

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como potenciais promotores de  
crescimento de leitões recém-desmamados**

**Leandro Batista Costa**

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em  
Agronomia. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens**

**Piracicaba  
2009**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



Leandro Batista Costa  
Zootecnista

**Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como potenciais promotores de crescimento de leitões recém-desmamados**

Orientador:  
Prof. Dr. VALDOMIRO SHIGUERU MIYADA

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em  
Agronomia. Área de concentração: Ciência Animal e  
Pastagens**

**Piracicaba  
2009**



**Dedicatória****A Deus,****Por tudo que conquistei, pelo que tenho e sou.****A meu pai Fernando,****Por ter me proporcionado momentos inesquecíveis, apesar de poucos...Saudades eternas!****A minha mãe Sebastiana,****Pelo amor incondicional! Pela presença, ensinamentos, honestidade, caráter e humildade!****A minha irmã Viviane,****Pelo exemplo de garra e determinação! Pelas palavras e conselhos! Pela eterna amizade!****Aos meus familiares,****Pela presença em todos os momentos da minha vida!****Sou eternamente grato a todos vocês!****DEDIÇÃO****A minha sobrinha Júlia,****Pelos momentos de extrema felicidade! Pelos risos e brincadeiras! Por fazer de mim uma eterna criança! Pelo amor e confiança em mim depositados!****Aos meus verdadeiros amigos,****Pela força e palavras nos dias mais difíceis! Pela presença nos momentos mais felizes! Obrigado por fazerem parte da minha vida!****OFEREÇO****Amo todos vocês...infinitamente!**



## AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Universidade de São Paulo e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso e por ser minha segunda casa;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos;

Ao Prof. Dr. Valdomiro Shigueru Miyada, pela orientação, profissionalismo, sugestões, apoio e confiança durante a realização deste trabalho. Pela eterna e inesquecível amizade! Obrigado pela realização deste grande sonho!

Ao Prof. Dr. José F. M. Menten, pelas sugestões e ajuda durante todo o curso. Pelo exemplo de profissionalismo!

Ao Prof. Dr. Irineu Humberto Packer, pela orientação durante a análise estatística;

Ao Prof. Dr. Gerson Barreto Mourão, pelas sugestões e a ajuda nas análises estatísticas;

Ao Prof. Dr. José Eurico Possebon Cyrino, pela atenção, descontração e amizade durante todo o curso;

Aos Professores do Departamento de Zootecnia, pelo convívio e amizade;

À Prof. Dra. Aline M. C. Racanicci, pela amizade, profissionalismo, sugestões e co-orientação durante todo o projeto. Mais do que nunca.....Prof. Aline!

Ao amigo Laureano Galeazzi pela amizade, colaboração e sugestões que enriqueceram este trabalho. Obrigado por acreditar em mim!

À Dra. Patrícia Pauletti, pela enorme colaboração e sugestões que enriqueceram este trabalho.

À Dra Liliana L. Oetting, pela amizade, sugestões e grande colaboração durante todo o curso;

Ao Dr. Marcos L. P. Tse, pela amizade incondicional, sugestões e inestimável colaboração. Obrigado pela presença!

Aos amigos Bernardo Berenchtein e Vivian Vezzoni de Almeida, pela amizade, sugestões, participação e ajuda irrestrita na condução dos experimentos. Esta conquista também é de vocês!

Às amigas Débora B. Braz e Carla de Andrade, pela amizade, momentos e ajuda durante todo o curso;

À colega Petra pela ajuda nos experimentos;

Aos colegas Maurício C. Dutra e Lucas Mari pela grande colaboração no abate e na análise de morfometria dos órgãos;

Aos funcionários do Setor de Suinocultura, Sr. Pires, Leonilço, e Gilberto Júnior, pela ajuda na realização dos experimentos;

Aos funcionários de campo, Augusto, Antônio Carlos, Paulinho, José Knpik, Alexandre, Gilberto Duarte, Luis Fernando e Ednézio, pela colaboração nos experimentos;

Aos funcionários e colegas do Departamento de Zootecnia, Henrique, Vera, Cláudia, Giovana, Eleonora, Creide, Rose e Bruna, pelos momentos inesquecíveis e pela grande ajuda durante todo o curso;

Aos colegas Ricardo, Jony, Gustavo, Pricila, Julieta, Fabianne, Karen, Cynthia, Kelen, Patrícia, Camila e Mohamed pelos ótimos momentos de convivência;

Aos colegas Adriana Figueiredo e Rangel, pela colaboração na realização do projeto;

Aos amigos Bia e Valnei, pela amizade incondicional, pelos momentos inesquecíveis e por se tornarem grandes amigos!

Ao “irmão” Luís Fernando Romanholo, pela alegria de sempre, amizade, apoio e momentos que jamais esquecerei. Obrigado por estes anos de convivência....que sejam eternos!

Aos amigos de Piracicaba Pisgui, Nai, Cba, Ticiane, Kinha, Esmerê, Flipper, Christophe, Xoiu, Álvaro, Anderson, Eric, Tatiane, Cleverson, Gabi, Aline e Kerli, pelo prazer de tê-los como amigos e pelos grandes momentos que me proporcionaram. Vocês estarão sempre em meus pensamentos!

Aos amigos de república Ataq, Fernando, Beto e Caio, por serem minha segunda família!

Aos amigos do vôlei Rafael Armas, Rafael Leal, Paulinha, Aurélio, Xiua, Saly, Gui, Marise e Giselle por todos os momentos de descontração;

Aos professores Eduardo Alves e Giovanna, da UFLA, pelas sugestões e por cederem seus laboratórios para realização das análises histológicas;

À colega Débora Moretti, pela ajuda no preparo dos reagentes e das amostras histológicas;

À amiga Luana, pela amizade de longas datas e pela inestimável ajuda na realização das análises de microscopia eletrônica de varredura. Obrigado por ser minha grande amiga!

À colega Renata, pela ajuda e sugestões nas análises de microscopia óptica;

Aos sempre amigos Belami, Érika, Janine, Márcio Zangerônimo, Natália, Everton, Giovana, Karina, Luciana, Luis Fernando Porto, Betinho e Wisner, pela sincera amizade e por fazerem parte da minha vida. Obrigado pelos momentos e pela força!

À empresa Inve Nutrição Animal Ltda, pelo apoio financeiro na condução dos experimentos;

Às empresas Nutron Alimentos Ltda, Sloten do Brasil Ind. e Com. Ltda e APC do Brasil Ltda, pela doação de ingredientes para a produção das dietas experimentais;

Ao CENA-USP pelas análises de cromo;

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Estrutural do Departamento de Fitopatologia da UFLA, pelas análises de microscopia eletrônica de varredura;

Ao Laboratório de Patologia do Departamento de Medicina Veterinária da UFLA, pelas análises de microscopia óptica;

Ao Laboratório de Citologia do Departamento de Biologia da UFLA, pelas análises micrométricas dos cortes histológicos;

Ao Sr. Cornélio, pelos animais utilizados no experimento;

A todos que de maneira direta ou indireta contribuíram para a realização de mais um grande sonho, o meu eterno agradecimento.



## SUMÁRIO

RESUMO .....	11
ABSTRACT .....	13
LISTA DE FIGURAS .....	15
LISTA DE TABELAS .....	17
1 INTRODUÇÃO .....	19
2 DESENVOLVIMENTO.....	21
2.1 Revisão Bibliográfica.....	21
2.1.1 Desenvolvimento do trato digestório de leitões recém-desmamados .....	21
2.1.2 Aditivos – Microingredientes promotores de crescimento.....	23
2.1.2.1 Modos de ação dos antimicrobianos promotores de crescimento .....	24
2.2 Limitações ao uso de aditivos antimicrobianos na produção animal .....	25
2.3 Aditivos fitogênicos .....	27
2.3.1 Modos de ação dos aditivos fitogênicos .....	28
2.3.1.1 Atividade antimicrobiana.....	29
2.3.1.2 Influência na palatabilidade da dieta e nas funções intestinais.....	30
2.3.1.3 Atividade antioxidante.....	32
2.3.1.4 Outros efeitos dos aditivos fitogênicos.....	34
2.4 Ácidos orgânicos .....	36
2.4.1 Efeitos biológicos do ácido butírico.....	40
2.4.1.1 Efeito do ácido butírico no metabolismo celular .....	40
2.4.1.2 Absorção de sódio (Na) .....	41
2.4.1.3 Efeito no sistema imune .....	41
2.4.1.4 Efeito na microbiota intestinal .....	41
2.5 Material e métodos .....	42
2.5.1 Instalações experimentais e animais.....	42
2.5.2 Aditivo fitogênico e ácido butírico.....	42
2.5.3 Tratamentos e dietas basais.....	43
2.5.4 Experimento.....	45
2.5.4.1 Desempenho.....	46

2.5.4.2	Determinação do pH das dietas experimentais .....	46
2.5.4.3	Histologia do epitélio intestinal.....	46
2.5.4.3.1	Microscopia óptica .....	46
2.5.4.3.2	Microscopia eletrônica de varredura .....	48
2.5.4.4	pH do estômago, jejuno e ceco.....	49
2.5.4.5	Morfometria de órgãos .....	49
2.5.4.6	Digestibilidade aparente dos nutrientes .....	49
2.5.4.7	Frequência de diarreia.....	50
2.5.5	Delineamento experimental e análise dos dados.....	50
2.6	Resultados e discussão .....	51
2.6.1	pH da dieta .....	51
2.6.2	Desempenho .....	52
2.6.3	Histologia do epitélio intestinal.....	57
2.6.4	pH do estômago, jejuno e ceco.....	62
2.6.5	Morfometria de órgãos.....	64
2.6.6	Digestibilidade aparente dos nutrientes .....	66
2.6.7	Frequência de diarreia .....	68
3	CONCLUSÕES.....	70
	REFERÊNCIAS.....	72
	APÊNDICES .....	86

## RESUMO

### **Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como potenciais promotores de crescimento de leitões recém-desmamados.**

Os antimicrobianos promotores de crescimento na alimentação animal tem proporcionado melhora considerável no desempenho. Porém, seu uso vem sendo proibido em diversos países e, face a esta restrição, tem-se buscado alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar aditivos fitogênicos, butirato de sódio, assim como a colistina sobre o desempenho, histologia intestinal, pH, morfometria de órgãos, digestibilidade dos nutrientes e frequência de diarreia de leitões recém-desmamados. Um experimento em blocos casualizados, com 34 dias de duração foi realizado para testar cinco tratamentos: controle (T1) - ração basal; antimicrobiano (T2) – basal com 40 ppm de sulfato de colistina; fitogênico (T3) – dieta basal com 500 ppm de aditivos fitogênicos; butirato de sódio (T4) – dieta basal com 1500 ppm de butirato de sódio; fitogênico+butirato de sódio (T5) – dieta basal com 500 ppm de aditivos fitogênicos + 1500 ppm de butirato de sódio. Para o desempenho e frequência de diarreia foram utilizados 120 leitões, com idade de 24 dias e peso inicial de  $6,10 \pm 1,21$  kg, oito repetições por tratamento e três leitões por unidade experimental. No ensaio de digestibilidade (quatro primeiras repetições), utilizou-se o método da coleta parcial de fezes e o óxido de cromo como marcador. Ao final do experimento, um animal de cada baia, das quatro primeiras repetições, foi abatido para análise de histologia, pH e morfometria dos órgãos. Foram testados contrastes específicos de interesse. O desempenho, a frequência de diarreia e o pH da digesta não foram influenciados pelos tratamentos ( $P>0,05$ ). Os leitões dos tratamentos fitogênico e butirato apresentaram a média de digestibilidade da energia superior ( $P=0,07$ ) a dos leitões do tratamento fitogênico+butirato de sódio. Para a morfometria dos órgãos, a média dos tratamentos T2, T3, T4 e T5 para a relação peso:comprimento do intestino delgado foi menor ( $P=0,02$ ) que a do tratamento controle. Para o peso relativo do ceco, a média dos tratamentos fitogênico e butirato de sódio foi menor ( $P=0,09$ ) do que a do tratamento fitogênico+butirato de sódio. Em relação à histologia intestinal, no duodeno, a média da densidade de vilosidades (DV) dos leitões dos tratamentos fitogênico e butirato de sódio foi maior ( $P=0,06$ ) do que a dos leitões do tratamento fitogênico+butirato de sódio. Foi observado, também, maior DV ( $P=0,02$ ) para os animais do tratamento fitogênico em relação aos animais do tratamento butirato de sódio. No jejuno, a média da DV dos leitões dos tratamentos T2, T3, T4 e T5 foi maior ( $P=0,03$ ) do que a dos leitões do tratamento controle. Os animais do tratamento butirato apresentaram maior DV do que os animais do tratamento fitogênico ( $P=0,08$ ). Assim, em condições de creche experimental, não ficou evidenciado efeito dos aditivos fitogênicos e do butirato de sódio como promotores de crescimento de leitões recém-desmamados, alimentados com dietas complexas e altamente digestíveis. Há, também, indicações de que os aditivos fitogênicos e o butirato de sódio, individualmente adicionados às dietas dos leitões, podem melhorar a digestibilidade e algumas características histológicas e morfométricas.

Palavras-chave: Ácido butírico; Antimicrobianos; Extratos vegetais; Nutrição; Leitões



## ABSTRACT

### **Phytobiotic additives and sodium butyrate as potential growth promoters of weanling pigs**

The antimicrobials growth promoters in the animal feed have been related to an increase on animal performance. However, due to the restriction of many countries to the use of antimicrobial as growth promoters, alternatives are being studied. So, the purpose of this work was to evaluate the effect of phytobiotic additives, sodium butyrate and even colistina on performance, intestinal histology, digesta pH, organs morphometry, nutrients digestibility and diarrhea incidence of weanling pigs. A 34-d randomized complete block design experiment was carried out to compare five treatments: control (T1) – basal diet; antimicrobial (T2) – basal diet with 40 ppm of colistin sulfate; phytobiotic (T3) – basal diet with 500 ppm of natural phytobiotics; sodium butyrate (T4) – basal diet with 1500 ppm of sodium butyrate; and phytobiotic+sodium butyrate (T5) – basal diet with 500 ppm of natural phytobiotics + 1500 ppm of sodium butyrate. One hundred and twenty piglets (average age around 24 d and initial live weight of  $6.10 \pm 1.21$  kg), eight replications per treatment, and three animals per experimental unit were used for performance data and diarrhea incidence. For digestibility assay, 60 piglets of first four replications were considered, using chromium oxide as fed marker. At the end of experimental period, an animal of each pen of first four replications was slaughtered for histology analysis, digesta pH and organs morphometry. Specific contrasts of practical importance were tested. No differences were found in performance data ( $P > .05$ ). The treatments did not show any effect ( $P > .05$ ) on diarrhea incidence and on digesta pH. Energy digestibility coefficient average of phytobiotic additives and sodium butyrate was higher ( $P = .07$ ) than that of phytobiotic+sodium butyrate. Organs morphometry showed that the average of treatments T2, T3, T4 e T5 for weight:length ratio of small intestine was lower ( $P = .02$ ) than that of control treatment. The average of phytobiotic and sodium butyrate treatments for caecum relative weight was lower ( $P = .09$ ) than that of the phytobiotic+sodium butyrate treatment. For intestinal histology of duodenum, the average of villous density (DV) of phytobiotic and sodium butyrate treatments was higher ( $P = .06$ ) than that of phytobiotic+sodium butyrate treatment. Piglets of phytobiotic treatment showed higher DV ( $P = .02$ ) than those of sodium butyrate treatment. Jejunum DV average of treatments T2, T3, T4 e T5 was higher ( $P = .03$ ) than that of control treatment. Piglets of sodium butyrate treatment showed higher DV than those of phytobiotic treatment ( $P = .08$ ). Therefore, there was no evidence of natural phytobiotic and sodium butyrate as growth promoters of weanling pigs fed complex diet with high digestibility raised in experimental nursery. However, there are some indications that both phytobiotic and sodium butyrate added individually to weanling pig diets, may improve energy digestibility and some histology and morphometry traits.

Keywords: Butiric acid; Antimicrobials; Herbal extracts; Nutrition; Piglets



**LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1 - Eletronmicrografia de varredura do duodeno dos leitões dos tratamentos T1 (controle), T2 (antimicrobiano), T3 (fitogênico), T4 (butirato de sódio) e T5 (fitogênico + butirato de sódio) ..... 59
- Figura 2 - Eletronmicrografia de varredura do jejuno dos leitões dos tratamentos T1 (controle), T2 (antimicrobiano), T3 (fitogênico), T4 (butirato de sódio) e T5 (fitogênico + butirato de sódio) ..... 60



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição do produto contendo aditivo fitogênico.....	43
Tabela 2 – Composição do produto contendo butirato de sódio .....	43
Tabela 3 – Composição percentual e valores calculados ou analisados das dietas basais.....	45
Tabela 4 – Valores de pH das dietas pré-inicial e inicial .....	51
Tabela 5 – Médias de peso vivo inicial (P1), peso vivo aos 14 dias (P14), consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) para o período de 1 a 14 dias de experimentação.....	52
Tabela 6 – Médias de peso vivo inicial (P1), peso vivo aos 34 dias (P34), consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) para o período de 1 a 34 dias de experimentação .....	55
Tabela 7 – Médias de altura das vilosidades (AV, $\mu\text{m}$ ), de profundidade das criptas (PC, $\mu\text{m}$ ), da relação altura de vilosidade/profundidade de cripta (AV/PC) e da densidade de vilosidades (DV) do duodeno e do jejuno dos leitões, em função dos tratamentos ..	58
Tabela 8 – Valores de pH do conteúdo do estômago, do jejuno e do ceco .....	62
Tabela 9 – Médias do peso vivo aos 34 dias (P34), dos pesos relativos (porcentagem do peso vivo) dos órgãos digestórios, do comprimento, do comprimento relativo, e da relação peso:comprimento do intestino delgado, em função dos tratamentos .....	64
Tabela 10 – Médias dos coeficientes de digestibilidade aparente (%) para matéria seca, proteína bruta e energia bruta, em função dos tratamentos .....	66
Tabela 11 – Médias de frequência de diarreia (MFD, %) para os períodos de 1 a 14 e 1 a 35 dias de experimentação .....	68



## 1 INTRODUÇÃO

A tecnificação do sistema de produção de suínos proporciona aumento de desempenho e melhora da produtividade das matrizes pela redução do período de amamentação para três semanas. Em contrapartida, uma limitação séria da redução do período de amamentação é o aumento do risco de diarreia após o desmame, que provoca retardamento no crescimento e aumento de mortalidade dos leitões com custos adicionais com medicação (VIOLA; VIEIRA, 2003). A produção animal faz uso de vários antimicrobianos em dosagens subclínicas, constituindo-se no setor que lidera mundialmente o consumo desses produtos, pois promovem resultados significativos no desempenho dos animais, melhorando os índices zootécnicos e maximizando a produção (COSTA; TSE; MIYADA, 2007).

Com a possibilidade da indução de resistência bacteriana e da presença de resíduos de antimicrobianos na carne, leite e ovos, a opinião pública tem forçado restrições ao uso de antimicrobianos como promotores de crescimento em vários países e o continente europeu tem liderado estas proibições. Com isso, surgiram restrições e novas regulamentações quanto ao uso de antibióticos e quimioterápicos como aditivos de rações. Na União Européia, a partir de 2006 foi banido o uso de qualquer antimicrobiano promotor de crescimento na produção animal, sendo permitido o uso de antibióticos e quimioterápicos somente com finalidade curativa. A pressão para a remoção de antimicrobianos das rações tem aumentado a busca por produtos alternativos que garantam máximo crescimento dos animais sem afetar a qualidade do produto final (OETTING, 2005). Entre essas alternativas, podem ser destacadas as enzimas, os probióticos, os prebióticos, os aditivos fitogênicos e os ácidos orgânicos.

