MACHINSKY et al., 2010). No entanto, a ausência de alterações no pH gástrico e intestinal podem estar relacionados ao método empregado, que pode não ter sido capaz de detectar diferenças no pH (PARTANEN & MROZ, 1999). MACHINSKY et al. (2010) também encontraram

efeito da utilização de 0,3% de butitrato de sódio 85% (equivalente a 0,2% de ácido butírico) sobre o aumento da digestibilidade aparente da proteína bruta em suínos. Para DIBNER & BUTTIN (2002), o ácido butírico é convertido em metionina no interior do corpo, sendo considerado como suplemento deste aminoácido, contribuindo de forma a atender a exigencia nutricional dos animais em aminoácidos essenciais e no aproveitamento da proteina.

Tabela 4 - Coeficiente de digestibilidade da matéria seca (CDMS), da energia bruta (CDEB), da proteína bruta (CDPB) da matéria mineral (CDMM) e coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS), da energia bruta (CMEB), da proteína bruta (CMPB) e da matéria mineral (CMMM), de rações com protease e butirato de sódio para suínos em fase de creche

Variáveis	**Tratamentos***				**CV**[1]	**P-value**
	BASAL	**PRO**	**BUT**	**PRO+BUT**		
Fase Inicial 1 (9,3 a 15,0 Kg)						
CDMS (%)	88,86	88,42	89,73	89,64	1,46	*0,783*
CMMS (%)	82,56	81,67	83,50	84,57	4,41	0,716
CDEB (%)	85,24	89,65	90,15	90,25	4,91	0,347
CMEB (%)	82,08	85,69	87,05	87,73	6,30	0,483
CDPB (%)	87,76	88,85	89,17	88,81	1,64	0,605
CMPB (%)	39,44^{bc}	34,29^{c}	46,30^{a}	41,12^{ab}	8,81	0,004
CDMM (%)	99,55	99,78	99,62	99,87	0,18	0,104
CMMM (%)	88,28	85,96	84,15	90,78	11,69	0,813
Fase Inicial 2 (15 a 30,0 Kg)						
CDMS (%)	88,77	89,03	87,98	88,68	2,85	0,943
CMMS (%)	81,83	82,93	80,22	81,98	7,67	0,941
CDEB (%)	89,11	89,95	88,32	87,46	3,70	0,730
CMEB (%)	85,74	86,88	84,66	84,00	5,66	0,843
CDPB (%)	88,22	88,53	87,51	89,06	3,04	0,873
CMPB (%)	47,37^{b}	69,06^{a}	39,09^{b}	65,93^{a}	10,98	0,001
CDMM (%)	58,79	60,37	57,53	56,35	16,72	0,943
CMMM (%)	44,25^{b}	57,05^{a}	49,83^{ab}	48,79^{ab}	10,74	0,037

* BASAL - dieta basal, PRO – 200ppm protease, BUT - 0,3% butirato de sódio, PRO+BUT – 200ppm de protease + 0,3% de butirato de sódio; ^{a,b} Letras distintas na mesma linha apresentou diferença significativa no teste Duncan (α <0,05).[1]Coeficiente de variação

Na fase inicial 2 a protease isolada e a associação de protease e butirato de sódio incrementaram a metabolizabilidade da proteína, comparados com a ração basal e com o butirato de sódio. Ainda nesta fase, a protease aumentou a absorção de minerais em relação à ração basal. Proteínas pouco digestíveis, ou com fatores anti-nutricionais, ou proteínas alergênicas podem ter seu uso potencializado através da utilização de proteases (CLASSEN, 1996). As enzimas reduzem a viscosidade do bolo alimentar, aumentam a digestibilidade dos nutrientes e minimizam a capacidade tamponante da dieta, o que pode ter contribuído para o melhor aproveitamento dos minerais da dieta. Quando descontrolados, estes fatores contribuem para desequilíbrio e perdas. A alta viscosidade da dieta promove má absorção, fermentação bacteriana prejudicial e perda de sais biliares. Alta capacidade tamponante aumenta a diluição das enzimas digestivas e reduz a digestibilidade da proteína bruta, aumentando o risco de problemas entéricos (SILVA JUNIOR, 2009).

3.3. Parâmetros sanguíneos

Os valores de hematologia e bioquímica (Tabela 5) apresentaram-se normais quando comparados às tabelas de referencia (FRASER, 1991). Butirato de sódio diminuiu o número de plaquetas no sangue (P=0,047) em relação com a ração basal. Os valores normais de plaquetas citados para suínos são entre 100.000 a 900.000/µL (JAIN, 1993) e 200.000 a 500.000/µL (MEYER et al., 1995). As plaquetas têm importante papel na prevenção do processo de sangramento dos vasos, participando da hemostasia primária, um processo biológico que para o sangramento decorrente de injúria vascular por meio da formação de um tampão plaquetário. O desenvolvimento de doenças trombóticas envolve injúria e/ou disfunção do vaso sanguíneo e ativação de plaquetas (VANNI et al., 2007).