A propriedade antiséptica das plantas medicinais e aromáticas e de seus extratos tem sido observada desde a antiguidade, enquanto que as primeiras tentativas de caracterizar suas propriedades em laboratório datam de cerca de 1900. Com o passar do tempo, o pouco conhecimento que se tinha sobre as plantas evoluiu devido, em grande parte, às modernas técnicas laboratoriais, que levaram ao isolamento sistemático e caracterização dos princípios ativos contidos nestas fontes vegetais (COSTA; TSE; MIYADA, 2007).

Os benefícios dos extratos vegetais para os animais podem estar relacionados ao aumento das secreções digestivas, melhora da digestibilidade e absorção dos nutrientes, modificação da microbiota intestinal, estimulação do sistema imune e atividades antibacterianas, coccidiostáticas, anti-helmínticas, anti-viral ou anti-inflamatória e propriedades antioxidantes.

Entretanto, ainda não está claro o modo de ação destes aditivos, e sua elucidação fornecerá a base científica para estabelecer, com eficácia e segurança, o seu modo de uso nas rações animais (BRUGALLI, 2003).

Os ácidos orgânicos, por sua vez, caracterizados como ácidos fracos e de cadeia curta, são amplamente distribuídos na natureza como constituintes naturais de plantas ou tecidos animais, mas também são obtidos por meio da fermentação de carboidratos predominantemente no intestino grosso de suínos. Antes de serem empregados como acidificantes de dietas, os ácidos orgânicos já eram conhecidos como efetivos conservantes. Sua ação bacteriostática primária (inibição ou retardamento do crescimento de cepas selecionadas) ocorre pela redução do pH da dieta, promovendo a conservação da mesma (SILVA, 2002).

Assim como os extratos vegetais, o sucesso do uso de ácidos orgânicos em dietas de suínos requer um entendimento de seus modos de ação. Embora algumas hipóteses tenham sido propostas, seus modos de ação não foram, até agora, totalmente esclarecidos. Considera-se primeiramente que os ácidos orgânicos e seu sais baixem o pH gástrico, resultando em aumento do tempo de retenção gástrica e em um aumento da atividade de enzimas proteolíticas. Podem, também, reduzir a capacidade tamponante da dieta, inibir a proliferação e/ou colonização de microrganismos indesejáveis tanto nas matérias primas e rações, quanto no trato gastrointestinal dos animais, atuar sobre a fisiologia da mucosa, servir como substrato no metabolismo secundário e promover um aumento da disponibilidade dos nutrientes da dieta melhorando a digestão, a absorção e a retenção dos mesmos (PENZ JR.; SILVA; RODRIGUES, 1993; SILVA, 2002).

Estes aditivos vêm sendo testados nas dietas de suínos como potenciais alternativas aos antibióticos e quimioterápicos, todavia, muitas questões a respeito de sua eficácia necessitam ser esclarecidas. Portanto, este trabalho teve como objetivo comparar e avaliar os efeitos de aditivos fitogênicos, butirato de sódio (um sal de ácido orgânico) e até mesmo a colistina no desempenho, histologia do epitélio intestinal, pH estomacal, intestinal e cecal, morfometria de órgãos, digestibilidade aparente dos nutrientes e frequência de diarreia de leitões recém-desmamados.

## **2 DESENVOLVIMENTO**

### **2.1 Revisão Bibliográfica**

#### **2.1.1 Desenvolvimento do trato digestório de leitões recém-desmamados**

Durante o período pós-natal e nos dias posteriores ao desmame, o leitão passa por vários desafios e diferentes situações de estresse, incluindo fatores psicológicos, nutricionais (adaptação à dieta sólida), ambientais (diferentes temperaturas e instalações), sanitários (presença de microrganismos patogênicos) e imunológicos (a imunidade ativa está em desenvolvimento e a imunidade passiva é limitada) (VIOLA; VIEIRA, 2003).

O desmame dos suínos está relacionado com a redução no consumo de alimentos, reduzido ou nenhum ganho de peso, frequentes diarreias, morbidez e morte. As desordens digestivas e consequente comprometimento no desempenho, observados nesse período, também refletirão no desenvolvimento animal durante as fases de crescimento e terminação (VIOLA; VIEIRA, 2003).

A tecnificação da produção de suínos proporciona aumento de desempenho e melhora da produtividade das porcas pela redução do período de amamentação (COSTA, 2005). A imaturidade digestiva, a insuficiente secreção ácida juntamente com os fatores estressantes do desmame resultam em má absorção de nutrientes, distúrbio no balanço da microbiota intestinal, altos custos com medicamentos e baixo desempenho (ETHERIDGE; SEERLEY; HUBER, 1984; VIOLA; VIEIRA, 2003).

Nesse período de transição, são observadas alterações histológicas e bioquímicas no intestino delgado. As vilosidades são encurtadas (atrofiadas) e perdem sua forma de “dedo”, apresentando o formato de “língua” ou “folha”. As criptas se tornam mais profundas (hiperplasia) e a relação altura de vilosidade/profundidade de cripta é diminuída, acarretando em reduzida capacidade de digestão e absorção de nutrientes (McCRACKEN et al., 1999). A atrofia das vilosidades após a desmama é provocada por maior taxa de perda celular ou redução na taxa de renovação celular. Se ocorrerem encurtamentos de vilosidades por maior taxa de perda celular, isto está associado com maior produção de células nas criptas e, conseqüentemente, maior profundidade das mesmas. Todavia, a atrofia das vilosidades pode também ser devido à

menor taxa de renovação celular, que é resultado da redução da divisão celular nas criptas. As principais mudanças são observadas 3 a 7 dias pós-desmame, com redução de 25 a 59% na altura dos vilos e aumento de 10 a 144% na profundidade de cripta (MOLLY, 2001).

O encurtamento dos vilos ao desmame afeta o desempenho animal, direta e indiretamente. A proteína e a energia da dieta serão direcionadas para regeneração das vilosidades ao invés da produção de carne (efeito indireto), enquanto que os vilos danificados prejudicam os processos de digestão e absorção (efeito direto) e, conseqüentemente, menos nutrientes são utilizados para o desenvolvimento animal.

Uma complicação a mais verificada nesta fase de pós-desmama é o desenvolvimento natural do sistema enzimático. Enquanto a atividade da lactase reduz, outras enzimas são secretadas em função da composição da dieta sólida. As diferentes enzimas necessitam de diferentes condições para desempenho ótimo (VIOLA; VIEIRA, 2003). O estômago é o primeiro sítio de digestão protéica, devendo apresentar pH baixo (de 2,0 a 3,5) para ativação da pepsina, iniciando a digestão da proteína e diminuindo assim a passagem de substrato a outras porções do intestino delgado. Ocorrem dois tipos de secreções no estômago dos suínos, uma alcalina proveniente da região do cárdia, secretada principalmente à noite e uma secreção ácida que contém enzimas proteolíticas nas regiões fúndica e pilórica, produzida em grande quantidade após a ingestão de alimentos (VIOLA; VIEIRA, 2003). A presença do alimento no estômago aumenta o pH e, através de estímulos nervosos e hormonais, induz a secreção de ácido clorídrico (HCl), produzido pelas células parietais do estômago e responsável pelo abaixamento do pH estomacal, promovendo a digestão de peptídeos e estabelecendo uma barreira contra a entrada de microrganismos patogênicos, além de promover maior disponibilização de minerais. A ausência de alimento no intestino promove mudanças morfológicas adversas, sendo o consumo de ração fator primordial para a manutenção da estrutura e da função intestinal (McCRACKEN et al., 1999).

A digestão incompleta e o quimo pouco acidificado não ativa completamente a secreção endócrina de secretina e colecistoquinina pela parede do duodeno. Isto poderá prejudicar a secreção exócrina do pâncreas (tripsina, amilase, lipase, etc.), das glândulas de Brünner (bicarbonato de sódio), do fígado (sais biliares) e da própria parede do intestino delgado (maltase, sacarase, aminopeptidases, etc.) (LINDEMAN, 1986 apud UTIYAMA, 2004).

Uma má digestão de carboidratos e proteínas possibilita o crescimento de patógenos, principalmente no cólon, resultando no desequilíbrio entre a microbiota. Com isso, bactérias patogênicas poderão prevalecer em todo o intestino e produzir toxinas prejudiciais à mucosa intestinal (aminas como cadaverina, putrescina, histamina, entre outras). Estas causam irritações na parede intestinal e afetam as vilosidades, refletindo em prejuízo para o animal (MOLLY, 2001).

A permeabilidade do intestino delgado também é prejudicada no período pós-desmame, influenciando negativamente na digestibilidade dos nutrientes. Os efeitos cumulativos destas mudanças são responsáveis por reduzir a capacidade digestiva e absorptiva e o consumo de ração neste período. É sabido que a quantidade de alimento ingerida no pós-desmame irá influenciar na altura das vilosidades e na profundidade das criptas, embora outros fatores como a forma da dieta e ingredientes específicos estão envolvidos (PLUSKE et al., 2003).

Os problemas enfrentados pelos leitões recém-desmamados podem ser minimizados com a utilização de ingredientes mais digestíveis e menos agressivos ao trato digestório e/ou com a utilização de aditivos promotores de crescimento na dieta visando melhorar o desempenho e a produtividade dos animais.

### **2.1.2 Aditivos - Microingredientes promotores de crescimento**

Segundo o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (1998), microingrediente é toda substância ou mistura de substâncias intencionalmente adicionadas aos alimentos para animais com finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades desejáveis ou suprimir as propriedades indesejáveis e que seja utilizado sob determinadas normas.

Para que uma substância ou grupo de substâncias químicas seja classificada como microingrediente de alimentação, certos princípios devem ser atendidos de maneira que contribuam para que um sistema de produção animal possa ser qualificado como sustentável. São eles: melhorar o desempenho zootécnico, não apresentar resistência cruzada com outros microingredientes de alimentação, permitir a manutenção da microbiota gastrintestinal, não ser tóxico aos animais e aos seres humanos nas dosagens recomendadas, não ser mutagênico ou carcinogênico e não apresentar efeitos deletérios ao meio ambiente (LIMA, 1999).

Os microingredientes são classificados em 13 grupos quanto à sua natureza e função (acidificantes, adsorventes, aglutinantes, anticoccidianos, antifúngicos, antioxidantes,

conservantes, aromatizantes/palatabilizantes, corantes, enzimas, pigmentantes, probióticos e promotores de crescimento e/ou eficiência alimentar) e divididos em três classes de acordo com seu modo de ação específico ou característica funcional: pró-nutrientes, coadjuvantes de elaboração e profiláticos (COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 1998).

O termo pró-nutriente indica que os microrganismos podem favorecer a utilização dos nutrientes dietéticos pelos animais, melhorando a sua eficiência de utilização e proporcionando melhor desempenho. O termo coadjuvantes de elaboração indica que o microingrediente pode ter efeito sobre as características físicas dos ingredientes ou da ração tais como odor, cor, consistência, conservação, etc. O termo profiláticos indica aqueles microingredientes usados com a finalidade de prevenir a oxidação e destruição de vitaminas, a ocorrência de enfermidades ou a intoxicação causadas por microrganismos patogênicos (LIMA, 1999).

Os antimicrobianos são os promotores de crescimento e de eficiência alimentar de uso mais generalizado na produção animal. Estes incluem os antibióticos (substâncias produzidas por fungos, leveduras ou bactérias) e os quimioterápicos (substâncias produzidas por síntese química, com ação semelhante aos antibióticos). Estes aditivos antimicrobianos vêm sendo utilizados desde meados do século XX, melhorando o desempenho animal, reduzindo a propagação de doenças e permitindo aos animais demonstrarem seu potencial genético (BUTOLO, 1999). São, portanto, uma ferramenta importante para permitir uma produtividade adequada a animais criados sob condições cada vez mais intensivas (MENTEN, 2003).

A utilização dos antimicrobianos em baixas dosagens em rações animais inibe o metabolismo bacteriano e reduz a competição direta pelos nutrientes entre a bactéria e o hospedeiro, além de diminuir a produção microbiana de metabólitos, como aminas, amônia e endotoxinas que afetam o epitélio intestinal, os quais impedem a absorção de nutrientes (BUTOLO, 1999). Porém, de maneira geral, os aditivos não são eficazes o tempo todo e não substituem ineficiências tais como boas regras de manejo, higiene, sanidade e alimentação.

### **2.1.2.1 Modos de ação dos antimicrobianos promotores de crescimento**

Desde o início da utilização dos antimicrobianos como promotores de crescimento, em meados do século XX, foram realizados muitos estudos na tentativa de elucidar seu mecanismo de ação. Apesar das várias hipóteses propostas até hoje, há apenas sugestões de

como eles atuam. O único aspecto de concordância geral é que os antimicrobianos agem sobre a microbiota como bactericidas (promovendo a morte do agente) ou bacteriostáticos (promovendo a parada do seu crescimento e reprodução). Estes efeitos podem ser por interferência na síntese da parede celular, alterações na permeabilidade da membrana citoplasmática, interferências na replicação cromossômica e na síntese protéica celular (MELLOR, 2000; TAVARES, 1990).

Os antimicrobianos apresentam efeito direto sobre o metabolismo do animal, aumentando a atividade das enzimas citosólicas, ativando aminoácidos e incorporando-os às proteínas do fígado. Este efeito promove uma melhora direta na performance animal (MENTEN, 1995).

Outro modo de ação consiste no efeito bactericida ou bacteriostático dos antimicrobianos sobre os microrganismos patógenos que competem pelos nutrientes com o hospedeiro e que podem causar doenças subclínicas, prejudicando o crescimento animal. Estes microrganismos inativam enzimas pancreáticas e metabolizam a proteína dietética, produzindo amônia e aminas biogênicas, substâncias estas altamente nocivas ao epitélio intestinal. Estes efeitos propiciam maior digestibilidade protéica, alterações benéficas nos órgãos digestórios e, conseqüentemente, melhor saúde intestinal com maior desenvolvimento das vilosidades e menor profundidade das criptas (BUTOLO, 1999). Além disso, possivelmente reduzem a irritação devido a diminuição na quantidade de microrganismos aderidos ao intestino que produzem toxinas e, conseqüentemente, a espessura e a massa do epitélio intestinal (ANDERSON et al., 1999), levando a crer que o animal necessitará de uma menor quantidade de nutrientes (aminoácidos e energia, principalmente) para a manutenção dos tecidos do trato gastrintestinal (HENRY; AMMERMAN.; CAMPBELL, 1987; LIMA, 1999).

Os agentes antimicrobianos podem, também, promover maior aproveitamento do alimento (FREITAS, 1992), alterações na composição microbiana (MENTEN, 2003) e no perfil e quantidade de ácidos graxos voláteis produzidos no intestino (MANZANILLA et al., 2004).

## **2.2 Limitações ao uso de aditivos antimicrobianos na produção animal**

Antibióticos e quimioterápicos têm sido amplamente utilizados na produção animal desde sua descoberta, viabilizando as criações intensivas com melhoria nas taxas de crescimento, possibilitando aos animais desempenharem seu potencial genético (MELLOR, 2000), na eficiência alimentar, diminuindo a mortalidade e a morbidade devido a infecções clínicas e

subclínica (FUKAYAMA, 2004) e melhorando a performance reprodutiva (CROMWELL, 1999).

Os antibióticos foram primeiramente utilizados na medicina humana e veterinária como curativos, sendo pouco utilizados como promotores de crescimento na alimentação animal, uma vez que poderiam transferir resistência bacteriana para espécies patogênicas em animais e humanos. No final do século XX, foi estimado que 90% dos antimicrobianos utilizados na agricultura mundial eram fornecidos aos animais como promotores de crescimento, em doses subclínicas, ou como agentes profiláticos no tratamento de infecções. No entanto, eles ainda eram três vezes menos utilizados nos animais do que na medicina humana (MELLOR, 2000).

Recentemente, a população mundial tem se alarmado com uma possível resistência cruzada para bactérias patogênicas aos humanos. A União Européia (UE) tem banido os antimicrobianos como promotores de crescimento das rações, sendo que a Suécia, a Dinamarca e a Finlândia foram os primeiros países a proibirem a utilização destes na alimentação animal. Em janeiro de 2006, toda a UE proibiu na produção animal o uso dos antibióticos e quimioterápicos como promotores de crescimento, sendo permitidos apenas com o propósito curativo. As principais contestações em relação à utilização dos aditivos, relacionadas com potenciais impactos na saúde pública, podem ser agrupadas em três categorias (SONCINI, 1999):

- 1) Presença de resíduos na carne, leite ou ovos. Estes resíduos podem ser os próprios aditivos ou seus metabólitos que se acumulam nos tecidos e não são excretados antes da transformação do animal ou de seus produtos em alimentos;
- 2) Indução de resistência cruzada para bactérias patogênicas aos humanos. A utilização prolongada e massiva de grupos de antimicrobianos como promotores de crescimento pode provocar uma seleção de estirpes resistentes dentro de grupos de bactérias que são patogênicas primárias ou oportunistas para humanos;
- 3) Uso de aditivos que podem provocar agressão ao meio ambiente. Alguns produtos podem ser excretados pelos animais e, via adubo ou dejetos, contaminam solo e água.

É importante ressaltar que, na prática, nada foi constatado ou comprovado cientificamente sobre a possível resistência bacteriana cruzada entre humanos e animais. Na maioria dos casos trata-se mais de uma atitude cautelosa, faltando evidências que sustentem a validade de uma proibição. Sabe-se também que países, que decidiram retirar o uso de antibióticos e quimioterápicos, como promotores de crescimento animal, enfrentam dois

importantes problemas: o aumento do custo de produção e o aumento exacerbado do uso dos antimicrobianos no controle de doenças clínicas, antes sob controle nas populações animais (SONCINI, 1999). É certo que, uma vez que os antimicrobianos utilizados na produção animal são também utilizados na medicina humana, podem surgir riscos de desenvolvimento de resistência bacteriana. Porém, tem-se observado, também, uma utilização indiscriminada de antibióticos pela população humana mundial e, nesse caso, bactérias podem se tornar mais resistentes e comprometerem o efeito dos antimicrobianos.

Muitas são as proibições impostas pela UE frente aos países produtores e exportadores de produtos de origem animal. Os demais países, tanto do oriente quanto do ocidente, exportadores destes produtos para os países europeus, tiveram que se adaptar às novas restrições e regulamentações e buscar alternativas para minimizar o impacto da retirada dos antimicrobianos das rações como promotores de crescimento. Estas alternativas incluem os probióticos, prebióticos, enzimas, nucleotídeos, aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos.

### **2.3 Aditivos Fitogênicos**

Os aditivos fitogênicos são comumente definidos como compostos derivados de plantas incorporados às dietas animais com o intuito de promover melhor desempenho e melhor qualidade dos produtos obtidos destes animais. São classificados de acordo com as suas origens e processamentos em: extratos, condimentos, óleos essenciais (compostos lipofílicos extraídos por vaporização ou destilação a álcool) e oleoresinas (compostos extraídos por solventes não aquosos) (WINDISCH et al., 2007).

Com as modernas técnicas laboratoriais foi possível isolar e caracterizar os princípios ativos contidos nestas fontes vegetais. Princípios ativos são componentes químicos, presentes em todas as partes das plantas ou em partes específicas, que conferem às plantas medicinais alguma atividade terapêutica (MARTINS et al., 2000). São moléculas de baixo peso molecular oriundas do metabolismo secundário dos vegetais.

Os princípios ativos variam muito em concentração e em atividade antibacteriana, de uma espécie botânica para outra, porém poucos têm uma ação antibacteriana *per se* e em concentração suficiente para mostrar efeitos semelhantes aos antibióticos promotores de crescimento (BRUGALLI, 2003). Estes compostos são produzidos como um mecanismo de defesa da planta contra fatores externos, tais como estresse fisiológico (falta de água ou

nutriente, por exemplo), fatores ambientais (variações climáticas) e proteção contra predadores e patógenos (OETTING, 2005).

O conteúdo destas substâncias ativas presentes nos aditivos fitogênicos varia consideravelmente em função da parte da planta utilizada (sementes, folhas, caule, raiz ou casca), origens geográficas, estágio de maturidade, método e duração de conservação e armazenamento e método de extração (WINDISCH et al., 2007). Estas substâncias geralmente não se encontram em estado puro na planta, mas sob a forma de complexos, cujos diferentes componentes se completam e reforçam sua ação sobre o organismo.

Pesquisas recentes têm demonstrado a existência de um efeito sinérgico entre os princípios ativos primários e secundários das plantas. Os componentes secundários, princípios ativos encontrados em pequenas concentrações, atuam como potencializadores dos compostos primários (KAMEL, 2000). No entanto, também podem ser observados efeitos antagônicos entre os princípios ativos presentes nos compostos fitogênicos, assim como entre os diferentes aditivos promotores de crescimento animal. Alguns parâmetros devem ser considerados para que se tenha um controle no balanço entre o sinergismo e o antagonismo, assim como a saúde e o crescimento animal *vs* a toxicidade que os aditivos possam apresentar, refletindo diretamente no desempenho animal (MELLOR, 2000).

A elucidação do modo de ação fornecerá a base científica para estabelecer a eficácia e segurança destes aditivos, permitindo assim, desenvolver estratégias de longo prazo na formulação de rações específicas. Somente assim, a indústria e os consumidores serão beneficiados quanto ao potencial destes produtos e passarão a utilizá-los como prática padrão, como fizeram no passado com os antibióticos e quimioterápicos promotores de crescimento (BRUGALLI, 2003).

### **2.3.1 Modos de ação dos aditivos fitogênicos**

Dentre os possíveis mecanismos de ação dos aditivos fitogênicos no organismo animal, podem-se citar alterações na microbiota intestinal (DORMAN; DEANS, 2000), aumento na digestibilidade e absorção de nutrientes (OETTING et al., 2006), absorção de nitrogênio (GILL, 2001 apud ALÇIÇEK; BOZKURT; ÇABUK, 2004), melhora da resposta imune (BARAK et al., 2001 apud NAMKUNG et al., 2004), modificações morfo-histológicas do trato gastrointestinal (UTIYAMA, 2004) e atividade antioxidante (BOTSOGLOU et al., 2002b, 2004).

É importante ressaltar que, na prática, a maioria dos extratos vegetais deveria ser incluída em altíssimas doses para ter o mesmo efeito bactericida ou bacteriostático observado *in vitro*. Portanto, no animal, o modo de ação e local de atuação dos componentes ativos presentes nos aditivos fitogênicos (fitocomponentes ou fitomoléculas) são dependentes de sua estrutura, metabolismo e do nível de inclusão (BRUGALLI, 2003).

O grande desafio na utilização dos fitogênicos, como alternativa ao uso dos antimicrobianos, está na identificação e avaliação dos efeitos exercidos pelos diferentes componentes presentes nestes aditivos sobre o organismo animal (KAMEL, 2000). Esta é uma busca que está apenas começando, principalmente se levar em conta que os antibióticos e quimioterápicos passaram por décadas de desenvolvimento e testes, antes de serem aprovados e utilizados como promotores de crescimento na produção animal (OETTING, 2005).

### **2.3.1.1 Atividade antimicrobiana**

Extratos de plantas e seus metabólitos são bem conhecidos por exercerem efeito antimicrobiano, *in vitro*, contra diversos patógenos de animais e de alimentos (ARAÚJO; LEON, 2001; ESSAWI; SROUR, 2000; HARRIS et al., 2001; KARANIKA; KOMAITIS; AGGELIS, 2001; NASCIMENTO et al., 2000; OZER et al., 2007; SALVAT et al., 2001; SI et al., 2006; SRINIVASAN et al., 2001; VIEIRA et al., 2001). Eles possuem efeito bactericida e bacteriostático dose dependente sobre os microrganismos (vírus, bactérias, fungos e protozoários).

Pesquisas baseadas no método de CIM (Concentração Inibitória Mínima, como índice de eficiência bacteriostática) demonstraram que os extratos vegetais possuem efeitos muito próximos aos antibióticos disponíveis no mercado (KAMEL, 2000). Porém, necessitam ser adicionados em concentrações elevadas para demonstrarem seus efeitos (BURT, 2004). Testes têm demonstrado que não somente os extratos, mas também seus princípios ativos podem ter amplo espectro de ação bactericida *in vitro*. O mecanismo pelo qual a maioria dos aditivos fitogênicos exerce seu efeito antibacteriano é atuando na estrutura da parede celular bacteriana, desnaturando e coagulando as proteínas. Mais especificamente, os óleos essenciais atuam alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática aos íons de hidrogênio ( $H^+$ ) e potássio ( $K^+$ ). A alteração da permeabilidade aos íons conduz à interrupção dos processos essenciais da célula como transporte de elétrons, translocação de proteínas, passos da fosforilação e outras

reações dependentes de enzimas, resultando em perda do controle quimiosmótico e, conseqüentemente, na morte bacteriana (DORMAN; DEANS, 2000). De acordo com estes autores, o rompimento das paredes celulares das bactérias se deve ao caráter lipofílico dos óleos essenciais que se acumulam nas membranas. As bactérias gram-negativas possuem uma membrana externa que contém lipossacarídeos, formando uma superfície hidrofílica que cria uma barreira à permeabilidade das substâncias hidrofóbicas como os óleos essenciais. Isto poderia explicar a frequente resistência das bactérias gram-negativas ao efeito antimicrobiano de alguns óleos essenciais (CHAO et al., 2000 apud BRUGALLI, 2003) em relação às bactérias gram-positivas (OETTING, 2005). Outros mecanismos de ação podem estar relacionados a prejuízos na absorção de nutrientes, síntese de DNA, RNA e proteínas pelas células bacterianas (LAMBERT et al., 2001).

Os efeitos dos fitogênicos sobre os microrganismos têm sido comprovados *in vitro*. Alguns estudos *in vivo* com frangos (JAMROZ et al., 2003, 2005) e com suínos (HAGMÜLLER et al., 2006; JUGL-CHIZZOLA et al., 2005) demonstram o potencial antimicrobiano dos fitogênicos em substituir os antibióticos e os quimioterápicos das rações. Porém, as pesquisas são, ainda, escassas e pouco conclusivas, necessitando de mais estudos para comprovar seu verdadeiro potencial.

### **2.3.1.2 Influência na palatabilidade da dieta e nas funções intestinais**

Os aditivos fitogênicos são frequentemente utilizados nas dietas animais com o intuito de melhorar a palatabilidade e principalmente a performance produtiva. No entanto, estudos testando a palatabilidade das dietas com a adição de fitogênicos são ainda muito limitados.

O que comumente tem se pesquisado é o consumo de ração e o ganho de peso, através dos ensaios de desempenho. Alguns trabalhos têm relatado uma redução na palatabilidade da dieta através da inclusão de óleos essenciais (SCHÖNE et al., 2006), onde a explicação para a piora no consumo se relacionaria com o alto nível de inclusão dos óleos essenciais nas dietas. Estes podem apresentar odores fortes ou até mesmo um sabor acentuado quando em concentrações elevadas nas rações. Por outro lado, há registros de melhora no consumo de ração (COSTA; TSE; MIYADA, 2007), uma vez que os fitogênicos, em doses menores, influenciam o *flavour* e a palatabilidade, sendo um atrativo a mais para o maior

consumo dos animais. O efeito inicial da adição de fitogênicos na alimentação de suínos é a estimulação do apetite. O aroma destes aditivos pode estimular os nervos olfatórios e as papilas gustativas, interferindo positivamente no consumo de ração.

Os aditivos fitogênicos apresentam também grandes benefícios no trato digestivo, como por exemplo, efeitos laxativos e na prevenção de flatulências, estimulação de secreções digestivas, bile e mucos e aumento na atividade enzimática (PLATEL; SRINIVASAN, 2004).

Muitos aditivos possuem componentes ativos que aumentam a secreção das glândulas salivares e dos sucos gástricos e pancreáticos (MELLOR, 2000). A capsaicina, componente ativo do *Capsicum annum* (pimenta vermelha), tem-se mostrado eficiente em estimular a salivação (produção de amilase) (PLATEL; SRINIVASAN, 1996; WANG; BOURNE, 1998) e aumentar a secreção de enzimas pancreáticas e intestinais em animais não-ruminantes (BRUGALLI, 2003). Outro princípio ativo, o cinamaldeído, principal componente do *Cinnamomum spp* (canela) apresentou ação estimulante sobre as enzimas pancreáticas (WANG; BOURNE, 1998) e aumentou o tempo de retenção do alimento no estômago por ter reduzido a motilidade gástrica em suínos (MANZANILLA et al., 2004). Como consequência, o aumento na atividade das enzimas, que participam do processo de digestão, promove melhora na digestibilidade e disponibilidade dos nutrientes (BRUGALLI, 2003).

Com o aumento das secreções gástricas, ocorre queda no pH do estômago, havendo maior atividade da pepsina. A maior produção de suco pancreático leva à maior atuação de enzimas contribuindo para maior digestão. O mecanismo mais estudado na tentativa de explicar a melhora da digestibilidade é o efeito na produção de enzimas e secreções intestinais. Porém, este não é o único mecanismo que possa estar envolvido. A modulação da microbiota e a manutenção da integridade do epitélio intestinal podem ser importantes efeitos dos extratos vegetais, como acontece com outros promotores de crescimento (UTIYAMA, 2004).

Durante o processo de digestão, radicais de oxigênio (radicais superóxidos) podem ser produzidos através de reações de oxidação, processo conhecido como autooxidação. Tais radicais de oxigênio reativos podem atacar a superfície da mucosa intestinal, prejudicando a absorção de nutrientes. O cinamaldeído otimiza a atividade antioxidante das enzimas superóxido dismutase, glutatona S-transferase e catalase (DHULEY, 1999 apud BRUGALLI, 2003). Este complexo enzimático é responsável por converter os radicais superóxidos em água e oxigênio

molecular, mantendo assim a saúde intestinal, o que possibilita maior capacidade de absorção pelas microvilosidades (COSTA, 2005).

Os aditivos fitogênicos podem, também, estimular a secreção de muco, tanto no estômago quanto no intestino. Este efeito impede a adesão de patógenos e contribui para a estabilização de uma microbiota favorável, protegendo as vilosidades intestinais e, conseqüentemente, melhorando a digestão e a absorção dos nutrientes (JAMROZ et al., 2005, 2006).

### **2.3.1.3 Atividade antioxidante**

A oxidação lipídica de carnes e produtos cárneos leva à formação de aroma desagradável, diminui a segurança e a qualidade do alimento pela formação de produtos potencialmente tóxicos e outros compostos, durante o processamento e cozimento, e diminui a aceitação do produto por parte do consumidor (LEE; SHIBAMOTO, 2002). Nos últimos anos, o uso de aditivos fitogênicos como antioxidantes naturais tem atraído o interesse por parte da indústria por apresentarem grande capacidade antioxidante (RACANICCI et al., 2004), sendo adicionado às carnes e produtos cárneos ou substituindo produtos sintéticos como o BHT (butil-hidroxitolueno) e BHA (butil-hidroxianisol), antioxidantes amplamente utilizados nas rações dos animais.

O oxigênio é essencial para o metabolismo, crescimento e vida dos animais e plantas, porém, é também responsável por reações incontroladas de oxidação, conhecidas como autoxidação. Estas reações são responsáveis pela destruição de importantes moléculas presentes nos ingredientes das dietas e por danos provocados nos tecidos celulares dos organismos vivos. A autoxidação é responsável pela formação das espécies reativas de oxigênio (ROS) que levam a uma grande variedade de doenças (KAMEL, 2000).

A atividade antioxidante dos óleos essenciais está relacionada, principalmente, com a presença de compostos fenólicos. No entanto, outros compostos, como os flavonóides (presentes no orégano e tomilho) e terpenóides (como timol, carvacrol e eugenol, princípios ativos do tomilho, orégano e cravo, respectivamente) protegem alimentos, células e tecidos contra o efeito deletério das reações de autoxidação. Estes compostos podem interceptar e neutralizar radicais livres e outros intermediários da oxidação e quelatar íons de Fe e Cu, impedindo a propagação do processo de oxidação (HUI, 1996 apud OETTING, 2005; KAMEL, 2000). Óleos essenciais,

depois de absorvidos, entram no sistema circulatório, sendo primeiramente distribuídos e posteriormente retidos nos tecidos em pequenas concentrações, mas suficiente para desenvolver sua atividade antioxidante (BOTSOGLOU et al., 2004).

Apesar de possuírem atividade antioxidante, alguns fitogênicos apresentam compostos com aroma extremamente acentuado, como, por exemplo, o eugenol (cravo), o timol (tomilho) e o carvacrol (orégano). Desta forma, eles não devem ser adicionados em grandes quantidades nos alimentos, uma vez que podem influenciar o sabor do produto final (MADSEN; BERTELSEN; SKIBSTED, 1997), limitando seu uso como agentes antioxidantes em certos produtos.

Vários estudos *in vitro* têm investigado a ação antioxidante dos fitogênicos e resultados satisfatórios têm sido observados (JUNTACHOTE et al., 2006; MARIANNE; MARCHEN; LEIF, 2007; RACANICCI et al., 2004, 2008; RØDTJER; SKIBSTED; ANDERSEN, 2006). Assim, uma nova linha de pesquisa tem surgido para avaliar se o efeito antioxidante na carne pode ser aumentado pela suplementação de extratos vegetais e óleos essenciais na dieta dos animais. A suplementação de dietas animais com extratos de alecrim e sálvia tem mostrado efeitos positivos contra a oxidação lipídica em carnes de frango (KAMEL, 2000). Outros trabalhos, com diferentes extratos vegetais, têm comprovado este efeito (BOTSOGLOU et al., 2002a, 2002b, 2003a, 2003b, 2004; PAPAGEORGIOU et al., 2003; YOUNG et al., 2003), contribuindo para uma maior vida útil de produtos cárneos e, conseqüentemente, maior segurança alimentar.

Lopez-Bote et al. (1998), estudando a adição de extratos de sálvia e alecrim na dieta de frangos de corte, encontraram alterações na composição dos ácidos graxos no organismo destes animais, aumentando a porcentagem de ácidos graxos polinsaturados (PUFA), predispondo o organismo animal às reações de oxidação. Contudo, fenóis, carotenóides e flavonóides, presentes em elevadas concentrações nestas plantas, protegem células e tecidos contra os efeitos deletérios das ROS, nos mesmos níveis que os tocoferóis encontrados na vitamina E (KAMEL, 2000), compensando o aumento dos PUFA's no organismo animal.

A suplementação das dietas com fitogênicos tem mostrado ser uma estratégia simples e conveniente para introduzir antioxidantes naturais nos fosfolipídios das membranas, onde eles devem inibir eficientemente reações de oxidação, preservando assim o produto cárneo (LAURIDSEN; BUCKLEY; MORRISSEY, 1997; MORRISSEY et al., 1994 apud

BOTSOGLOU et al., 2004). No entanto, mais estudos devem ser realizados para comprovar tal atividade, contribuindo não só com o desempenho animal, mas também com a indústria processadora de carnes.

#### **2.3.1.4 Outros efeitos dos aditivos fitogênicos**

Na literatura, é possível encontrar melhoras no desempenho de suínos quando estes receberam aditivos fitogênicos como promotores de crescimento (ALÇIÇEK; BOZKURT; ÇABUK, 2003; BRUGALLI, 2003; KAMEL, 2000).

Os fitogênicos podem promover, também, efeitos benéficos na população microbiana gastrointestinal, controlando microrganismos patógenos. Isto possibilita aos animais maior resistência às desordens digestivas, principalmente em leitões recém-desmamados ou no início da vida produtiva dos frangos de corte. Com uma maior saúde intestinal, os animais são menos expostos a toxinas microbianas e a outros metabólitos microbianos indesejáveis como amônia e aminas biogênicas. Conseqüentemente, estes aditivos promotores de crescimento ajudam os animais na resposta imune durante situações críticas e melhoram a disponibilidade de nutrientes essenciais para a absorção, possibilitando melhor exploração do potencial genético animal para crescimento (WINDISCH et al., 2007).

Mudanças morfológicas nos tecidos gastrintestinais sugerem efeitos benéficos dos fitogênicos no trato digestório, entretanto, a literatura disponível não apresenta resultados consistentes. Há uma grande divergência no efeito dos aditivos fitogênicos sobre as vilosidades intestinais, onde eles podem atuar melhorando a saúde intestinal, com maior altura das vilosidades (MANZANILLA et al., 2004) ou influenciando negativamente este parâmetro (OETTING et al., 2006).

Uma possível melhora na capacidade digestiva do intestino delgado é considerado um efeito indireto dos aditivos fitogênicos em estabilizar a microbiota intestinal. Um aumento na digestibilidade pré-cecal reduz o fluxo de matéria fermentável no intestino e diminui o crescimento microbiano pós-ileal e a excreção de massa bacteriana nas fezes. Por ser representativa a participação da proteína bacteriana na proteína total das fezes, aumento na capacidade digestiva pré-cecal deve resultar indiretamente em aumento na digestibilidade aparente da proteína da dieta. Esta observação dá suporte para a hipótese de que os aditivos fitogênicos devem estabilizar as funções digestivas (WINDISCH et al., 2007).

Outra maneira de se avaliar o efeito dos fitogênicos no animal é pela análise de morfometria dos órgãos. Utiyama (2004) encontrou uma resposta significativa no aumento do peso relativo do pâncreas de suínos recém-desmamados que receberam uma dieta contendo extratos vegetais. Alçiçek; Bozkurt e Çabuk (2004) encontraram uma redução no peso relativo do intestino de frangos que receberam óleos essenciais em suas dietas. Estes aditivos podem ter reduzido a presença de microrganismos produtores de toxinas no intestino e, conseqüentemente, a espessura e a massa do epitélio intestinal, levando a um menor peso relativo do intestino (ANDERSON et al., 1999).

As saponinas, princípios ativos de alguns aditivos fitogênicos, são responsáveis pela redução da produção de amônia e da poluição do ar no interior das granjas. A amônia é altamente nociva aos animais, principalmente aos mais jovens (FRANCIS et al., 2002 apud WINDISCH et al., 2007). Alguns estudos com ratos (DUFFY et al., 2001; KILLEN et al., 1998) mostraram a existência de um composto ativo no extrato de *Yucca schidigera* que diminui a atividade da urease no intestino e outras enzimas envolvidas no ciclo metabólico da uréia que é a principal forma de excreção do nitrogênio em mamíferos (DUFFY et al., 2001). O referido extrato contém antagonistas à atividade da urease intestinal e, conseqüentemente, à formação da amônia (KILLEN et al., 1998).

Outro modo de ação dos aditivos fitogênicos está relacionado com a menor produção de ácidos graxos voláteis no intestino dos animais (MANZANILLA et al., 2004). Ácidos graxos voláteis são os principais produtos finais do metabolismo bacteriano no intestino grosso de suínos. Os aditivos fitogênicos atuam sobre microrganismos patógenos, promovendo sua morte ou a estabilização do seu crescimento, diminuindo a fermentação microbiana e a conseqüente produção de ácidos graxos voláteis.