A trombose é a única característica clínica partilhada por deficiência hereditária de glicosilfosfatidilinositol (GPI) e hemoglobinúria paroxística noturna (HPN), neste último caso, a falta de CD59, um inibidor do complexo de ataque à membrana do complemento, leva as plaquetas a hipercoagulabilidade e contribuir para um aumento do risco de trombose (HUGEL et al. 1999). Na

deficiência herdada GPI, de 30 a 50 % das plaquetas CD59 são deficientes (ALMEIDA et. al., 2006), no entanto, fenilbutirato de sódio não teve efeito sobre o nível de expressão de CD59 em plaquetas, apesar do aumento da expressão de granulócitos CD59 (ALMEIDA et al., 2007).

TABELA 5 – Perfil hematológico e bioquímico de suínos em fase de creche alimentados com dietas contendo protease e butirato de sódio

Variáveis	Tratamento*				CV[1]	P-value
	BASAL	PRO	BUT	PRO+BUT		
Hematologia						
Leucócitos (/µL)	11880	13815	11910	12405	14,02	0,290
Hemácias (/µL)	7,37	7,35	7,73	7,23	7,52	0,550
Hemoglobina (g/dL)	13,32	17,70	14,08	12,90	8,20	0,399
VG[2] (%)	41,04	42,04	42,96	39,20	7,84	0,329
VCM[3] (fL)	55,86	57,14	42,96	39,20	5,19	0,528
HCM[4] (Pg)	18,08	18,54	18,18	17,86	5,60	0,763
CHCM[5] (g/dL)	32,40	32,56	32,72	33,00	2,94	0,786
Plaquetas (x10^3/µL)	398,00[a]	328,00[ab]	231,20[b]	344,80[ab]	26,31	0,047
Proteínas plasmáticas	6,60	6,44	6,98	6,68	6,36	0,273
Fibrinogênio (g/dL)	270,00	350,00	330,00	310,00	34,41	0,690
Bioquímica						
AST[6] (UI/L)	47,14	40,86	50,28	38,76	40,04	0,715
ALT[7] (UI/L)	42,95	33,97	35,52	34,57	37,69	0,717
GGT[8] (mg/dL)	28,05	39,84	33,66	32,14	34,41	0,845
Glicose (mg/dL)	93,45	97,96	99,51	100,31	19,60	0,942
Colesterol (mg/dL)	65,69	66,84	64,47	57,09	23,37	0,728
Triglicerídeos (mg/dL)	69,95	43,46	49,32	38,16	43,79	0,154
Proteínas totais (g/dL)	6,48	6,52	6,60	6,57	8,68	0,986
Albumina (g/dL)	3,37	3,35	3,34	3,38	10,30	0,998
Globulinas (mg/dL)	3,11	3,16	3,26	3,19	20,90	0,986

*BASAL - dieta basal, PRO – 200ppm de protease, BUT - 0,3% butirato de sódio, PRO+BUT – 200ppm de protease + 0,3% de butirato de sódio; [1]Coeficiente de variação,[2]volume globular, [3]volume globular médio, [4]hemoglobina corpuscular média, [5]concentração de hemoglobina corpuscular média, [6]aspartato amino transferase, [7]alanina amino transferase, [8]gamaglutamiltranspeptidase; [a,b] Letras distintas na mesma linha apresentou diferença significativa no teste Duncan (α <0,05);

Contudo, a mutação responsável pela deficiência hereditária de GPI é interrompida pela resposta do gene SP-1 ao butirato e está associada com a

hipoacetilação no promotor do gene PIGM. A modificação da acetilação com butirato de sódio aumenta a transcrição de PIGM e a expressão de GPI *in vivo* e *in vitro* e é de grande valor terapêutico (ALMEIDA et al., 2007). Butirato de sódio pode ser uma opção terapêutica para doenças que envolvem disfunções plaquetárias, tendo a inclusão de 0,3% de butirato de sódio efeito na diminuição do número de plaquetas no sangue em suínos na fase de creche.

3.4. Peso de órgãos

O peso dos órgãos é geralmente avaliado na observação da resposta do organismo animal a certos tratamentos, já que esses órgãos podem apresentar uma hipo ou hipertrofia dependendo das condições nutricionais as quais são submetidos (OLIVEIRA et al., 2006).

Com α=0,10, comparados com a ração controle, o tratamento com butirato de sódio apresentou menores valores de peso relativo do intestino delgado e do pâncreas. Protease diminuiu o peso do intestino delgado e do fígado. A associação de protease e butirato de sódio diminuiu o peso do pâncreas (Tabela 6).