Atualmente, são encontrados diversos trabalhos testando os aditivos fitogênicos como promotores de crescimento para suínos, porém, são ainda pouco conclusivos e não demonstram efetivamente seus modos de ação, de modo que mais estudos devem ser realizados para que, na prática, estes venham substituir com eficácia os antimicrobianos promotores de crescimento.

## 2.4 Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos, caracterizados como ácidos fracos e de cadeia curta, são amplamente distribuídos na natureza como constituintes naturais de plantas ou tecidos animais. Alguns deles podem ser formados por meio da fermentação de carboidratos predominantemente no intestino grosso de suínos, e outros no metabolismo intermediário (PARTANEN; MROZ, 1999). Alguns são encontrados na forma de sais, apresentando menor odor indesejável e maior facilidade de manuseio na fabricação das rações por serem sólidos, menos voláteis e menos corrosivos.

Os ácidos orgânicos foram primeiramente usados como efetivos conservantes. Sua ação bacteriostática primária (inibição ou retardamento do crescimento de cepas selecionadas) ocorre pela redução do pH da dieta (SILVA, 2002) e pela capacidade de se dissociarem, em função do pH do meio e do pKa do ácido.

Quando o ácido está na forma não dissociada ele pode difundir-se livremente através da membrana semipermeável do microrganismo para o seu citoplasma celular. Uma vez dentro da célula, onde o pH é mantido perto de 7,0, o ácido poderá dissociar-se em cátions e prótons, reduzindo o pH citoplasmático, causando a morte da célula pela desnaturação da proteína e do DNA (CHERRINGTON et al., 1991), além de comprometerem outros processos vitais, como o transporte de substrato e o desacoplamento da fosforilação oxidativa com o sistema de transporte de elétrons (FREESE et al., 1973 apud FERREIRA, 1995; SILVA, 2002; VIOLA;VIEIRA, 2003). O efeito antimicrobiano dos ácidos também pode ser resultado do acúmulo de ânions polares na célula. A eficiência do ácido na inibição de microrganismos é dependente de seu valor de pKa que é o pH no qual 50% do ácido está dissociado. Ácidos orgânicos com valores elevados de pKa são conservantes mais efetivos e sua atividade antimicrobiana é geralmente melhorada com o aumento do comprimento da cadeia carbônica e com o nível de insaturação (FOEGEDING; BUSTA, 1994).

A absorção do ácido depende do seu pKa e do pH do lúmen. Quando o pH do lúmen é menor que o pKa dos ácidos, eles são rapidamente absorvidos. Em virtude do pH intestinal ser normalmente superior ao pKa desses ácidos, eles permanecem predominantemente na forma dissociada que é pouco absorvida. No trato digestório, ácidos orgânicos não dissociados são absorvidos pelo epitélio intestinal, por difusão passiva, através do gradiente eletroquímico

favorável entre o lúmen e as células epiteliais (PARTANEN; MROZ, 1999; PARTANEN, 2002).

A eficiência dos ácidos orgânicos sobre bactérias patogênicas depende de seu tempo de exposição, da concentração e do ácido utilizado, da composição da dieta basal e da idade do animal. Bactérias gram-negativas são sensíveis aos ácidos com número de carbonos inferior a oito e bactérias gram-positivas são mais sensíveis quanto maior o comprimento da cadeia carbônica dos ácidos (CHERRINGTON et al., 1991 apud PARTANEN, 2002).

O sucesso do uso de ácidos orgânicos em dietas de suínos requer um entendimento de seus modos de ação. Embora algumas hipóteses tenham sido propostas, seus modos de ação não foram, até agora, esclarecidos. Considera-se, primeiramente, que os ácidos orgânicos e seus sais diminuem o pH gástrico, essencial para limitar a sobrevivência de patógenos no estômago, evitando, assim, seu acesso ao intestino (PARTANEN, 2002). Essa redução do pH gástrico resulta em menor trânsito intestinal (maior retenção gástrica) e em aumento da atividade de enzimas proteolíticas, além de permitir maior tempo de ação do ácido contra bactérias patogênicas. Devido à menor taxa de esvaziamento gástrico, muitas moléculas de proteínas podem ser melhor hidrolisadas, havendo um efeito benéfico sobre a digestão, absorção e retenção dos aminoácidos (GABERT; SAUER, 1994). No entanto, técnicas mais específicas no pós-mortem, ou a utilização de cânulas no estômago e/ou no duodeno são essenciais para uma correta medição da taxa de esvaziamento gástrico. Alguns autores (BOLDUAN et al., 1988a, 1988b; RISLEY et al., 1992; TOMLINSON; LAWRENA, 1981) encontraram uma diminuição do pH gástrico de leitões quando estes animais receberam ácidos orgânicos na dieta, levando a maior atividade da pepsina e, conseqüentemente, maior digestão das proteínas. No entanto, não é simples e fácil encontrar reduções no pH gástrico dos animais que recebem ácidos orgânicos via ração, talvez pela grande variação nas metodologias utilizadas ou pela dificuldade da mensuração do pH no estômago.

Existem evidências de que os ácidos orgânicos por si estimulam a secreção pancreática endócrina e exócrina. A acidificação intestinal eleva o conteúdo de secretina sérica que, por sua vez, estimula a secreção pancreática exócrina e também a secreção biliar (HARADA et al., 1988 apud PARTANEN; MROZ, 1999). Thaela et al. (1998) mostraram que a suplementação de 2,5% de ácido láctico em dietas de leitões desmamados aumentou o volume e a quantidade de proteína de suco pancreático, bem como a secreção de tripsina e

quimotripsina. Porém, a quantidade de bicarbonato não foi afetada pela suplementação com ácido láctico. Por esta razão, é improvável que a estimulação da secreção pancreática tenha sido causada pela diminuição do pH dietético e gástrico e sim pela ação direta do ácido.

Dietas com ácidos orgânicos e seus sais, além de abaixarem o pH gástrico e estimularem a secreção pancreática, reduzem a capacidade tamponante da dieta, inibindo a proliferação e/ou colonização de microrganismos indesejáveis tanto nas matérias primas e rações, quanto no trato gastrointestinal dos animais. Porém, as dietas podem ser resistentes a variações no pH por apresentarem altos níveis de proteína e minerais, refletindo em parte, na efetividade dos acidificantes em reduzir a capacidade tamponante da dieta (PARTANEN; MROZ, 1999; ROTH; KIRCHGESSNER apud PARTANEN, 2002).

Os ácidos orgânicos podem agir na microbiota intestinal e reduzir a incidência de diarreia em leitões, porém nem todos os ácidos são eficazes e há divergências quanto aos resultados encontrados. Knarreborg et al. (2002) estudaram a eficiência de alguns ácidos na população de coliformes, e encontraram diferenças significativas na eficácia destes ácidos em diminuir o crescimento destas bactérias, na seguinte ordem: ácido benzóico > ácido fumárico > ácido láctico > ácido butírico > ácido fórmico > ácido propiônico. Eles agem tanto na população de bactérias patogênicas quanto na microbiana benéfica, diminuindo a fermentação microbiana e conseqüentemente a produção de ácidos graxos voláteis. Por outro lado, Fuller (1997) apud Partanen; Mroz (1999) mostrou que condições ácidas favorecem o crescimento de lactobacilos no estômago os quais inibem a proliferação de *E. coli* pelo bloqueio dos sítios de adesão ou pela produção de ácido láctico e outros metabólitos que diminuem o pH e afetam o crescimento de *E. coli*. Em outros experimentos, Namkung et al. (2004), Partanen e Morz (1999) e Piva; Casadei; e Biagi (2002), pesquisando a população de microrganismos no intestino de leitões recém-desmamados alimentados com ácidos orgânicos, observaram uma modulação da microbiota, no qual proliferaram microrganismos benéficos.

Alguns estudos têm comprovado melhora na digestibilidade e retenção de nutrientes em animais recebendo ácidos orgânicos em suas dietas. Em geral, os ácidos exercem pequeno, mas significativo efeito na digestibilidade aparente em todo o trato digestório e na retenção de proteína e energia. A digestibilidade ileal aparente de aminoácidos essenciais e não essenciais pode ser melhorada quando dietas para leitões recém-desmamados e para suínos em crescimento são suplementadas com ácidos orgânicos. Porém, quando a capacidade tamponante

da dieta é alta, a eficiência dos ácidos orgânicos em melhorar a digestibilidade dos aminoácidos é reduzida necessitando de níveis elevados para expressarem seu efeito (MROZ et al., 1998). É importante ressaltar, também, que o nível de fibra da dieta influencia a digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos, mascarando o efeito do ácido e, conseqüentemente, diminuindo seu efeito sobre a digestibilidade.

O aumento na digestibilidade da energia é resultado de um aumento na digestibilidade aparente da proteína bruta, gordura e nitrogênio. Os ácidos agem sobre os microrganismos, diminuindo suas atividades e aumentando a digestibilidade da gordura, influenciando positivamente na digestibilidade da energia. Podem atuar indiretamente sobre o crescimento das bactérias, diminuindo o fluxo de nitrogênio no fêo e promovendo maior absorção ao invés de maior incorporação na proteína bacteriana, resultando em maior retenção de nitrogênio pelo organismo animal (PARTANEN; MROZ, 1999).

A suplementação da dieta com minerais (Ca e P, principalmente) pode aumentar o poder tampão da digesta no estômago, possibilitando crescimento de patógenos e diminuindo a digestibilidade da dieta. Os ácidos orgânicos atuam diminuindo o poder tampão da digesta e melhorando a absorção de Ca e P. Outro fator que influencia a absorção dos minerais e, principalmente do P, é a quantidade de fitase intrínseca ou de origem microbiana na dieta. Os ácidos orgânicos podem melhorar a atuação da fitase promovendo melhor absorção dos minerais e, propiciando, assim, menor excreção e menor poluição ambiental (PARTANEN; MROZ, 1999).

Os ácidos orgânicos podem, também, influenciar na fisiologia da mucosa intestinal. Atuam sobre as vilosidades, mantendo sua integridade, promovendo aumento no número de células e evitando seu achatamento, além de servirem como substrato no metabolismo secundário (PARTANEN; MROZ, 1999; PENZ JR.; SILVA; RODRIGUES, 1993; SILVA, 2002).

É importante ressaltar que os modos de ação dos ácidos orgânicos, descritos anteriormente, irão influenciar no desempenho animal. Vários são os trabalhos onde foi estudado o desempenho de leitões que receberam ácidos orgânicos em suas rações (BIAGI et al., 2006, 2007; MANZANILLA et al., 2006; NAMKUNG et al., 2004; OMOGBENIGUN NYACHOTI; SLOMINSKI, 2003), porém os resultados são inconsistentes e contraditórios.

A suplementação com ácidos orgânicos parece ser mais efetiva durante as primeiras duas a quatro semanas após o desmame, onde o animal apresenta os sistemas digestório e imunológico imaturos, e seu efeito declina em suínos nas fases de crescimento e terminação (GIESTING; ROOS; EASTER, 1991). Ravindran e Kornegay (1993) relataram, ainda, que uma melhor resposta no desempenho possa ser obtida em condições mais desfavoráveis para o crescimento de leitões, como por exemplo, em ambientes de alto desafio e em dietas menos complexas.

Dentre os ácidos orgânicos estudados o ácido butírico, na forma de seu sal (butirato de sódio) vem trazendo resultados satisfatórios para a produção animal. O ácido butírico é produto da fermentação de fibras dietéticas no cólon de humanos e animais não-ruminantes, e no rúmem de animais ruminantes. São absorvidos por difusão passiva e, uma vez absorvidos, juntamente com aqueles formados no metabolismo intermediário, entram no ciclo do ácido cítrico depois de serem convertidos a acetil-CoA (STRYER, 1988).

O ácido butírico é um ácido de cadeia curta, viscoso, apresenta cheiro característico devido à sua volatilidade, apresenta ponto de fusão a  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  e ponto de ebulição a  $163,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , é miscível em água, etanol e éter, apresenta peso molecular de 88,11 e pKa de 4,82. A grande vantagem em se trabalhar com os seus sais ao invés dos ácidos livres é que os sais apresentam menor odor e são sólidos, sendo mais fácil seu manuseio durante a fabricação de rações. Devem ser também menos corrosivos e mais solúveis em água (PARTANEN, 2002).

#### **2.4.1 Efeitos biológicos do ácido butírico**

##### **2.4.1.1 Efeito do ácido butírico no metabolismo celular**

O ácido butírico exerce importante efeito nas células em crescimento do trato gastrointestinal. É fonte de energia para a mucosa intestinal (borda em escova), estimula a diferenciação celular e a multiplicação de células basais, aumenta a superfície de contato entre as microvilosidades intestinais, a absorção de cálcio no lúmen, a atividade endócrina e exócrina do pâncreas e a secreção de enzimas digestivas (POUILLART, 1998).

Uma melhora na saúde intestinal e na altura dos vilos é representada pela maior ingestão, digestão e absorção de nutrientes pelo animal. O leite das fêmeas suínas possui de 1 a 4% de ácido butírico na sua gordura, o que lhe confere um cheiro característico. Uma

explicação para uma maior ingestão de ração suplementada com ácido butírico, pelos leitões, seria o fato de que eles sejam atraídos pelo cheiro característico recordando o leite materno (JANSSENS; NOLLET, 2002).

#### **2.4.1.2 Absorção de sódio (Na)**

A absorção de Na é uma importante função do intestino grosso, essencial para conservação da água e eletrólitos (BINDU; MEKTA, 1989 apud JANSSENS; NOLLET, 2002). A presença de ácido butírico aumenta a permeabilidade da membrana, aumentando a absorção de Na<sup>+</sup> por ativar a troca entre Na<sup>+</sup> e H<sup>+</sup> na membrana apical das células epiteliais. No entanto, este mecanismo não é ainda bem conhecido. As funções de troca entre Na<sup>+</sup> e H<sup>+</sup> parecem ser extremamente sensitivas às mudanças dentro e fora das células (JANSSENS; NOLLET, 2002).

#### **2.4.1.3 Efeito no sistema imune**

A ausência de nutrientes no lúmen compromete o sistema imune intestinal (PLUSKE et al., 2001 apud JANSSENS; NOLLET, 2002). Estudos com humanos têm comprovado que o butirato é responsável por aumentar a síntese de hemoglobina, melhorar o sistema imune não específico e aumentar a imunidade local específica (POUILLART, 2002 apud JANSSENS; NOLLET, 2002). Em animais foi comprovado que o butirato pode aumentar a produção de anticorpos e promover mudanças no conteúdo de albumina e da proteína do sangue (ARNOUITS et al., 2002 apud JANSSENS; NOLLET, 2002).

#### **2.4.1.4 Efeito na microbiota intestinal**

O ácido butírico atua sobre a microbiota intestinal, selecionando microrganismos benéficos e diminuindo a população de patógenos. Em experimentos com suínos e frangos, este ácido foi responsável por aumentar o número de lactobacilos em todo o trato digestório e reduzir a quantidade de *E. coli* (JANSSENS; NOLLET, 2002).

Além de apresentar os mesmos modos de ação de todos os ácidos orgânicos, já citados, o ácido butírico apresenta um efeito na preservação da integridade do epitélio intestinal (ROEDIGER, 1980) e na regulação do IGF-I (fator de crescimento semelhante à insulina)

(BACH KNUDSEN et al., 2003 apud MANZANILLA, et al., 2006). Há evidências de que, em humanos, o ácido butírico, ao invés da glicose e glutamina, é requerido como fonte de energia para a manutenção da mucosa do epitélio intestinal do íleo (CHAPMAN et al., 1995).

O bem estar, o desempenho animal e a utilização de nutrientes, produzindo proteína de elevada qualidade são as principais razões pela vasta utilização dos aditivos de rações animais. Ácidos orgânicos, plantas e seus extratos ou outros aditivos como enzimas, probióticos e prebióticos são os principais utilizados e com resultados satisfatórios dentro da suinocultura mundial (COSTA, 2006).

## **2.5 Material e métodos**

### **2.5.1 Instalações experimentais e animais**

Um experimento foi conduzido na creche experimental do Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP. A sala de creche possui 20 baias metálicas suspensas, dispostas em quatro faixas de cinco baias. Cada baia possui uma área de 1,80 m<sup>2</sup> (1,20 x 1,50 m), sendo provida de comedouro semi-automático, bebedouro tipo chupeta e aquecimento complementar com lâmpada infra-vermelha de 250 W. A área abaixo do bebedouro é constituída de piso metálico vazado, enquanto que o restante é de concreto compacto, correspondente à área adjacente ao comedouro.

Foram utilizados 120 leitões híbridos da linhagem Topigs, recém-desmamados e com idade média em torno de 24 dias. Os animais foram adquiridos de uma granja comercial e ao chegarem às instalações experimentais foram pesados e distribuídos nas baias de acordo com o peso vivo e sexo.

### **2.5.2 Aditivo fitogênico e ácido butírico**

Tanto o aditivo fitogênico quanto o ácido butírico foram fornecidos pela empresa Inve Nutrição Animal Ltda. O fitogênico foi utilizado sob a forma de óleos essenciais e extratos vegetais microencapsulados, e o carreador empregado foi o dióxido de sílica. Estas

microcápsulas permitem minimizar o sabor dos óleos e extratos na dieta e liberá-los no estômago do animal.

O ácido butírico foi utilizado sob a forma de seu sal (butirato de sódio) que por ser sólido facilita sua mistura nas rações e apresenta menor odor. Também foi microencapsulado, sendo as microcápsulas compostas dos ácidos graxos mirístico, málico e cáprico. As Tabelas 1 e 2 apresentam as composições dos produtos contendo o aditivo fitogênico e o butirato de sódio utilizados no experimento, respectivamente.

Tabela 1 - Composição do produto contendo aditivo fitogênico

Componente	%
Óleo essencial de tomilho	25,0
Óleo essencial de canela	22,0
Óleo essencial de eucalipto	16,0
Óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i>	14,5
Óleo essencial de <i>Echinaceae angustifolia</i>	9,0
Extrato de gengibre	8,0
Extrato de pimenta	4,5
Dióxido de sílica (carreador)	1,0

Tabela 2 - Composição do produto contendo butirato de sódio

Componente	%
Butirato de sódio	29,00
Ácidos graxos vegetais e carreador	71,00

### 2.5.3 Tratamentos e dietas basais

Os tratamentos foram:

- T1 - Tratamento controle: dieta basal;
- T2 - Tratamento antimicrobiano: dieta basal com 40 ppm de sulfato de colistina;
- T3 - Tratamento fitogênico: dieta basal com 500 ppm de aditivos fitogênicos microencapsulado;
- T4 - Tratamento butirato de sódio: dieta basal com 1.500 ppm de butirato de sódio microencapsulado;
- T5 - Tratamento fitogênico + butirato de sódio: dieta basal com 500 ppm de aditivos fitogênicos + 1.500 ppm de butirato de sódio.