Como observado no experimento de digestibilidade, a protease e o butirato de sódio, isolados e associados, melhoraram o coeficiente de metabolizabilidade da proteína e a protease melhorou a absorção de minerais. O melhor aproveitamento desses nutrientes, pode ter diminuindo a viscosidade do bolo alimentar e a carga funcional dos órgãos do trato digestivo, provocando a diminuição do pesos relativos do intestino delgado, fígado e pâncreas.

TONEL (2009) relatou existir a tendência para decréscimo do peso dos intestinos consecutivo à ingestão de uma dieta com butirato de sódio em leitões entre as três e oito semanas de idade, porém, em nenhum dos casos se atingiu o limiar de significância estatística.

A diminuição do peso do fígado pode ser relacionado com as menores quantidades de compostos nitrogenados transformados por este órgão (CHEN et al., 1999). O peso de fígado aumenta com o incremento do consumo de proteína bruta (BIKKER et al., 1994), pois este é um dos principais locais de degradação de aminoácidos e de metabolismo de

nitrogênio (CHEN et al., 1999). O pâncreas decresce em suínos alimentados com rações de baixa proteína bruta, em comparação com aqueles alimentos com rações convencionais, refletindo a menor quantidade de enzimas pancreáticas que foram necessárias para digerir a menor quantidade de proteína consumida pelos porcos alimentados com as dietas de baixa proteína (CHEN et al. 1999).

TABELA 6 – Peso relativo de órgãos de suínos em fase de creche alimentados com dietas contendo protease e butirato de sódio

Órgão	Tratamentos[1]					
	BASAL	PRO	BUT	PRO+BUT	CV[2]	P-value
	Peso relativo					
Peso vivo (kg)	30,07	30,11	31,05	30,32	3,76	0,510
Trato gastrointestinal (%)	14,67	12,80	13,65	13,93	11,36	0,334
Estômago cheio (%)	2,34	2,22	2,44	2,23	39,07	0,978
Estômago vazio (%)	0,75	0,81	0,83	0,77	13,17	0,670
Intestino delgado (%)*	6,62^{a}	5,53^{b}	5,67^{b}	6,12^{ab}	11,27	0,084
Intestino grosso (%)	3,88	3,14	3,48	3,87	14,08	0,102
Ceco (%)	1,24	0,91	1,18	1,01	35,59	0,513
Rim (%)	0,60	0,60	0,70	0,67	13,59	0,192
Baço (%)	0,16	0,18	0,20	0,20	18,28	0,274
Fígado (%)*	2,99^{a}	2,50^{b}	2,95^{a}	2,80^{ab}	0,87	0,054
Pâncreas (%)*	0,23^{a}	0,22^{ab}	0,20^{b}	0,19^{b}	12,32	0,073

*P= 0010; [1]BASAL - dieta basal, PRO – 200ppm protease, BUT - 0,3% butirato de sódio, PRO+BUT – 200ppm de protease + 0,3% de butirato de sódio; [2]Coeficiente de variação.

3.5 pH do trato digestório

Os valores de pH dos conteúdos intestinais do estômago, duodeno, jejuno, íleo, cólon, ceco e reto não foram influenciados (p>0,05) pelos tratamentos (Tabela 7).

Segundo BUGAUT (1987), os resultados da presente pesquisa pode ser explicado pela conversão do butirato em outras substâncias ou a absorção do butirato na parte esofágica do estômago, opinião também partilhada por ICHIKAWA et al. (2002) ao defenderem que, sendo o butirato de sódio um

ácido fraco e ingerido em pequenas doses, é parcialmente absorvido no estômago não influenciando o pH no restante trato gastrointestinal. De fato, o ácido butírico tem pKa=4,82, e segundo PARTANEN & MROZ (1999), a sua absorção é muito rápida em pH inferior ao seu pKa (pH do estômago < 2,9 em todos os regimes que continham ácido), mas permanece na sua forma dissociada e é fracamente absorvido a pH 5-6 (pH dos intestinos > 5 em todos os regimes).

TABELA 7 – Valores de pH dos conteúdos do estômago, duodeno, jejuno, íleo, cólon, ceco e reto de suínos em fase de creche alimentados com dietas contendo protease e butirato de sódio

Órgão	**Tratamentos**[1]					
	BASAL	**PRO**	**BUT**	**PRO+BUT**	**CV**[2]	**P-value**
			pH			
Estômago	2,6	3,3	2,6	2,8	24,61	0,30*3*
Duodeno	5,5	6,2	5,9	5,7	7,06	0,123
Jejuno	6,4	6,2	6,4	6,2	7,38	0,852
Íleo	6,3	6,5	6,4	6,5	6,16	0,847
Cólon	5,8	5,6	5,9	5,6	5,19	0,297
Ceco	5,7	5,6	5,8	5,5	5,73	0,433
Reto	6,4	6,3	6,3	6,2	8,16	0,943

[1]BASAL - dieta basal, PRO – 200ppm protease, BUT - 0,3% butirato de sódio, PRO+BUT – 200ppm de protease + 0,3% de butirato de sódio; [2]Coeficiente de variação.

Outra possível explicação está relacionada ao momento de coleta da digesta para análise de pH (PARTANEN & MROZ, 1999), uma vez que os animais receberam ração à vontade, porém não é possível assegurar o estágio de digestão em que os animais estavam no momento do abate. Nos estudos de RADCLIFFE et al. (1998), os ácidos orgânicos reduziram o pH gástrico; enquanto que em BURNELL et al. (1988), RISLEY et al. (1992) e GABERT & SAUER, (1995) não foi observado qualquer efeito. Variações nas medições de pH gástricos indicam dificuldade na obtenção da amostra representantiva, bem como nas proporções de alimento e de secreções endógenas, que são variáveis de amostra para amostra (PARTANEN & MROZ, 1999).

O tempo de amostragem deve ser padronizado em relação ao tempo de alimentação, e, as medições devem ser feitas nas seções específicas do estômago. Sem técnicas de punção e eletrodos de pH permanentemente fixos para simultâneas medições em diferentes partes do estômago e do intestino, pode ser difícil avaliar objetivamente os efeitos dos ácidos orgânicos na dieta sobre o pH gastrointestinal (PARTANEN & MROZ, 1999).

Reduções no pH do conteúdo digestório de animais que recebem ácidos orgânicos em suas rações são de difícil detecção, devido a diversos fatores como: grande variação nas metodologias utilizadas, possíveis contaminações entre o conteúdo gástrico e o intestinal, dificuldade na mensuração do pH nos órgãos digestórios, os ingredientes utilizados nas dietas, os tipos e os níveis de inclusão de aditivos (PARTANEN & MROZ, 1999).

3.6 Histomorfologia intestinal

A dieta com butirato de sódio aumentou a base da vilosidade do duodeno em ração a ração basal e a protease. A protease diminuiu a altura da vilosidade no íleo comparada com a dieta basal (Tabela 8) (Figura 1). Os valores morfométricos deste estudo estão em escala comparável com dados de animais saudáveis desmamados precocemente, conforme CERA et al. (1988) e MANZANILLA et al. (2009).

TABELA 8 - Histomorfometria intestinal de leitões de 30 kg de peso alimentados com protease e butirato de sódio

Variáveis[1]	Tratamentos[2]				CV[3]	P-value
	BASAL	PRO	BUT	PRO+BUT		
Duodeno						
Altura de vilosidade (µm)	1460,5	1554,0	1647,6	1508,5	9,3	0,308
Base da vilosidade (µm)	537,4^{b}	570,0^{b}	706,3^{a}	608,9^{ab}	12,1	0,002
Superfície de contato (µm^2)	823166	746383	116541	980381	30,1	0,158
Profundidade de cripta (µm)	565,7	529,6	575,2	138,1	19,7	0,934
Vilosidade:cripta	2,8	2,9	2,9	2,8	22,5	0,999

Variáveis[1]	Tratamentos[2]				CV[3]	P-value
	BASAL	PRO	BUT	PRO+BUT		
Jejuno						
Altura de vilosidade (µm)	1590,2	1635,3	1415,6	1514,0	16,9	0,728
Base da vilosidade (µm)	839,1	790,3	709,5	792,9	15,1	0,547
Superfície de contato (µm^2)	163566	164007	143099	167195	31,4	0,940
Profundidade de cripta (µm)	534,8	508,9	460,8	494,3	19,5	0,795
Vilosidade:cripta	3,0	3,2	3,1	3,2	23,0	0,995
Íleo						
Altura de vilosidade (µm)	1646,1^a	1330,5^b	1554,4^{ab}	1440,9^{ab}	11,6	0,039
Base da vilosidade (µm)	719,3	838,5	914,6	842,6	17,2	0,337
Superfície de contato (µm^2)	104606	136615	157359	138184	29,5	0,362
Profundidade de cripta (µm)	503,1	471,5	535,8	454,4	21,3	0,546
Vilosidade:cripta	3,4	2,9	3,0	3,1	20,3	0,744

[1]Valores de n=5; [2]BASAL - dieta basal, PRO – 200ppm protease, BUT - 0,3% butirato de sódio, PRO+BUT – 200ppm de protease + 0,3% de butirato de sódio; [3]CV: coeficiente de variação.