Durante o experimento, foram utilizadas duas dietas basais, sendo a pré-inicial fornecida do 1º ao 14º dia e a inicial do 14º ao 34º dia do experimento. Os níveis nutricionais foram aqueles recomendados por Rostagno et al. (2005). As composições percentuais das dietas basais, assim como os valores nutricionais analisados ou calculados das rações, podem ser encontrados na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição percentual e valores calculados ou analisados das dietas basais

Excluído: ----Quebra de página----

Ingrediente	Dieta Pré-inicial	Dieta Inicial
	(1 a 14 dias)	(14 a 34 dias)
Milho	52,10	63,30
Farelo de soja (46%)	20,00	21,89
Plasma sanguíneo <sup>1</sup>	4,50	2,10
Produto lácteo (70,0% de lactose) <sup>2</sup>	7,81	4,00
Produto lácteo (40,5% de lactose) <sup>3</sup>	5,50	-
Amido de milho	-	2,80
Açúcar	2,00	1,50
Maltodextrina	3,67	1,33
L-Lisina.HCl (78%)	0,66	0,20
DL-Metionina (99%)	0,16	0,03
L-Treonina (98,5%)	0,25	0,01
L-Triptofano (98%)	0,05	-
Calcário	0,63	0,59
Fosfato bicálcico	2,03	1,61
Sal	0,30	0,30
Suplemento vitamínico <sup>4</sup>	0,05	0,05
Suplemento mineral <sup>5</sup>	0,10	0,10
Caulim e/ou promotor do crescimento	0,20	0,20
<i>Valores analisados ou calculados:</i>		
Matéria seca (%) <sup>6</sup>	92,22	90,36
Energia metabolizável (kcal/kg) <sup>7</sup>	3.325	3.230
Proteína bruta (%) <sup>6</sup>	19,62	18,02
Cálcio (%) <sup>6</sup>	0,98	0,99
Fósforo total (%) <sup>6</sup>	0,75	0,71
Lisina digestível (%) <sup>7</sup>	1,52	0,99
Treonina digestível (%) <sup>7</sup>	0,96	0,62
Triptofano digestível (%) <sup>7</sup>	0,26	0,17
Metionina digestível (%) <sup>7</sup>	0,43	0,28
Lactose (%) <sup>7</sup>	11,00	4,00

<sup>1</sup>Produto comercial: AP920;

<sup>2</sup>Produto comercial: Nuklospray K-21;

<sup>3</sup>Produto comercial: Nuklospray K-43;

<sup>4</sup>Quantidades fornecidas por kg de ração: vit. A, 6.000 UI; vit. D<sub>3</sub>, 1.500 UI; vit. E, 15 UI; vit. K<sub>3</sub>, 1,5 mg; tiamina, 1,35 mg; riboflavina, 4 mg; piridoxina, 2 mg; vit. B<sub>12</sub>, 0,02 mg; ácido nicotínico, 20 mg; ácido fólico, 0,6 mg; biotina, 0,8 mg; ácido pantotênico, 9,35 mg; selênio 0,3 mg;

<sup>5</sup>Quantidades fornecidas por kg de ração: iodo, 0,9 mg; cobre, 9 mg; zinco, 135 mg; ferro, 81 mg; manganês, 54 mg;

<sup>6</sup>Valores analisados e expressos na matéria natural

<sup>7</sup>Valores calculados

Nota: Sinal convencional utilizado: - Dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento.

## **2.5.4 Experimento**

### **2.5.4.1 Desempenho**

Os 120 leitões híbridos comerciais com peso médio inicial de  $6,10 \pm 1,21$  kg foram distribuídos em 40 baias sendo dois machos e uma fêmea ou duas fêmeas e um macho por baia (unidade experimental), totalizando oito blocos (oito repetições por tratamento). Os animais receberam ração e água à vontade durante todo período experimental de 34 dias quando atingiram o peso médio final de  $20,56 \pm 3,44$  kg.

Para a determinação dos dados de desempenho (ganho diário de peso, consumo diário de ração e conversão alimentar) nos períodos de 1 a 14 e 1 a 34 dias, foram registradas as quantidades de ração consumida e realizadas pesagens dos animais no início e no final de cada fase.

### **2.5.4.2 Determinação do pH das dietas experimentais**

Para determinação do pH das dietas experimentais (pré-inicial e inicial), coletou-se uma amostra de cerca de 10 g de cada dieta, que foi colocada em um becker contendo 90 mL de água deionizada e, posteriormente, agitada em agitador elétrico até a obtenção de uma suspensão. A leitura do pH foi realizada por um peagâmetro THERMO ORION 210 A+.

### **2.5.4.3 Histologia do epitélio intestinal**

#### **2.5.4.3.1 Microscopia óptica**

Ao final do experimento, um animal de cada unidade experimental (total de 20 animais), dos quatro primeiros blocos, foi sacrificado após jejum de 14 horas, para coleta de amostras para histologia do epitélio intestinal e de morfometria de órgãos. O jejum foi feito para

diminuir a presença de resíduos nos órgãos, mantendo sua integridade e facilitando o manuseio dos mesmos.

A escolha do animal de cada unidade experimental foi de acordo com o peso vivo, sendo escolhido aquele que apresentava o peso vivo mais próximo da média dos animais de cada bloco, independente do sexo. Este critério foi adotado, admitindo-se não haver diferença entre sexo nessa fase para as variáveis de histologia e morfometria.

Imediatamente após o abate, evitando prejudicar a integridade do epitélio intestinal e comprometer as análises, segmentos de cerca de 3 cm de comprimento do duodeno (até 15 cm do esfíncter estomacal) e jejuno (1,5 m da junção do íleo com o intestino grosso) foram retirados, lavados com solução salina (0,9%) e fixados em solução formol tamponado. Posteriormente, as amostras foram transportadas para o Laboratório de Patologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras - MG.

Na primeira etapa, foram feitos os cortes de três milímetros de cada amostra coletada. Na segunda, as amostras foram deixadas em solução de álcool etílico 70, 80, 90, 100 e 100% (absoluto), respectivamente, pelo período de uma hora cada. Após estes procedimentos, as amostras foram colocadas, por uma hora cada, em xilol 80, 90 e 100%, respectivamente.

Na terceira etapa, as amostras foram submergidas em três soluções de parafina histológica fundida em estufa, a 56°C - 58°C por uma hora cada. Os tecidos impregnados foram colocados em formas de metal em temperatura ambiente e neles foram adicionados parafina líquida, para a confecção dos blocos.

Na quarta etapa, os blocos de parafina, contendo as amostras, foram cortados em aparelho micrótomo (ANCAP 78), realizando secções com 5 µm de espessura e transferindo-os para as lâminas. Estas foram colocadas em estufa a 60°C por um dia para secar e fundir a parafina.

Na quinta etapa, foi realizada a coloração. As amostras foram colocadas em uma solução de xilol por 40 minutos e, posteriormente, foram mergulhadas em solução decrescente de álcool a 100, 90, 80 e 70%, de forma rápida, e depois permaneceram em água corrente por mais 15 minutos. Em seguida, foram coradas pela solução de hematoxilina por um minuto, lavadas em água corrente, colocadas em solução de eosina por 40 segundos e lavadas novamente em água corrente para retirar o excesso de eosina.

Após esta etapa, iniciou-se a desidratação. As amostras foram colocadas em soluções crescentes de álcool: 70, 80, 90 e duas de álcool etílico absoluto 100% por 30 segundos cada e, por mais duas de xilol, por um minuto cada. As lâminas foram então montadas com uma gota de bálsamo do Canadá sobre o corte e, por fim, cobertas com lamínulas.

As análises micrométricas dos cortes histológicos foram realizadas no Laboratório de Citologia do Departamento de Biologia da UFLA, utilizando um microscópio óptico com aumento de 32 vezes e medindo, em média, 12 vilosidades e suas respectivas criptas por amostra.

#### **2.5.4.3.2 Microscopia eletrônica de varredura**

Simultaneamente à retirada de amostras para análise de microscopia óptica, foram retiradas amostras de 0,25 cm<sup>2</sup> (0,50 x 0,50 cm) do duodeno e jejuno para análise em microscopia eletrônica de varredura. No momento da coleta, as amostras foram lavadas com solução salina (0,9%), mergulhadas em solução fixadora de Karnovisk por duas horas, cortadas e armazenadas em definitivo na mesma solução. Posteriormente, foram transportadas ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra Estrutural do Departamento de Fitopatologia da UFLA.

No laboratório, as amostras foram colocadas em glicerol 30% por 30 minutos e, em seguida, foram imergidas em nitrogênio líquido e cortadas em uma superfície metálica resfriada com o nitrogênio líquido, utilizando um bisturi. Os fragmentos foram, então, transferidos para uma solução de tetróxido de ósmio 1% por três horas, lavados em água destilada por três vezes e desidratados em série de acetona (25, 50, 75, 90 e 100% por três vezes cada). Após a desidratação, as amostras foram levadas para o aparelho de ponto crítico (Balzers CPD 030) para a substituição da acetona por CO<sub>2</sub> e completa secagem. Os espécimes obtidos foram montados em suportes de alumínio (*stubs*) com fita de carbono sobre uma película de papel alumínio e cobertos com ouro no evaporador (Balzers SCD 050), para a observação em microscópio eletrônico de varredura LEO EVO 40 (ALVES, 2004). As imagens foram registradas digitalmente e as mais representativas gravadas no Software Photopaint do pacote Corel Draw, sendo selecionadas as melhores imagens de cada amostra para análise visual das vilosidades.

Além desta avaliação, foram feitas mensurações do número de vilos em campos distintos de cada amostra. Após verificar a escala da fotografia, foi mensurado o campo de observação, feita a determinação da área e calculada a densidade de vilos por área (vilos/1.250.000  $\mu\text{m}^2$ ).

#### **2.5.4.4 pH do estômago, jejuno e ceco**

Após a retirada das amostras para histologia do epitélio intestinal, foram retirados os órgãos digestórios (estômago, jejuno e ceco) para mensuração do pH do conteúdo dos respectivos órgãos. Antes da retirada destes órgãos eles foram amarrados em suas extremidades para não haver nenhuma mistura dos conteúdos e, assim, não comprometer os valores de pH.

No estômago, foi feita uma incisão na região esofágica, a mais ou menos 2 cm do esôfago, homogeneização da digesta e, em seguida, a mensuração do pH. Para o jejuno, a mensuração foi feita em sua parte mediana, após homogeneização da digesta. No ceco, também foi feita homogeneização da digesta e a mensuração do pH na sua parte caudal.

#### **2.5.4.5 Morfometria de órgãos**

Após a retirada das amostras para as análises de histologia do epitélio intestinal e mensuração do pH, foram retirados e pesados os órgãos digestórios (estômago vazio, pâncreas, fígado e intestino delgado e ceco vazios). Também foi feita a medição do comprimento do intestino delgado dos animais. De posse dos dados, foram calculados os pesos relativos dos órgãos e o comprimento relativo do intestino delgado, considerando o peso vivo dos animais ao 34º dia de experimentação, e a relação peso:comprimento do intestino delgado.

#### **2.5.4.6 Digestibilidade aparente dos nutrientes**

Foi empregado o método da coleta parcial de fezes, utilizando o óxido crômico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) como marcador dietético, adicionado às dietas experimentais na concentração de 0,05%. A ração com o marcador foi fornecida a partir do 22º dia de experimento. A coleta de fezes foi feita durante cinco dias (manhã e tarde) e teve início após sete dias de fornecimento do marcador

na dieta (29º dia). As amostras de fezes foram imediatamente acondicionadas em sacos plásticos e congeladas. Posteriormente, estas amostras foram descongeladas e homogeneizadas, retirando-se uma subamostra de, aproximadamente, 300 g. As subamostras foram secas em estufas de circulação de ar forçada, a 60°C durante 168 horas, e moídas em moinho tipo Willey, em peneira crivada de 1 mm. As amostras de fezes e rações foram enviadas para análise de matéria seca, energia bruta, proteína bruta e de óxido crômico.

A determinação da porcentagem de óxido crômico nas amostras foi feita no Laboratório de Instrumentação Nuclear do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, pela técnica de fluorescência de raios X por dispersão de energia (NASCIMENTO FILHO; ABADALA; KORNDORFER, 1997; ZUCCHI; NASCIMENTO FILHO, 1995). Já as análises bromatológicas foram realizadas em um laboratório comercial (CBO Assessoria e Análise), localizado na cidade de Campinas, SP. A determinação de energia bruta foi feita em bomba calorimétrica automática IKA - WERK modelo C 5001. As análises de matéria seca e proteína bruta foram realizadas de acordo com a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1980). Todas as amostras foram analisadas em duplicata.

Para a determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDap) da matéria seca, energia bruta e proteína bruta foram utilizadas as seguintes fórmulas:

Matéria seca:

$$\text{CDap (\%)} = 100 - 100 \times \frac{(\% \text{ marcador na dieta})}{(\% \text{ marcador nas fezes})}$$

Proteína bruta e energia bruta:

$$\text{CDap (\%)} = 100 - 100 \times \frac{(\% \text{ marcador na dieta})}{(\% \text{ marcador nas fezes})} \times \frac{(\% \text{ nutriente nas fezes})}{(\% \text{ nutriente na dieta})}$$

#### 2.5.4.7 Frequência de diarreia

A frequência de diarreia foi analisada diariamente atribuindo notas 1 e 2 para cada baía de acordo com a consistência das fezes, sendo: (1) presença de diarreia e (2) fezes normais. Assim, pode-se calcular a porcentagem de dias com ocorrência de diarreia nos períodos de 1 a 14 e 1 a 34 dias de experimentação.

### 2.5.5 Delineamento experimental e análise dos dados

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com cinco tratamentos e oito repetições (blocos) por tratamento para os dados de desempenho e frequência de diarreia. No entanto, como a creche experimental possui apenas 20 baias, foram realizadas duas repetições no tempo (quatro blocos por repetição no tempo). Para os dados de histologia intestinal, pH estomacal, pH do jejuno, pH cecal, morfometria de órgãos e digestibilidade aparente dos nutrientes, foram testados os cinco tratamentos com apenas quatro repetições por tratamento, correspondente primeira repetição no tempo (quatro primeiros blocos).

Para as variáveis de desempenho e frequência de diarreia, também foram considerados os efeitos de tempo no modelo principal. A interação tratamento x tempo não foi significativa ( $P>0,05$ ), sendo, portanto, retirada do modelo de análise.

Os dados foram analisados pelo SAS LAB para verificação da adequação dos dados ao modelo linear. Posteriormente, foi feita análise de variância pelo PROC GLM (General Linear Models) do SAS (Statistical Analysis System, 2001). Para a variável frequência de diarreia, utilizou-se a distribuição binomial da metodologia dos modelos lineares generalizados (NELDER; WEDDERBURN, 1972), com auxílio do PROC GLIMMIX do SAS e a função de ligação Logit. Foram testados contrastes específicos de maior interesse para aplicação prática.

## 2.6 Resultados e Discussão

### 2.6.1 pH da dieta

Os valores de pH das dietas pré-inicial (1 a 14 dias) e inicial (14 a 34 dias) são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores de pH das dietas pré-inicial e inicial

Dietas	Tratamentos <sup>1</sup>				
	T1	T2	T3	T4	T5
Pré-inicial	6,28	6,32	6,25	6,27	6,30
Inicial	6,25	6,26	6,28	6,22	6,24

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

Os valores médios de pH das dietas pré-inicial e inicial foram muito próximos, inclusive para as dietas que receberam o aditivo butirato de sódio. A expectativa da acidificação das dietas, com a adição do butirato de sódio, não ficou caracterizada pela medição do pH.

### 2.6.2 Desempenho

Os resultados de peso vivo inicial (P1), peso vivo aos 14 dias (P14), consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) dos leitões para o período de 1 a 14 dias de experimentação encontram-se na Tabela 5. Os Apêndices A a D apresentam as médias por unidade experimental do peso vivo, CDR, GDP e CA, respectivamente.

Tabela 5 - Médias de peso vivo inicial (P1), peso vivo aos 14 dias (P14), consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) para o período de 1 a 14 dias de experimentação

Variáveis	Tratamentos <sup>1</sup>					Contrastes <sup>2</sup>				CV <sup>3</sup> (%)
	T1	T2	T3	T4	T5	C1	C2	C3	C4	
P1 (kg)	6,10	6,09	6,09	6,06	6,08	..	..	..	..	..
P14 (kg)	10,71	10,32	10,58	10,80	10,53	0,65	0,38	0,66	0,62	8,14
CDR (g)	447	412	447	467	436	0,81	0,17	0,48	0,55	15,17
GDP (g)	324	301	320	338	317	0,83	0,32	0,64	0,55	18,25
CA	1,39	1,38	1,42	1,39	1,38	0,98	0,57	0,64	0,55	6,56

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

<sup>2</sup>C1: T1 X média de T2, T3, T4 e T5; C2: T2 X média de T3, T4, T5; C3: média de T3 e T4 X T5; C4: T3 X T4

<sup>3</sup> Coeficiente de variação.

Nota: Sinal convencional utilizado:

.. Não se aplica dado numérico.

Para o período experimental de 1 a 14 dias, o P14, o CDR, o GDP e a CA dos leitões não foram influenciados ( $P>0,05$ ) pelos tratamentos, mesmo quando comparados os contrastes específicos de interesse. Biagi et al. (2006, 2007) também não observaram melhora significativa no desempenho dos animais que receberam diferentes concentrações de ácido glucônico, precursor do ácido butírico (3.000, 6.000 e 12.000 ppm) e butirato de sódio (1.000, 2.000 e 4.000 ppm) em suas dietas, quando comparado ao desempenho dos animais do tratamento controle. Por outro lado, alguns autores encontraram melhoras na eficiência alimentar dos animais que receberam este aditivo em suas dietas em relação aos que receberam o tratamento controle (0,69

vs 0,53) (MANZANILLA et al., 2006). No presente experimento, os leitões que receberam o butirato de sódio (T4) apresentaram maiores resultados numéricos de CDR e de GDP em relação aos leitões que receberam o tratamento controle (T1). Assim, o butirato de sódio acarretou aumento de 4,5% no CDR e de 4,3% no GDP dos animais em relação aos do tratamento controle.

Níveis elevados de ácidos orgânicos ou alguns ácidos específicos, adicionados às dietas animais, podem interferir negativamente no consumo de ração e, conseqüentemente, no desempenho animal. Porém, no presente estudo, não foi observado piora no consumo de ração dos animais que receberam butirato de sódio em suas dietas.

Alguns acidificantes podem reduzir os efeitos negativos provocados pela microbiota patógena na mucosa intestinal e, assim, promover melhor desenvolvimento animal (PARTEN; MROZ, 1999). Estes resultados contraditórios devem estar associados, primeiramente, às diferenças na composição das dietas (simples ou complexas), assim como ao estágio de maturação do intestino dos animais (BIAGI et al., 2007), uma vez que um trato digestório mais maduro pode ser pouco influenciado pelos ácidos orgânicos adicionados às dietas animais.

Outro fator que pode ser destacado, além dos discutidos anteriormente, é o fato de que o maior CDR pode ser conseqüência da melhor palatabilidade, cheiro ou *flavour* do ácido butírico. O leite das fêmeas suínas possui de 1 a 4% de ácido butírico na sua gordura e isto provoca um cheiro característico. Uma explicação para maior ingestão de ração suplementada com ácido butírico, pelos leitões, seria o fato de que eles sejam atraídos pelo cheiro característico recordando o leite materno (JANSSENS; NOLLET, 2002). Assim, o maior GDP dos leitões que receberam butirato de sódio (T4) foi conseqüência da maior ingestão de ração, uma vez que a CA não foi afetada.

Tanto isoladamente quanto em combinação com o butirato de sódio, o aditivo fitogênico não afetou o desempenho dos leitões. Alguns aditivos fitogênicos apresentam alto poder antimicrobiano sobre diversos patógenos em estudos *in vitro*. *In vivo*, há uma grande divergência nos resultados encontrados. Este efeito sobre os microrganismos patógenos podem influenciar diretamente a performance animal. Alguns estudos apresentam resultados positivos (ALÇIÇEK; BOZKURT; ÇABUK, 2004; COSTA; TSE; MIYADA, 2007) e outros não mostram qualquer efeito (CROSS et al., 2003; GARDINER et al., 2008; HERMANN et al., 2003; LEE et al., 2003; MANZANILLA et al., 2004, 2006; UTIYAMA et al., 2006) no desempenho dos

animais. Porém, é importante salientar que o nível de inclusão deste aditivo deve ser elevado e, às vezes faz-se necessário a adição do seu princípio ativo para que os aditivos fitogênicos venham melhorar o desempenho dos animais. Outro fator importante está relacionado com a quantidade, proporção e composição dos óleos essenciais ou extratos vegetais presentes no aditivo fitogênico.

Por outro lado, deve-se ressaltar que níveis muito elevados dos aditivos fitogênicos podem afetar negativamente o desempenho dos animais, talvez pela queda no consumo de ração. Cross et al. (2003), estudando a suplementação de timol (princípio ativo do tomilho) e enzimas (xilanas e glucanase) na dieta de frangos de corte, observaram uma redução linear no CDR e no GDP à medida que a inclusão de timol na dieta dos animais foi aumentada, nas fases de 8 a 14 e 8 a 23 dias, respectivamente. Estes aditivos podem apresentar substâncias com odores fortes ou até mesmo um sabor acentuado, levando os animais a diminuir o consumo de ração (SCHÖNE et al., 2006). No entanto, no presente experimento, não foi detectado qualquer indício de redução no CDR, no GDP e na CA com as baixas concentrações de fitogênico encapsulado.

Apesar de não haver diferença estatística no desempenho dos animais que receberam o tratamento antimicrobiano (T2) em relação aos animais do tratamento controle (T1), o P14, o CDR e o GDP dos leitões que receberam o antimicrobiano foram numericamente inferiores aos dos animais controle. O tratamento antimicrobiano acarretou queda de 4% no P14, de 8% no CDR e de 7% no GDP dos animais em relação aos do tratamento controle, embora não afetando a CA. Uma possível piora na palatabilidade da ração ou qualquer outro efeito de difícil identificação pode ter influenciado o consumo dos animais. Guo et al. (2004), estudando a adição de antimicrobianos e ervas medicinais chinesas na dieta de frangos de corte, também observaram resultados inferiores no CDR e no GDP para os animais do tratamento antimicrobiano em relação aos animais do tratamento controle. Dietas altamente digestíveis limitam o crescimento de microrganismos patogênicos no trato digestório, pela redução de substrato disponível ao crescimento microbiano, diminuindo, assim, a ação dos antibióticos e quimioterápicos em melhorar o desempenho animal. O mesmo pode acontecer se os animais forem alojados em instalações experimentais com baixo nível de contaminação e rigoroso controle sanitário, não caracterizando a eficácia destes aditivos sobre a produção animal (OETTING et al., 2006), podendo os antimicrobianos não diferirem do tratamento controle e até promoverem ligeiras quedas no desempenho dos animais, como no presente experimento.

Para o período total de 1 a 34 dias de experimentação, os resultados médios de peso vivo inicial (P1), peso vivo aos 34 dias (P34), CDR, GDP e CA dos leitões são apresentados na Tabela 6, enquanto que os Apêndices A a D mostram as médias dos dados de desempenho dos animais de cada unidade experimental.

Tabela 6 - Médias de peso vivo inicial (P1), peso vivo aos 34 dias (P34), consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) para o período de 1 a 34 dias de experimentação

Variáveis	Tratamentos <sup>1</sup>					Contrastes <sup>2</sup>				CV <sup>3</sup> (%)
	T1	T2	T3	T4	T5	C1	C2	C3	C4	
P1 (kg)	6,10	6,09	6,09	6,06	6,08	..	..	..	..	..
P34 (kg)	20,85	20,65	20,04	21,04	20,19	0,59	0,75	0,64	0,26	8,42
CDR (g)	706	694	684	715	669	0,66	0,89	0,44	0,49	12,93
GDP (g)	434	428	410	450	415	0,60	0,77	0,64	0,24	11,89
CA	1,62	1,62	1,67	1,61	1,61	0,72	0,60	0,13	0,09	3,39

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

<sup>2</sup>C1: T1 X média de T2, T3, T4 e T5; C2: T2 X média de T3, T4 e T5; C3: média de T3 e T4 X T5; C4: T3 X T4.

<sup>3</sup>Coefficiente de variação.

Nota: Sinal convencional utilizado:

.. Não se aplica dado numérico.

Para o período experimental de 1 a 34 dias, os leitões do tratamento butirato (T4) apresentaram melhor CA que os leitões do tratamento fitogênico (T3) (P=0,09). A melhor CA pode ter sido resultado de melhor absorção dos nutrientes, aliada ao menor gasto de energia e proteína para a manutenção do trato gastrointestinal (UTIYAMA, 2004). Manzanilla et al. (2006), estudando a substituição de avilamicina por butirato de sódio ou aditivos fitogênicos na dieta de leitões, observaram melhor eficiência alimentar para os animais que receberam butirato de sódio em suas dietas. Estes autores sugerem que a melhora na eficiência alimentar dos animais pode ser devido à maior saúde intestinal e a melhor eficiência no uso dos nutrientes da ração.

O P34, o CDR e o GDP dos leitões não foram influenciados (P>0,05) pelos tratamentos, mesmo quando comparados os contrastes específicos de interesse. Contudo, os leitões que receberam os tratamentos fitogênico (T3) e fitogênico + butirato (T5) apresentaram resultados numéricos ligeiramente inferiores de P34, de CDR e de GDP em relação àqueles que receberam os demais tratamentos. Comparando os tratamentos que continham aditivos substitutos do antibiótico, o tratamento fitogênico (T3) apresentou queda de 4,7% no P34, de 4,3% no CDR e de 8,9% no GDP, dos animais, quando comparado aos do tratamento butirato

(T4). O tratamento fitogênico + butirato (T5) apresentou queda de 4,0% no P34, de 6,4% no CDR e de 7,7% no GDP dos animais, quando comparado aos do tratamento butirato (T4). É importante ressaltar que o butirato de sódio pode apresentar alguns mecanismos de ação específicos (POUILLART, 2002 apud JANSSENS; NOLLET, 2002), sendo que um dos principais mecanismos estaria relacionado ao fato de ser fonte de energia para a manutenção e recomposição da mucosa intestinal. De posse desta energia “extra”, o animal utiliza mais eficientemente a energia da ração para seu crescimento, desviando menos energia para o desenvolvimento do epitélio intestinal, apresentando, assim, melhor eficiência na utilização dos nutrientes da ração. O butirato, também, estimula a diferenciação celular, a atividade endócrina e exócrina do pâncreas, a secreção de enzimas digestivas (POUILLART, 1998), melhora o sistema imune não específico e aumenta a imunidade local específica (POUILLART, 2002 apud JANSSENS; NOLLET, 2002), possibilitando aos animais desempenharem seu potencial genético para crescimento.

Durante o período total de experimentação, o aditivo fitogênico (T3 e T5) apresentou menor P34, CDR e GDP em relação ao tratamento controle, embora não significativo. O tratamento fitogênico (T3) acarretou redução de 3,9% no P34, de 3,1% no CDR e de 5,5% no GDP quando comparado ao tratamento controle (T1). O tratamento fitogênico + butirato (T5) acarretou redução de 3,2% no P34, de 5,2% no CDR e de 4,4% no GDP quando comparado ao tratamento controle (T1).

O butirato de sódio (T4), por sua vez, proporcionou melhores resultados de desempenho, quando fornecido isoladamente nas dietas dos animais. Porém, quando misturado ao aditivo fitogênico (T5) não se comportou da mesma forma, possivelmente devido a diminuição no consumo, conforme mostra a Tabela 6. Manzanilla et al. (2004), estudando a adição de uma mistura de extratos vegetais de orégano, canela e pimenta (0, 150 e 300 ppm) e ácido fórmico (0 e 5.000 ppm) na dieta de leitões recém-desmamados não encontraram diferenças no CDR e no GDP dos animais quando comparado aos que receberam o tratamento controle. Como no presente experimento, foram observados piores resultados para estas variáveis quando os animais receberam a combinação de extrato + ácido.

É importante salientar que algumas pesquisas apontam efeito sinérgico entre os princípios ativos primários e secundários das plantas, onde os compostos secundários atuam como potencializadores dos compostos primários (KAMEL, 2000). No entanto, também podem

ser observados efeitos antagônicos entre os princípios ativos presentes nos compostos fitogênicos, assim como entre os diferentes aditivos promotores de crescimento animal (MELLOR, 2000).

Os aditivos fitogênicos apresentam substâncias com odores fortes, sabor acentuado e fatores pungentes que podem interferir no consumo de ração dos animais (SCHÖNE et al., 2006). No período de 1 a 14 dias isto não foi observado, porém, para o período de 1 a 34 dias, possivelmente devido ao maior tempo de contato com os produtos (efeito cumulativo), estes podem ter interferido no CDR e, conseqüentemente, prejudicado o desempenho animal.

Devido aos resultados controversos encontrados nos diversos trabalhos científicos e devido aos modos de ação ainda pouco conhecidos dos fitogênicos e do butirato de sódio no desempenho animal, mais estudos devem ser realizados de forma a associar seus princípios ativos e seus efeitos *in vivo*, a fim de alcançarem melhores ganhos no desempenho de suínos.

### 2.6.3 Histologia do epitélio intestinal

A Tabela 7 apresenta as médias de altura das vilosidades (AV), de profundidade das criptas (PC), da relação altura de vilosidade/profundidade de cripta (AV/PC) e da densidade de vilosidades (DV) do duodeno e do jejuno dos leitões, em função dos tratamentos. Os valores médios das unidades experimentais estão apresentados no apêndice E.

As Figuras 1 e 2 apresentam, respectivamente, eletronicografias de varredura do duodeno e do jejuno dos leitões, em função dos tratamentos.

Houve diferença entre os tratamentos ( $P < 0,10$ ) apenas para a variável densidade de vilosidades (DV), tanto no duodeno quanto no jejuno. Para os contrastes específicos de interesse, no duodeno, a média da DV dos leitões dos tratamentos fitogênico (T3) e butirato (T4) foi maior ( $P = 0,06$ ) do que a do tratamento fitogênico + butirato (T5). Foi observado, também, maior DV ( $P = 0,02$ ) para os animais do tratamento fitogênico (T3) em relação a dos animais do tratamento butirato (T4). No jejuno, a média da DV dos leitões dos tratamentos com aditivos (T2, T3, T4 e T5) foi maior ( $P = 0,03$ ) do que a dos leitões do tratamento controle (T1). Os animais do tratamento butirato (T4) apresentaram maior DV do que os animais do tratamento fitogênico (T3) ( $P = 0,08$ ). Com base nesses resultados pode-se sugerir que a presença dos aditivos na dieta

manteve ou até mesmo aumentou o número de vilos/área nas regiões de maior absorção intestinal.

Tabela 7 - Médias de altura das vilosidades (AV,  $\mu\text{m}$ ), de profundidade das criptas (PC,  $\mu\text{m}$ ), da relação altura de vilosidade/profundidade de cripta (AV/PC) e da densidade de vilosidades (DV) do duodeno e do jejuno dos leitões, em função dos tratamentos

Variáveis	Tratamentos <sup>1</sup>					Contrastes <sup>2</sup>				CV <sup>3</sup> (%)
	T1	T2	T3	T4	T5	C1	C2	C3	C4	
<i>Duodeno</i>										
AV ( $\mu\text{m}$ )	297,75	272,21	287,45	329,34	291,69	0,93	0,33	0,61	0,28	17,59
PC ( $\mu\text{m}$ )	107,80	102,49	94,47	111,32	106,61	0,60	0,84	0,67	0,11	13,08
AV/PC	2,75	2,68	3,05	2,96	2,74	0,61	0,29	0,26	0,72	13,01
DV <sup>4,5</sup>	39,50	44,60	48,67	38,88	37,04	0,37	0,34	0,06	0,02	12,77
<i>Jejuno</i>										
AV ( $\mu\text{m}$ )	317,05	265,52	314,96	323,92	320,40	0,72	0,10	0,98	0,82	17,19
PC ( $\mu\text{m}$ )	114,15	94,01	103,21	112,82	110,92	0,31	0,11	0,76	0,38	14,03
AV/PC	2,81	2,84	3,09	2,90	2,91	0,68	0,68	0,80	0,62	18,37
DV <sup>4,6</sup>	53,33	61,68	58,54	67,25	60,54	0,03	0,91	0,56	0,08	10,63

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

<sup>2</sup>C1: T1 X média de T2, T3, T4 e T5; C2: T2 X média de T3, T4 e T5; C3: média de T3 e T4 X T5; C4: T3 X T4.

<sup>3</sup>Coefficiente de variação.

<sup>4</sup>DV - Densidade de vilosidades = número de vilosidades/1.250.000  $\mu\text{m}^2$ .

<sup>5</sup>Contrastes significativos: C3: (P=0,06) e C4: (P=0,02).

<sup>6</sup>Contraste significativo: C1: (P=0,03) e C4: (P=0,08).

Apesar de não significativo, o duodeno dos animais do tratamento fitogênico (T3) apresentaram menor PC e maior relação AV/PC do que os animais dos demais tratamentos. É importante ressaltar, ainda, que a DV do duodeno dos leitões que receberam o tratamento fitogênico (T3) também foi superior (P<0,10) a dos demais tratamentos. Uma maior relação AV/PC e uma maior DV podem proporcionar maior digestão e absorção dos nutrientes da dieta, refletindo em melhor desempenho, porém, não foi observado melhor desempenho para os animais que receberam o tratamento fitogênico (T3), conforme mostra a Tabela 6. Criptas menos profundas podem ser decorrentes de menor proliferação celular, talvez por menor apoptose nos vilos, promovendo menor “turnover” das células epiteliais e, conseqüentemente, menor reposição celular. Manzanilla et al. (2006) e Utiyama (2004) também não observaram efeitos dos fitogênicos na histologia intestinal de leitões. Porém, encontraram efeitos numericamente positivos dos aditivos fitogênicos na relação AV/PC do jejuno e do íleo (MANZANILLA et al., 2006) e na AV e na relação AV/PC do duodeno e do jejuno (UTIYAMA, 2004).

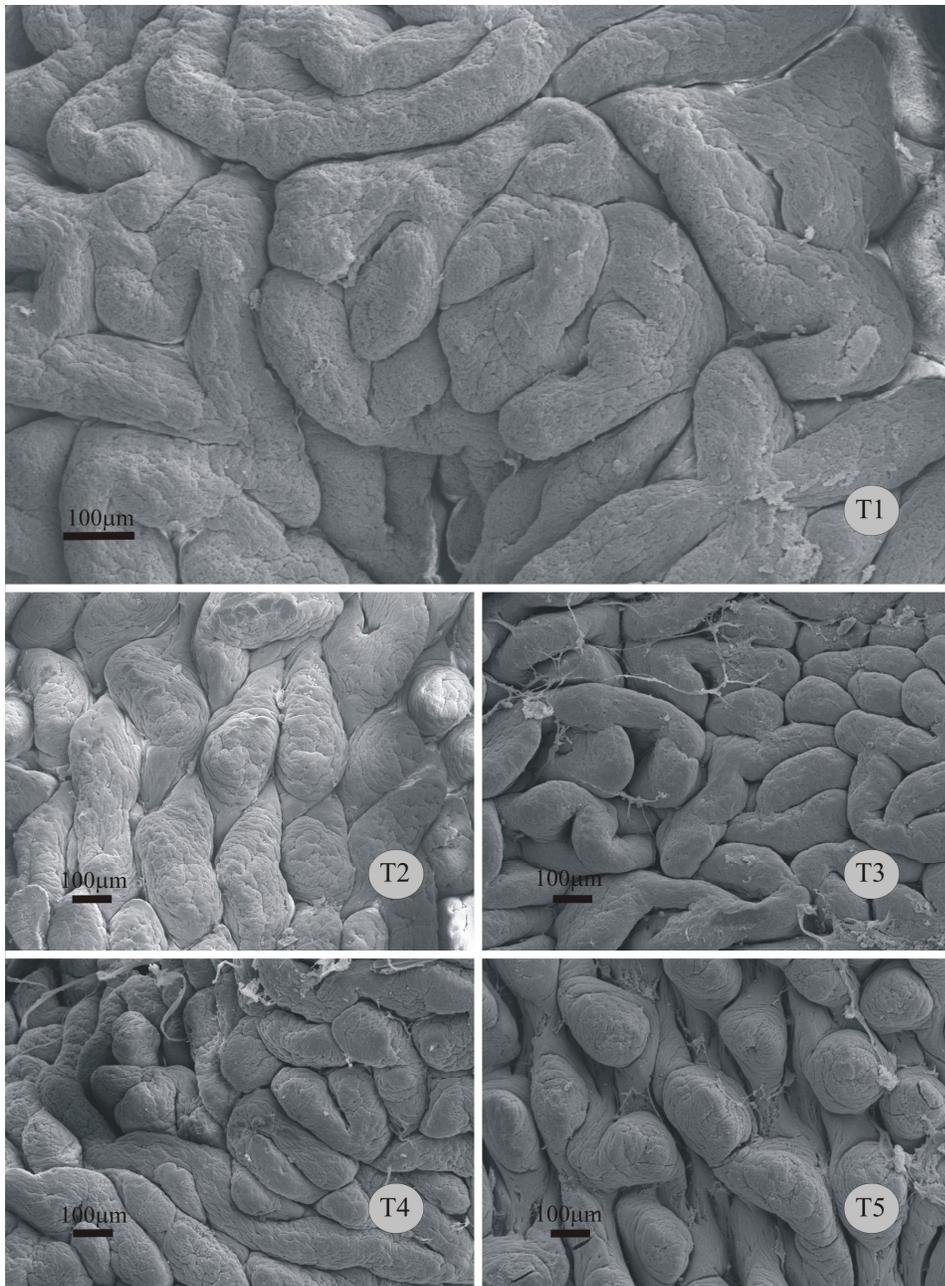


Figura 1 - Eletronmicrografia de varredura do duodeno dos leitões dos tratamentos T1 (controle), T2 (antimicrobiano), T3 (fitogênico), T4 (butirato de sódio) e T5 (fitogênico + butirato de sódio)

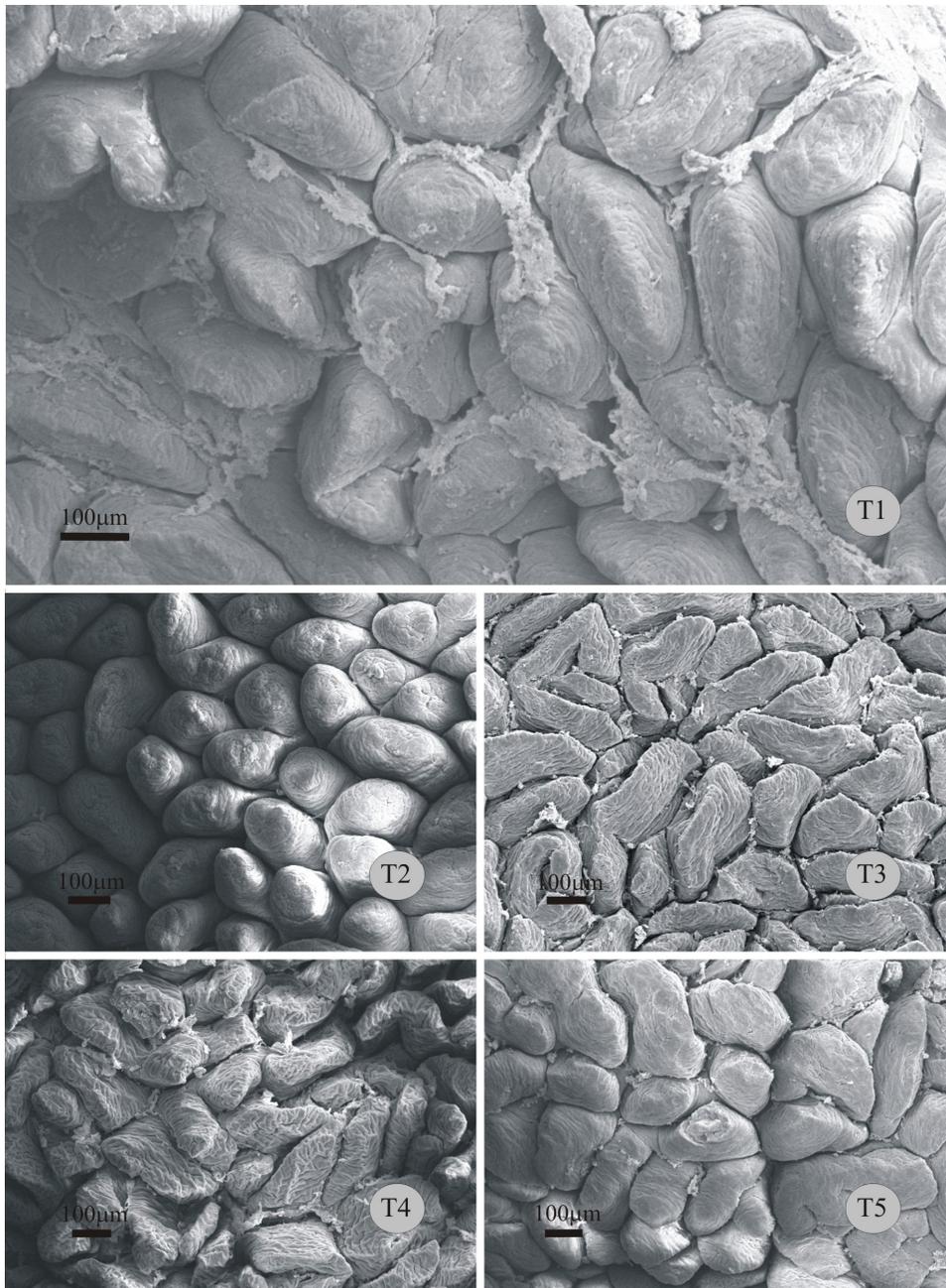


Figura 2 - Eletronmicrografia de varredura do jejuno dos leitões dos tratamentos T1 (controle), T2 (antimicrobiano), T3 (fitogênico), T4 (butirato de sódio) e T5 (fitogênico + butirato de sódio)

Em frangos, Demir et al. (2003), estudando a substituição de antibióticos por diferentes aditivos fitogênicos observaram menor profundidade de cripta no íleo ( $P < 0,05$ ) dos animais que receberam timol (princípio ativo do tomilho) ou alho em relação aos animais que receberam o tratamento com antibiótico. Na realidade, cada segmento do intestino delgado e grosso apresenta funções específicas, devendo ser estudados e comparados separadamente, uma vez que as respostas dos aditivos podem ser completamente diferentes, porém, o número de trabalhos com estes aditivos e avaliando a histologia intestinal de leitões é escasso e os resultados contraditórios.