SALMINEN et al. (1998) relataram que butirato de sódio aumentam significativamente a proliferação de células estaminais nas criptas intestinais. Ao aumentar o comprimento das vilosidades intestinais, butirato de sódio amplia a superfície de absorção do intestino, em especial no proximal e distal jejuno e íleo, assim, influenciar favoravelmente a absorção de nutrientes a partir de o lúmen intestinal (KOTUNIA et al., 2004). Em cultura de órgãos de mucosa do cólon humano *in vitro*, butirato estimulou a proliferação de células epiteliais (SCHEPPACH et al., 1992).

Os resultados obtidos no experimento de digestibilidade (Tabela 4) foram coerentes com resultados verificados da histomorfometria intestinal de leitões (Tabela 8). Butirato de sódio aumentou a base da vilosidade do duodeno, aumentando superfície de absorção, contribuindo para o melhor aproveitamento da proteína.

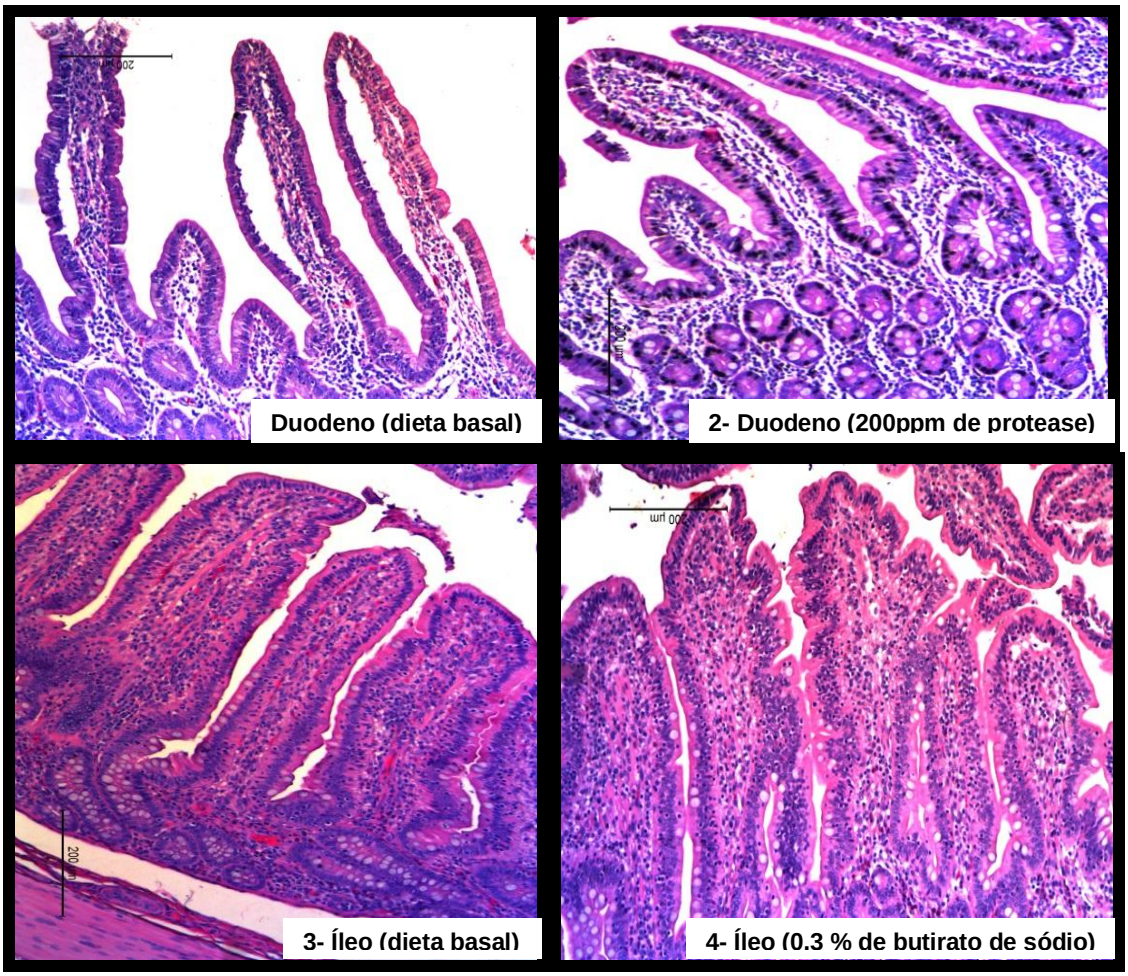

FIGURA 1 – Histomorfometria de leitões alimentados com protease e butirato de sódio

4. CONCLUSÃO

A protease isolada ou associada ao butirato de sódio melhorara o coeficiente de metabolizabilidade da proteína e a absorção de minerais. O melhor aproveitamento desses nutrientes diminui a carga funcional dos órgãos do trato digestivo, refletindo em menores pesos de intestino delgado, fígado e pâncreas. Butirato de sódio aumenta a base da vilosidade do duodeno, consequentemente, aumenta o aproveitamento da proteína.

5. REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA, A. M.; MURAKAMI, Y.; LAYTON, D. M.; HILLMEN, P.; SELLICK, G. S.; MAEDA, Y.; RICHARDS, S.; PATTERSON, S.; KOTSIANIDIS, I.; MOLLICA, L.; CRAWFORD, D. H.; BAKER, A.; FERGUSON, M.; ROBERTS, I.; HOULSTON, R.; KINOSHITA, T.; KARADIMITRIS, A. Hypomorphic promoter mutation in PIGM causes inherited glycosylphosphatidylinositol deficiency. **Nature Medicine** v.12, n. 7, p. 846-851, 2006.

2. ALMEIDA, A. M.; MURAKAMI, Y.; BAKER, A.; MAEDA, Y. ROBERTS, I. A. G.; KINOSHITA, T.; LAYTON, D. M.; KARADIMITRIS, A. Targeted Therapy for Inherited GPI Deficiency. **New England Journal of Medicine**, v. 356, p. 1641-1647, 2007.

3. ANDOH A.; BAMBA, T.; SASAKI, M. Physiological and anti-inflammatory roles of diatery fiber and butyrate in intestinal functions. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 23, p. 70-73, 1999.

4. BIKKER, P.; KARABINAS, V.; VERSTEGER, M. W.; CAMPBELL, R. G. Partitioning of dietary nitrogen between body components and waste in young growing pigs. **Netherlands Journal of Agriculture Science**, v.42, p.37-45, 1994.

5. BUGAUT, M. Occurrence, absorption and metabolism of short chain fatty acids in the digestive tract of mammals. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**: **Biochemistry and Molecular Biology**, v. 86, p. 439-472, 1987.

6. BURNELL, T.W.; CROMWELL, G. L.; STAHLY, T.S. Effects of dried whey and copper sulfate on the growth responses to organic acid in diets for weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 1100- 1108, 1998.

7. CAMPOS, J. A.; TINÔCO, I. F.; BAÊTA, F. C; CECON, P. R.; MAURI, A.L. Qualidade do ar, ambiente térmico e desempenho de suínos criados em creches com dimensões diferentes. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 339-347, 2009.

8. CANIBE, N.; HØJBERG, O.; BADSBERG, J. H. JENSEN, B. B. Effect of feeding fermented liquid feed and fermented grain to piglets on gastrointestinal ecology and growth performance. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 2959-2971, 2007.

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

10. CHAPMAN, M. A.; M. GRAHN, M. F.; HUTTON, M.; WILLIAMS, N. S. Butyrate metabolism in the terminal ileal mucosa of patients with ulcerative colitis. **British Journal of Surgery**, v. 82, p. 36-38, 1995.

11. CHEN, H. Y.; LEWIS, A. J.; MILLER, P. S.; YENT, J. T. The effect of excess protein on growth performance and protein metabolism of finishing barrows and gilts. **Journal of Animal Science**, v.77, p.3238-3247, 1999.

12. CHESSON, A. Supplementary enzymes to improve the utilization of pig and poultry diets. In: **Recent advance in animal nutrition**, Butterworths, p. 71-89. 1987.

13. CLASSEN, H.L. Cereal grain starch and exogenous enzymes in poultry diets. **Animal Feed Science Technology**, v. 62, p. 21-27. 1996.

14. CORASSA, A.; LOPES, D.C.; OSTERMANN, J.D.; SANFELICE, A. M.; TEIXEIRA, A. O.; SILVA, G. F.; PENA, S. M. Níveis de ácido fólico em dietas contendo ácido fórmico para leitões de de 21 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 2, p. 462-470, 2006.

15. DIBNER, J. J.; BUTTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 11 p. 453-463, 2002.

16. FRASER, C.M. **Manual Merck de Veterinária**. São Paulo: Roka, 1991.

17. FURLAN, A.C.; FRAIHA, M.; MURAKAMI, A.E.; MARTINS, E. N.; SCAPINELLO, C.; MOREIRA, I. Utilização de complexo multienzimático em dietas de frangos de corte contendo triticale. 1. Ensaio de digestibilidade. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 4, p. 759-764, 1997.

18. GABERT, V.M.; SAUER, W.C.; SCHMITZ, M.; AHRENS, F.; MOSENTHIN R. The effect of formic acid and buffering capacity on the ileal digestibilities of amino acids and bacterial populations and metabolites in the small intestine of weanling pigs fed semipurified fish meal diets. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 75, p. 615- 623, 1995.