O duodeno dos animais do tratamento butirato (T4) apresentaram maior AV e, o jejuno, maior densidade de vilos. A maior DV observada no segmento de maior digestão e absorção de nutrientes, juntamente com a maior AV no duodeno, podem ter contribuído para o bom desempenho dos animais. Uma menor contagem de vilos/área não significa, necessariamente, menor capacidade absorptiva, pois pode haver uma compensação na altura dos mesmos. Assim, a capacidade absorptiva pode ser considerada dependente da densidade e altura dos vilos e microvilos e não somente de uma única variável (MACARI, 1995 apud KINDLEIN, 2006). No desmame, o intestino delgado dos leitões geralmente sofre uma redução na altura das vilosidades e um aumento na profundidade das criptas, mudanças estas associadas com uma diminuição na capacidade absorptiva (PLUSKE; WILLIAMS; AHERNE, 1996), comprometendo o crescimento e, conseqüentemente, prolongando o tempo para os animais atingirem o peso de abate. O ganho de peso e o consumo de ração de leitões recém-desmamados estão positivamente correlacionados com a altura das vilosidades intestinais (PLUSKE; WILLIAMS; AHERNE, 1996; PLUSKE et al., 2003). Os dados do presente experimento corroboram com esta afirmação, em que os animais que receberam butirato de sódio em suas dietas tenderam a apresentar maior CDR, GDP e maior altura das vilosidades. Gálfi e Bokori (1990) apud Partanen e Mroz (1999) observaram maior altura das vilosidades no íleo de animais em crescimento quando estes receberam 1,7 g de butirato de sódio por kg de ração. É conhecido que ácidos graxos de cadeia curta, principalmente o ácido butírico, estimulam a proliferação das células epiteliais, promovendo, assim, maior altura das vilosidades.

No jejuno, os leitões que receberam o tratamento controle apresentaram vilos mais irregulares, em formas de “folha ou língua”, mais espaçados, largos e difusos. Isto pode explicar

a menor DV encontrada para os animais deste tratamento em comparação a média dos animais dos demais tratamentos ( $P=0,03$ ).

Mesmo sem diferenças ( $P>0,10$ ), é importante ressaltar que os animais que receberam o tratamento antimicrobiano (T2) apresentaram menor AV tanto no duodeno quanto no jejuno em relação aos animais que receberam o tratamento controle (T1). No duodeno, o antimicrobiano (T2) acarretou queda de 8,6% na AV e, no jejuno, de 16,3% quando comparado ao tratamento controle (T1). O consumo e a presença de alimento no trato gastrointestinal são fundamentais para um bom funcionamento da mucosa intestinal, uma vez que a queda no consumo de ração resulta em vilos atrofiados (PLUSKE; WILLIAMS; AHERNE, 1996; PLUSKE et al., 2003). Portanto, o baixo consumo de ração observado para os animais do tratamento antimicrobiano (T2) pode ter sido decisivo para o menor tamanho das vilosidades intestinais.

#### 2.6.4 pH do estômago, jejuno e ceco

Os resultados dos valores de pH do conteúdo do estômago, do jejuno e do ceco são apresentados na Tabela 8. As médias de pH do conteúdo do estômago, do jejuno e do ceco por parcela são apresentadas no Apêndice F.

Tabela 8 - Valores de pH do conteúdo do estômago, do jejuno e do ceco

Órgãos	Tratamentos <sup>1</sup>					Contrastes <sup>2</sup>				CV <sup>3</sup> (%)
	T1	T2	T3	T4	T5	C1	C2	C3	C4	
Estômago	2,63	2,99	2,55	3,57	3,78	0,29	0,60	0,25	0,16	31,18
Jejuno	7,16	7,11	7,35	7,11	7,20	0,74	0,35	0,77	0,11	2,70
Ceco	6,20	6,26	6,03	6,12	6,06	0,53	0,16	0,92	0,57	3,70

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

<sup>2</sup>C1: T1 X média de T2, T3, T4 e T5; C2: T2 X média de T3, T4 e T5; C3: média de T3 e T4 X T5; C4: T3 X T4.

<sup>3</sup>Coefficiente de variação.

Não foi observada diferença estatística ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos para o pH do conteúdo do estômago, do jejuno e do ceco dos animais, mesmo quando comparados os contrastes específicos de interesse. Devido ao jejum de 14 horas que os animais foram submetidos, foi observado pouco conteúdo nos órgãos digestórios dificultando a mensuração do pH.

Os dados do presente experimento estão de acordo com alguns trabalhos, em que a adição de extratos vegetais (GARDINER et al., 2008; MANZANILLA et al., 2006) ou ácidos orgânicos (BIAGI et al., 2006; MANZANILLA et al., 2006; OMOGBENIGUN et al. 2003; SILVA, 2002; WALSH et al., 2007a, 2007b) não tiveram qualquer efeito no pH do conteúdo do trato digestório ou das fezes dos animais. Por outro lado, alguns autores encontraram reduções no pH do conteúdo estomacal (BOLDUAN et al., 1988a, 1988b; RADCLIFFE; ZHANG; KORNEGAY, 1998; RISLEY et al., 1992; TOMLINSON; LAWRENCE, 1981), do ceco (BRAZ, 2007) e do cólon (MANZANILLA et al., 2004; NAMKUNG et al., 2004) de animais que receberam ácidos orgânicos em suas dietas.

Os resultados de pH do conteúdo do trato digestório, encontrados na literatura, são bastante contraditórios. Manzanilla et al. (2004), estudando a adição de extratos vegetais (0, 150 e 300 ppm) ou ácido fórmico (0 e 5.000 ppm) na dieta de leitões recém-desmamados observaram um aumento no pH do conteúdo estomacal dos animais que receberam os referidos aditivos. Os autores explicam este resultado pela possível capacidade tamponante da dieta utilizada no estudo. Em outro trabalho, Mroz et al. (2000), pesquisando a adição de diferentes ácidos orgânicos (fórmico, fumárico e butírico) na dieta de suínos em crescimento e terminação, encontraram melhora na digestibilidade dos nutrientes devido a diminuição da capacidade tamponante da dieta quando o calcário (1,2% da dieta) foi parcialmente substituído pelo benzoato de cálcio (2,4% da dieta). A diminuição da capacidade tamponante da dieta juntamente com a adição de ácidos orgânicos promoveram menor esvaziamento gástrico (maior tempo de trânsito intestinal), maior digestibilidade dos nutrientes e maior retenção de Ca, P e N.

No presente trabalho, a capacidade tamponante da dieta pode ter sido responsável pela não mudança do pH dietético, uma vez que o caulim adicionado às dietas, juntamente com fontes de minerais e de proteínas podem ter propiciado o poder tampão. Este fator pode ter sido determinante para a semelhança dos valores de pH do conteúdo digestório para todos os tratamentos. A baixa inclusão do butirato de sódio nas rações pode não ter sido suficiente para a acidificação tanto das dietas quanto do conteúdo do trato digestório, uma vez que o produto microencapsulado continha somente 29% de butirato.

Reduções no pH do conteúdo digestório de animais que recebem aditivos promotores de crescimento em suas rações são de difícil detecção, devido a diversos fatores como: grande variação nas metodologias utilizadas, possíveis contaminações entre os conteúdos gástricos e

intestinais, dificuldade na mensuração do pH nos órgãos digestórios, ingredientes utilizados nas dietas, tipos e níveis de inclusão de aditivos e idade dos animais (PARTANEN; MROZ 1999).

### 2.6.5 Morfometria de órgãos

A Tabela 9 apresenta as médias do peso vivo aos 34 dias (P34), dos pesos relativos (em porcentagem do peso vivo) dos órgãos digestórios (estômago vazio, pâncreas, fígado, intestino delgado e ceco vazios), assim como do comprimento, do comprimento relativo e da relação peso:comprimento do intestino delgado em função dos tratamentos. O Apêndice G apresenta os pesos absolutos dos órgãos e o peso vivo aos 34 dias dos animais por unidade experimental.

Tabela 9 - Médias do peso vivo aos 34 dias (P34), dos pesos relativos (porcentagem do peso vivo) dos órgãos digestórios, do comprimento, do comprimento relativo e da relação peso:comprimento do intestino delgado, em função dos tratamentos

Variáveis	Tratamentos <sup>1</sup>					Contrastes <sup>2</sup>				CV <sup>3</sup> (%)
	T1	T2	T3	T4	T5	C1	C2	C3	C4	
P34	23,08	21,96	21,95	22,61	21,86	..	..	..	..	..
Estômago vazio (%)	0,65	0,65	0,65	0,60	0,68	0,75	0,90	0,11	0,25	9,13
Pâncreas (%)	0,15	0,17	0,14	0,15	0,16	0,84	0,21	0,47	0,53	14,13
Fígado (%)	2,18	2,45	2,31	2,08	2,41	0,38	0,22	0,19	0,23	11,05
Intestino delgado vazio (ID) (%)	4,74	4,79	4,85	4,51	4,84	0,98	0,78	0,46	0,17	6,99
Ceco vazio (%) <sup>4</sup>	0,18	0,22	0,18	0,16	0,21	0,51	0,11	0,09	0,60	20,86
Comp. ID (m) <sup>5</sup>	15,40	15,53	16,90	15,79	15,75	0,37	0,37	0,41	0,19	7,22
Comp. Relativo ID (m/kg PV) <sup>6</sup>	0,68	0,71	0,77	0,70	0,73	0,24	0,52	0,78	0,11	8,70
Relação peso:comp. ID (g/m) <sup>7,8</sup>	70,38	67,56	62,81	64,87	66,92	0,02	0,19	0,16	0,40	5,09

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

<sup>2</sup>C1: T1 X média de T2, T3, T4 e T5; C2: T2 X média de T3, T4 e T5; C3: média de T3 e T4 X T5; C4: T3 X T4.

<sup>3</sup>Coefficiente de variação.

<sup>4</sup>Contraste significativo: C3: (P=0,09).

<sup>5</sup>Comprimento do intestino delgado.

<sup>6</sup>Comprimento relativo do intestino delgado (m/kg de peso vivo aos 34 dias de experimentação).

<sup>7</sup>Relação peso:comprimento do intestino delgado.

<sup>8</sup>Contraste significativo: C1: (P=0,02).

Nota: sinal convencional utilizado:

.. Não se aplicada dado numérico.

Os leitões dos tratamentos com aditivos (T2, T3, T4 e T5) apresentaram menor média na relação peso:comprimento do intestino delgado ( $P=0,02$ ), quando comparado com os leitões do tratamento controle (T1). Este resultado pode ter sido consequência do elevado consumo de ração dos leitões que receberam o tratamento controle (T1), uma vez que a ingestão de alimentos interfere na altura das vilosidades e na profundidade das criptas (PLUSKE; HAMPSON; WILLIAMS, 1997) e aumenta a massa intestinal (BURRIN et al., 2001). Pode ter ocorrido também, maior presença de microrganismos no intestino delgado dos animais do tratamento controle (T1), levando à maior irritação da mucosa intestinal e, conseqüentemente, aumentando seu peso.

O tratamento butirato (T4) apresentou uma relação peso:comprimento do intestino delgado 7,8% menor que a do tratamento controle (T1), apesar do elevado CDR. O butirato pode ter diminuído a quantidade de microrganismos produtores de toxinas aderidos ao epitélio intestinal. Este modo de ação mantém a integridade dos enterócitos, não promovendo irritações no epitélio e, conseqüentemente, não aumentando sua espessura e massa (ANDERSON et al., 1999).

Os leitões dos tratamentos fitogênico (T3) e butirato (T4) apresentaram menor média no peso relativo do ceco ( $P=0,09$ ) quando comparado com os leitões do tratamento fitogênico + butirato (T5). O butirato e o fitogênico individualmente adicionados às dietas animais podem ter agido sobre os microrganismos presentes neste órgão, diminuindo a produção de ácidos graxos voláteis, os quais fornecem energia para desenvolvimento dos enterócitos (LIN; VISEK, 1991). Assim, a menor produção destes ácidos pode ter acarretado em menor taxa de replicação celular no epitélio intestinal dos leitões, levando à redução no peso relativo do ceco. Como discutido anteriormente, pode ter ocorrido um efeito antagônico quando o fitogênico e o butirato foram misturados (T5) que prejudicasse a atuação deles sobre os órgãos dos animais.

Os demais órgãos digestórios, assim como o comprimento e o comprimento relativo do intestino delgado dos animais, não foram influenciados ( $P>0,10$ ) pelos tratamentos, mesmo quando comparados os contrastes específicos de interesse. Estes resultados estão de acordo com outros trabalhos, em que a adição de extratos vegetais e ácidos orgânicos não alterou os pesos relativos do intestino delgado e do cólon de suínos (NAMKUNG et al., 2004) e os pesos relativos do fígado, pâncreas, intestino delgado e intestino grosso de frangos (HERNÁNDEZ et al., 2004).

No presente estudo, observou-se que os animais que receberam o tratamento antimicrobiano apresentaram, numericamente, maior peso relativo do pâncreas e do fígado em relação aos animais que receberam os demais tratamentos. Os antimicrobianos podem apresentar efeito direto sobre o metabolismo do animal, aumentando a atividade das enzimas citosólicas, ativando aminoácidos e incorporando-os às proteínas do fígado, influenciando diretamente no desempenho animal (MENTEN, 1995). No entanto, no presente estudo, os animais que receberam o tratamento antimicrobiano apresentaram desempenho ligeiramente inferior ao dos animais que receberam o tratamento controle ( $P>0,05$ ), talvez, pela ausência de desafio nas instalações experimentais ou pelas dietas altamente digestíveis fornecidas aos leitões, não possibilitando ao antimicrobiano demonstrar seus mecanismos de ação e, assim, não promover melhora na produção animal.

### 2.6.6 Digestibilidade aparente dos nutrientes

A Tabela 10 apresenta as médias dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta e energia bruta em função dos tratamentos. O Apêndice H mostra os resultados das análises bromatológicas e de cromo das amostras de fezes e ração.

Tabela 10 - Médias dos coeficientes de digestibilidade aparente (%) para matéria seca, proteína bruta e energia bruta em função dos tratamentos

Variáveis	Tratamentos <sup>1</sup>					Contrastes <sup>2</sup>				CV <sup>3</sup> (%)
	T1	T2	T3	T4	T5	C1	C2	C3	C4	
Matéria seca	85,89	85,05	85,21	85,99	84,52	0,33	0,79	0,18	0,38	1,44
Proteína bruta	79,77	78,02	77,84	79,69	77,39	0,18	0,80	0,27	0,20	2,44
Energia bruta <sup>4</sup>	85,77	84,96	84,97	85,76	83,71	0,24	0,85	0,07	0,42	1,57

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

<sup>2</sup>C1: T1 X média de T2, T3, T4 e T5; C2: T2 X média de T3, T4 e T5; C3: média de T3 e T4 X T5; C4: T3 X T4.

<sup>3</sup>Coefficiente de variação.

<sup>4</sup>Contraste significativo: C3: ( $P=0,07$ ).

Os leitões dos tratamentos fitogênico (T3) e butirato de sódio (T4) apresentaram maior média no coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta ( $P=0,07$ ), quando comparado com os leitões do tratamento fitogênico + butirato (T5), porém menor que os leitões do tratamento controle. Conforme elucidado anteriormente, pode ter ocorrido um efeito antagônico quando ambos aditivos foram misturados, fitogênico + butirato (T5), prejudicando a

eficiência dos mesmos sobre a digestibilidade aparente e, assim, não demonstrando seus efeitos sobre a digestão e absorção dos nutrientes.

A melhora da digestibilidade da energia, proporcionada pelos tratamentos fitogênico (T3) e butirato (T4), pode ter sido causada pela menor utilização da energia pela microbiota patogênica. Ambos aditivos apresentam efeitos diretos sobre a microbiota intestinal, promovendo a morte ou a estabilização de seu crescimento. Os microrganismos do trato digestório competem com o hospedeiro pelos nutrientes e, em suínos, até 6% da energia bruta da dieta pode ser perdida devido à fermentação microbiana (JENSEN, 1998 apud UTIYAMA, 2004). Os aditivos fitogênico (T3) e butirato de sódio (T4) podem ter atuado sobre os microrganismos patogênicos diminuindo a fermentação e aumentando a disponibilidade de energia para absorção. Estes aditivos possuem substâncias que podem estimular a produção de enzimas digestivas, promovendo melhora na digestibilidade dos nutrientes e maior disponibilidade dos mesmos (BRUGALLI, 2003). Outro modo de ação destes aditivos estaria relacionado com aumento no tempo de retenção gástrica (baixo esvaziamento gástrico) (MANZANILLA et al., 2004) e, conseqüentemente, aumento da atividade de enzimas. Devido a isso, moléculas de carboidratos, lipídios e proteínas podem ser melhor hidrolisadas promovendo efeito benéfico sobre a digestão e absorção dos nutrientes (GABER; SAUER, 1994).