19. HUGEL, B.; SOCIÉ, G.; VU, T.; TOTI, F.; GLUCKMAN, E.; FREYSSINET, J. M.; SCROBOHACI, M. L. Elevated levels of circulating procoagulant microparticles in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and aplastic anemia. **Blood**, v. 93, n. 10, p.3451-3456, 1999.

20. ICHIKAWA, H.; SHINEHA R.; SATOMI, S.; SAKATA, T. Gastric or rectal instillation of shortchain fatty acids stimulates epithelial cell proliferation of small and large intestine in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 47 p. 6-1141, 2002.

21. JAIN, N. M. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea e Febiger, 1993, 417p.

22. KOTUNIA, A.; WOLIŃSKI, J.; LAUBITZ, D.; JURKOWSKA, M.; ROMÉ, V.; GUILLOTEAU, P.; ZABIELSKI, R. Effect of Sodium Butyrate on the small intestine development in neonatal piglets feed by artificial sow. **Journal of physiology and pharmacology**, v. 55, p. 59-68, 2004.

23. LI, D. F.; NELSSEN, J. L.; REDDY, P. G.; F. BLECHA, F.; KLEMM, R. D.; GIESTING, D. W.; HANCOCK, J. D.; ALEE, G. L.;R. D. GOODBAND, R. D. Measuring suitability of soybean products for early-weaned pigs with immunological criteria. **Journal Animal Science,** v. 69, n.8, p. 3299-3307, 1991.

24. LOVATTO, P. A. **Suinocultura Geral**. 1.ed. Santa Maria: CCR, 1996. Disponível em: http://w3.ufsm.br/suinos/CAP5_alim.pdf. Acesso em: fev. 2013.

25. LUNA, L. G. **Manual of histology staining methods of the Armed Forces Institute Pathology**. 3. ed. New York: McGraw hill, 1968. 258 p.

26. MACHINSKY, T.G.; KESSLER, A. M.; RIBEIRO, A. M. L.; MORAES, M. L.; SILVA, I. C. M.; CORTÉS, M. E. M. Digestibilidade de nutrientes e balanço de Ca e P em suínos recebendo dietas com ácido butírico, fitase e diferentes níveis de cálcio. **Ciência Rural**, v.40, p.2350-2355, 2010.

27. MANZANILLA, E, G.; PÉREZ, J. F.; MARTÍN, M.; BLANDÓN, J. C.; BAUCELLS, F.; KAMEL, C.; GASA, J. Dietary protein modifies effect of plant extracts in the intestinal ecosystem of the pig at weaning. **Journal Animal Science,** v. 87, p. 2029-2037, 2009.

28. MENDONÇA, A. B. **Conforto térmico em suínos visando melhoria na produção e qualidade do produto final**. 2010. 34f. Monografia (Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) - Universidade Castelo Branco, Campinas.

29. MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de laboratório veterinária: interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995, 320 p.

30. MROZ, Z.; JONGBLOED, A. W.; PARTANEN, K. H.; VREMAN, K.; KEMME, P. A.; KOGUT, J.The effects of calcium benzoate in diets with or without organic acids on dietary buffering capacity, apparent digestibility, retention of nutrients, and manure characteristics in swine. **Journal of animal Science**, v.78, p. 2622-2632, 2000.

31. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Effect of environmental on nutrient requeriments of domestic animals**. Washington: National Academies Press, 1981. 52p.

32. NOFRARÍAS, M., E. G MANZANILLA, J. PUJOLS, X. GIBERT, N. MAJÓ, J. SEGALÉS, AND J. GASA. Effects of spray-dried porcine plasma and plant extracts on intestinal morphology and on leukocyte cell subsets of weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 2735-2742. 2006.

33. OLIVEIRA, V.; FIALHO, E. T.; LIMA, J. A. F.; FREITAS, R. T. F.; BERTECHINI, A. G.; ARAUJO, J. S. Características de carcaça e peso de vísceras em suínos alimentados com rações contendo baixos teores de proteína bruta. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.6, p.1890-1895, 2006.

34. PARTANEN, K.H.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pigs diets. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 12, n. 1, p.117-145, 1999.

35. PEKAS, J. C. Versatible swine laboratory apparatus for physiologic and metabolic studies. **Journal of Animal Science**, v.27, n.5, p. 1303-1309, 1968.

36. PHILLIPS, I.; CASEWELL, M.; COX, T.; DE GROOT, B.; FRIIS, C.; JONES, R.; NIGHTINGALE, C.; PRESTON, R.; WADDELL, J. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 53, n. 1, p. 28-52, 2004.

37. PIVA, A.; PRANDINI, A.; FIORENTINI, L.; MORLACCHINI, M.; GALVANO, F.; LUCHANSKY, J. B. Tributyrin and lactitol synergistically enhanced the trophic status of the intestinal mucosa and reduced histamine levels in the gut of nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 670-680, 2002.

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

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

40. ROMER, A.; ABEL, H. J. Effects of dl, methionine hydroxyanalogue (MHA) or DL-methionine (DL-Met) on N-retention in broiler chickens and pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 81, p. 193-203, 1999.

41. ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos:** Composição de alimentos e exigências nutricionais. 3ª Edição. Viçosa: Imprensa Universitária, 2011. 252 p.

42. SALMINEN, S.; BOULEY, C.; BOUTRON-RUAULT, M. C; CUMMINGS, J. H.; FRANCK, A.; GIBSON, G.R.; ISOLAURI, E.; MOREAU, M. C.; ROBERFROID, M.; ROWLAND, I. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. ***British*** Journal of ***Nutrition***, v. 80, p. 147-171, 1998.

43. SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisas em nutrição de monogástricos.** Jaboticabal: Funep, 2007. p.57-61.

44. SAMPAIO, C.A.P.; CRISTIANI, J.; DUBIELA, J.A.; BOFF, C.E.; OLIVEIRA, M.A. Avaliação do ambiente térmico em instalação para crescimento e terminação de suínos utilizando os índices de conforto térmico nas condições tropicais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 785-790, 2004.

45. SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistical analysis system, Release 8.0. Cary, NC, 2000. 544 p.

46. SCHEPPACH, W.; BARTRAM, P.; RICHTER, A.; et al. Effect of short-chain fatty acids on the human colonic mucosa in vitro. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, v. 16, p. 43-48, 1992.

47. SCHEPPACH, W. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. **Gut,** London, v. 35, p. S35-S38, 1994.

48. SILVA, D. J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 3.ed. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.

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

50. TONEL, I. S. P. A. **Efeito da utilização de butirato de sódio na digestibilidade, actividade fermentativa e morfologia intestinal de leitões desmamados**. 2009. 58f. Dissertação (Mestrado em Engenharia agronómica – Agropecuária) - Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

51. VANNI, D. S.; HORSTMANN, B.; BENJO, A. M.; DAHER, J. P.L; KANAAN, S.; SLEIMAN, M. Óxido nítrico: inibição das plaquetas e participação na formação do trombo. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n.3, p. 181-189, 2007.

CAPITULO IV. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de protease e butirato de sódio não melhorou o ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar dos animais. A falta de resposta à suplementação enzimática de protease sugere que a atividade da enzima não limitou o desempenho de leitões após o desmame, contrariando a evidência de que a queda da digestibilidade dos nutrientes no pós-desmame é resultado de atividade enzimática reduzida de protease.

A protease diminuiu a incidência de diarreia de leitões dos 15 aos 30 kg de peso, provavelmente pelo melhor aproveitamento observado na proteina e minerais, evitando que alimentos não digeridos cheguem ao intestino e sirvam de substrato para bactérias causadoras de distúrbios digestivos. Contudo, recomenda-se que não seja utilizado o plasma sanguíneo como ingrediente quando se pretende analisar a incidência de diarreia, já que seus componentes tem efeito sobre a saúde da mucosa intestinal, podendo mascarar os resultados.

Protease e o butirato de sódio, isolados e associados, melhoraram o coeficiente de metabolizabilidade da proteína e a protease melhorou a absorção de minerais. O melhor aproveitamento desses nutrientes, diminuindo a viscosidade do bolo alimentar e a carga funcional dos órgãos do trato digestivo, refletiu na diminuição do peso relativo do intestino delgado, do fígado e do pâncreas.

O butirato melhorou a histomorfometria intestinal, aumentando a base da vilosidade do duodeno, confirmando a capacidade deste ácido na melhoria da saúde intestinal.

Sugere-se a utilização de marcadores para definição exata dos ógãos do trato digestivo atingidos pelo butirato de sódio. Bem como a utilização de butirato de sódio microemcapsulado em ensaios experimentais, para que este chegue até os intestinos, agindo localmente e produzindo melhores resultados.

Na utilização conjunta de protease e butirato de sódio, com o proposito de potencializar o uso desta enzima pela diminuição do ph causada

pelo ácido orgânico, é importante que a protease utilizada seja ativa em pH ácido.

Propõe-se pesquisas que relacionem o uso de protease e butirato de sódio sobre o impacto ambiental da produção de suínos, já que esses aditivos se mostraram eficientes na melhoria do aproveitamento de proteina e minerais, podendo portanto, diminuir a excreção desses nutrientes e o potencial poluente das fezes desses animais.