Os diferentes tratamentos não promoveram diferenças ( $P>0,10$ ) nos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca e da proteína bruta. Manzanilla et al. (2006), estudando a adição de butirato de sódio e extratos vegetais na ração de leitões recém-desmamados também não encontraram diferenças significativas no coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca. Por outro lado, Mroz et al. (2000) observaram maior coeficiente de digestibilidade da matéria seca em leitões recebendo ácido butírico em suas dietas, mas não encontraram melhora no coeficiente de digestibilidade da proteína bruta. Em um estudo com frangos, Hernández et al. (2004) observaram maiores coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca e proteína bruta para os animais que receberam extratos vegetais em suas dietas.

O tratamento controle (T1) apresentou altos coeficientes de digestibilidade aparente para a matéria seca, proteína bruta e energia bruta. Uma possível explicação seria, conforme já enfatizado, a alta digestibilidade das dietas, uma vez que os diferentes aditivos não conseguiram demonstrar seu efeito sobre a digestão e absorção dos nutrientes da ração, quando comparado com o tratamento controle.

### 2.6.7 Frequência de diarreia

As porcentagens médias de ocorrência de diarreia estão apresentadas na Tabela 11, para os períodos de 1 a 14 e 1 a 34 dias de experimentação. O Apêndice I mostra as médias por baía da frequência de diarreia (porcentagem dos dias com diarreia).

Tabela 11 - Médias de frequência de diarreia (MFD, %) para os períodos de 1 a 14 e 1 a 35 dias de experimentação

Período	Tratamentos <sup>1</sup>					Contrastes <sup>2</sup>				CV <sup>3</sup> (%)
	T1	T2	T3	T4	T5	C1	C2	C3	C4	
MFD (%) 1 a 14 dias	7,41	7,99	18,53	10,89	11,47	0,55	0,49	0,74	0,46	52,61
MFD (%) 1 a 34 dias	5,76	5,76	9,76	8,34	8,11	0,72	0,64	0,90	0,86	73,78

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

<sup>2</sup>C1: T1 X média de T2, T3, T4 e T5; C2: T2 X média de T3, T4 e T5; C3: média de T3 e T4 X T5; C4: T3 X T4.

<sup>3</sup>Coefficiente de variação.

Não foram observadas diferenças ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos para a frequência de diarreia no período de 1 a 14 e 1 a 35 dias de experimentação, mesmo quando comparados os contrastes específicos de interesse. Estes resultados estão de acordo com outros trabalhos no qual não foi observado diferenças significativas entre os tratamentos quando leitões recém-desmamados receberam ácido fórmico e/ou extratos vegetais (MANZANILLA et al., 2004) e probiótico, ou prebiótico, ou extratos vegetais (UTIYAMA et al., 2006) como substitutos do antibiótico em suas rações. Porém, estes dados discordam dos obtidos por (PARTANEN et al., 2007), em que os leitões que receberam ácido fórmico ou avilamicina em suas rações apresentaram menor incidência de diarreia que os leitões do tratamento controle.

No período de 1 a 14 dias pode-se observar, em valores numéricos, que os aditivos fitogênico e butirato de sódio, individuais ou misturados às rações, foram menos eficazes em controlar a diarreia quando comparados com os tratamentos controle negativo (T1) e positivo (T2). A menor porcentagem de diarreia, principalmente no período de 1 a 14 dias pós-desmame para o tratamento controle (T1), pode ser devido à alta digestibilidade da ração fornecida aos animais. Esta pode ter reduzido a quantidade de substrato não digerível e disponível aos patógenos no lúmen intestinal e, conseqüentemente, reduzido o efeito dos aditivos sobre a microbiota patogênica. Resíduos alimentares não digeridos e não absorvidos servem como substratos para fermentação pela microbiota intestinal, elevando a produção de ácido lático e

ácidos graxos voláteis. Estes substratos, juntamente com íons (sódio, potássio e cloreto), aumentam a osmolaridade do conteúdo intestinal. Devido a isso, ocorre um afluxo de água para a luz intestinal, por uma dificuldade na reabsorção de água, desencadeando o processo diarreico (ETHERIDGE; SEERLEY; HUBER, 1984; NABUURS; ZIJDERVELD; LEEUW, 1993).

O estresse à desmama, o transporte, novos ambientes e novos lotes de animais são fatores importantes para o desencadeamento da diarreia em leitões. Estes fatores levam a distúrbios fisiológicos que comprometem o desempenho animal, principalmente nos primeiros 14 dias pós-desmame.

Grande parte da população microbiana está presente no intestino grosso dos suínos. No entanto, tem sido estabelecido que a microbiota do intestino delgado é de suma importância na determinação da diarreia (BUDDLE; BOLTON, 1992) e pode afetar, também, o sistema imune (ANDERSON et al., 1999). No intestino delgado, os lactobacilos são os de maior presença, seguido pelas enterobactérias, como a *E. coli*, extremamente patogênica para os suínos, principalmente nas fases de maternidade e creche. Estes são importantes por manterem a biodiversidade, sendo um indicador da estabilidade da microbiota intestinal (ZOETENDAL et al., 2004). A alta biodiversidade deve produzir um efeito benéfico no desempenho animal porque evita a proliferação de um único grupo de bactérias que levaria a um desbalanço microbiano e à diarreia (MANZANILLA et al., 2006). Os promotores de crescimento agem sobre os microrganismos matando-os ou inibindo seu crescimento. Todavia, ambientes de baixo desafio e dietas altamente digestíveis impedem o crescimento da microbiota patogênica e, conseqüentemente, o efeito positivo dos aditivos promotores de crescimento.

### 3 CONCLUSÕES

Em relação ao tratamento controle, os aditivos fitogênicos, o butirato de sódio, a combinação de fitogênico e butirato e até mesmo a colistina não proporcionaram melhoras no desempenho, alterações no pH dos conteúdos do estômago, jejuno e ceco e não influenciaram na frequência de diarreia dos animais. Porém, eles demonstraram eficácia na manutenção ou no aumento da densidade de vilos no jejuno. Em condições de creche experimental, não ficou evidenciado efeito dos aditivos fitogênicos e do butirato de sódio como promotores de crescimento de leitões recém-desmamados alimentados com dietas complexas e altamente digestíveis. No entanto, há indicações de que os aditivos fitogênicos e o butirato de sódio, individualmente adicionados às dietas dos leitões, podem favorecer e melhorar a digestibilidade e algumas características histológicas e morfométricas.



## REFERÊNCIAS

ALÇIÇEK, A.; BOZKURT, M.; ÇABUK, M. The effects of an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. **South African Journal of Animal Science**, Pretoria, v. 33, p. 89-94, 2003.

\_\_\_\_\_. The effect of a mixture of herbal essential oils, an organic acid or a probiotic on broiler performance. **South African Journal of Animal Science**, Pretoria, v. 34, p. 217-222, 2004.

ALVES, E. **Apostila do curso introdutório à microscopia eletrônica de varredura**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, Departamento de Fitopatologia, 2004. 430 p.

ANDERSON, D.B.; McCracken, V.J.; AMINOV, R.I. SIMPSON, J.M.; MACKIE, R.I.; VESTERGEN, M.W.A.; GASKINS, H.R. Gut microbiology and growth-promoting antibiotics in swine. **Pigs News Information**, Doetinchen, v.20, p.115-122, 1999.

ARAÚJO, C.A.C.; LEON, L.L. Biological activities of *Curcuma longa* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 5, p. 723-728, 2001.

ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICAL CHEMISTIS. **Official methods of analysis**. 13<sup>th</sup> ed. Washington, 1980. 1035 p.

BIAGI, G.; PIVA, A.; MOSCHINI, M.; VEZZALI, E.; ROTH, F.X. Effect of gluconic acido on piglet growth performance, intestinal microflora, and intestinal wall morphology. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 84, p. 370-378, 2006.

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**, Savoy, v. 85, p. 1184-1191, 2007.

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

\_\_\_\_\_. Influence of fumaric acid and propanediol formate on piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 59, p. 143-149, 1988b.

Excluído:

BOTSOGLOU, N.A.; CHRISTAKI, E.; FLETOURIS, D.J. FLOROU-PANERI, P.; SPAIS, A.B. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. **Meat Science**, Barking, v.62, p.259-265, 2002a.

BOTSOGLOU, N.A.; FLOROU-PANERI, P.; CHRISTAKI, E.; FLETOURIS, D.J.; SPAIS, A.B. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. **British Poultry Science**, London, v.43, p.223-230, 2002b.

BOTSOGLOU, N.A.; FLETOURIS, D.J.; FLOROU-PANERI, P.; CHRISTAKI, E.; SPAIS, A.B. Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary *oregano* essential oil and  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation. **Food Research International**, Cambridge, v.36, p.207-213, 2003a.

BOTSOGLOU, N.A.; GOVARIS, A.; BOTSOGLOU, E.N.; GRIGOROPOULOU, S.H.; PAPAGEORGIOU, G. Antioxidant activity of dietary oregano essential oil and  $\alpha$ -tocopheryl acetate in long-term frozen stored turkey meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.51, p.2930-2936, 2003b.

BOTSOGLOU, N.A.; FLOROU-PANERI, P.; CHRISTAKI, E.; GIANNENAS, I.; SPAIS, A.B. Performance of rabbits and oxidative stability of muscle tissues as affected by dietary supplementation with oregano essential oil. **Archives of Animal Nutrition**, Birmingham, v.58, n.3, p. 209-218, 2004.

BRAZ, D.B. **Acidificantes como alternativas aos antimicrobianos melhoradores do desempenho de leitões na fase de creche**. 2007. 78 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

Excluído: .

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

BUDDLE, J.R.; BOLTON, J.R. The pathophysiology of diarrhoea in pigs. **Pig News Information**, Doetinchen, v. 13, p. 41N-45N, 1992.

BURRIN, D.G.; STOLL, B.; VAN GOUDOEVER, J.B.; REEDS, P.J. Nutrition requirements for intestinal growth and metabolism in the developing pig. In: LINDBERG, J.E.; OGLE, B. (Ed.). **Digestive physiology of pigs**. Wallingford: CABI Publishing, 2001. chap. 19, p. 75-78.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, p. 223-253, 2004.

BUTOLO, J.E. Uso de aditivos na alimentação de aves: frangos de corte. In: SIMPÓSIO SOBRE AS IMPLICAÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS DO USO DE ADITIVOS NA PRODUÇÃO ANIMAL, 1999, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: UNIMEP, 1999. p. 85-98.

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

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

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. **Microingredientes:** microingredientes na alimentação animal. São Paulo: Sindirações; Anfal, 1998. 45 p.

COSTA, L.B. **Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamados.** 2005. 50 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

COSTA, L.B.; TSE, M.L.P.; MIYADA, V.S. Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 3, p. 589-595, 2007.

CROMWELL, G.L. Antibiotics for food-producing animals na American perspective. In: SIMPÓSIO SOBRE AS IMPLICAÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS DO USO DE ADITIVOS NA PRODUÇÃO ANIMAL, 1999, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: UNIMEP, 1999. p. 129-142.

CROSS, D.E.; SVOBODA, K.; McDEVITT, R.M.; ACAMOVIC, T. The performance of chickens fed diets with and without thyme oil and enzymes. **British Poultry Science**, London, v. 44, n. 1, S18-S19, 2003.

DEMIR, E.; SARICA, S.; ÖZCAN, M.A.; SUIÇMEZ, M. The use of natural feed additives as alternatives for an antibiotic growth promoter in broiler diets. **British Poultry Science**, London, v. 44, n. 1, p. 44-45, 2003.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, New York, v. 88, p.308-316, 2000.

DUFFY, C.F.; KILLEEN, G.F.; CONNOLLY, C.D.; POWER, R.F. Effects of dietary supplementation with *Yucca schidigera* Roehl ex Ortgies and its saponin and non-saponin fractions on rat metabolism. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, p. 3408-3413, 2001.

ESSAWI, T.; SROUR, M. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 70, p. 343-349, 2000.

ETHERIDGE, R.D.; SEERLEY, R.W.; HUBER, T.L. The effect of diet on fecal moisture, osmolarity of fecal extracts, products of bacterial fermentation and loss of minerals in feces of weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.58, p.1403-1411, 1984.

FERREIRA, V.Q. **Desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo ácidos orgânicos**. 1995. 64 p. Dissertação (Mestrado em Nutrição de Monogástricos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1995.

FREITAS, R. **O alho (*Allium sativum*) como estimulante do crescimento de frangos de corte em comparação com promotores de crescimento usados na indústria de rações**. 1992. 60 p. Dissertação (Mestrado em Nutrição de Monogástricos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1992.

FUKAYAMA, E.H. **Extrato de orégano como aditivo em rações de frangos de corte**. 2004. 48p. Dissertação (Mestrado em Nutrição de Monogástricos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

GABERT, V.M.; SAUER, W.C. The effects of supplementing diets for weanling pigs with organic acids. **Journal of Animal and Feed Sciences**, Jablonna, v. 3, p. 73-87, 1994.

GARDINER, G.E.; CAMPBELL, A.J.; O'DOHERTY, J.V.; PIERCE, E.; LYNCH, P.B.; LEONARD, F.C.; STANTON, C.; ROSS, R.P.; LAWLOR, P.G. Effect of *Ascophyllum nodosum* extract on growth performance, digestibility, carcass characteristics and selected intestinal microflora populations of grower-finisher pigs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 141, p. 259-273, 2008.

GIESTING, D.W.; ROOS, M.A.; EASTER, R.A. Evaluation of the effect of fumaric acid and sodium bicarbonate addition of performance of starter pigs fed diets of different types. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 69, p. 2489-2496, 1991.

GUO, F.G.; KWAKKEL, R.P.; SOEDE, J.; WILLIAMS, B.A.; VERSTEGEN, M.W.A. Effect of a Chinese herb medicine formulation, as an alternative for antibiotics, on performance of broilers. **British Poultry Science**, London, v. 45, p. 793-797, 2004.

HAGMÜLLER, W.; JUGL-CHIZZOLA, M.; ZITTERL-EGLSEER, K.; GABLER, C.; SPERGSEER, J.; CHIZZOLA, R.; FRANZ, C. The use of *Thymi herba* as feed additive (0.1%, 0.5%, 1.0%) in weanling piglets with assessment of the shedding of haemolysing *E. coli* and the detection of thymol in the blood plasma. **Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift**, Berlin, v. 119, p. 50-54, 2006.

HARRIS, J.C.; COTTREL, S.L.; PLUMMER, S.; LLOYD, D. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). **Applied Microbiology Biotechnology**, Oxon, v. 57, p. 282-286, 2001.

HENRY, P.; AMMERMAN, C.B.; CAMPBELL, D.R. Effect of antibiotics on tissue trace mineral concentration and intestinal tract weight of broiler chicks. **Poultry Science**, Beekbergen, v. 66, p. 1014-1018, 1987.

HERMANN, J.R.; HONEYMAN, M.S.; ZIMMERMAN, J.J.; THACKER, B.J.; HOLDEN, P.J.; CHANG, C.C. Effect of dietary *Echinacea purpurea* on viremia and performance in porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infected nursery pigs. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.81, p.2139-2144, 2003.

HERNÁNDEZ, F.; MADRID, J.; GARCÍA, V.; ORENGO, J.; MEGÍAS, M.D. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. **Poultry Science**, Beekbergen, v.83, p.169-174, 2004.

JAMROZ, D.; WERTELECKI, T.; HOUSZKA, M.; KAMEL, C. Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, München, v.90, p. 255-268, 2006.

JAMROZ, D.; WILICZKIEWICZ, A.; WERTELECKI, T.; ORDA, J.; SKORUPINSKA, J. Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and domestic grains. **British Poultry Science**, London, v. 46, p. 485-493, 2005.

JAMROZ, D.; ORDA, J.; KAMEL, C.; WILICZKIEWICZ, A.; WERTELECKI, T.; SKORUPINSKA, J. The influence of phytogetic extract on performance, nutrients digestibility, carcass characteristic and gut microbial status in broiler chickens. **Journal of Animal and Feed Science**, Poland, v. 12, p. 583-593, 2003.

JANSSENS, G; NOLLET, L. Sodium butyrate in animal nutrition. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2., 2002, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: CBNA, 2002. p. 239-250.

JUGL-CHIZZOLA, M.; SPERGSER, J.; SCHILCHER, F.; NOVAK, J.; BUCHER, A.; GABLER, C.; HAGMULLER, W.; ZITTERL-EGLSEER, K. Effects of *Thymus vulgaris* L. as feed additive in piglets and against haemolytic *E. coli* in vitro. **Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift**, Berlin, v. 118, p. 495-501, 2005.

JUNTACHOTE, T.; BERGHOFER, E.; SIEBENHANDL, S.; BAUER, F. The antioxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork. **Meat Science**, Oxon, v. 72, p. 446-456, 2006.

KAMEL, C. A novel look at a classic approach of plant extracts. **Feed Mix – The International Journal on Feed, Nutrition and Technology**, Doetinchen, v.9, n.6, p.19-24. 2000. (Special issue).

KARANIKA, M.S.; KOMAITIS, M.; AGGELIS, G. Effect of aqueous extract of some plants of Lamiaceae family on the growth of *Yarrowia lipolytica*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.64, p.175-181, 2001.

KILLEEN, G.F.; MADIGAN, C.A.; CONNOLLY, C.R.; WALSH, G.A.; CLARK, C.; HYNES, M.J.; TIMMINS, B.F.; JAMES, P.; HEADON, D.R.; POWER, R.F. Antimicrobial saponins of *Yucca schidigera* and the implications of their *in vitro* properties for their *in vivo* impact. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, p. 3178-3186, 1998.

KINDLEIN, L. **Efeito de IgG e IGF-I das primeiras refeições lácteas sobre a flutuação sérica e características do epitélio intestinal em bezerros recém-nascidos**. 2006. 100 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

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

LAMBERT, R.J.W.; SKANDAMIS, P.N.; COOTE, P.J.; NYCHAS, G.J.E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.91, p.453-462, 2001.

LAURIDSEN, C.; BUCKLEY, D.J.; MORRISSEY, P.A. Influence of dietary fat and vitamin E supplementation on  $\alpha$ -tocopherol levels and fatty acid profiles in chicken muscle membranaral fractions and on susceptibility to lipid peroxidation. **Meat Science**, Barking, v. 46, n. 1, p. 9-22, 1997.

LEE, K.G.; SHIBAMOTO, T. Determination of antioxidant potencial of volatile extracts isolated from various herbs and spices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.50, p. 4947-4952, 2002.

LEE, K.W.; EVERTS, H.; KAPPERT, H.J.; FREHNER, M.; LOSA, R.; BEYNEN, A.C. Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. **British Poultry Science**, London, v. 44, p. 450-457, 2003.

LIMA, G.J.M.M. Uso de aditivos na produção de suínos. In: SIMPÓSIO SOBRE AS IMPLICAÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS DO USO DE ADITIVOS NA PRODUÇÃO ANIMAL, 1999, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: UNIMEP, 1999. p. 51-68.

LIN, H.C.; VISEK, W.J. Colon mucosal cell damage by ammonia in rats. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 121, p. 887-893, 1991.

LOPEZ-BOTE, C.J.; GRAY, J.I.; GOMAA, E.A.; FLEGAL, C.J. Effect of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat. **British Poultry Science**, London, v. 39, p. 235-240, 1998.

MADSEN, H.L.; BERTELSEN, G.; SKIBSTED, L.H. Antioxidative activity of spice extracts. In: RISCH, S J.; HO, S.C.T. (Ed.). **Spices, flavor, chemistry and antioxidant properties**. Washington: American Chemical Society, 1997. chap. 14, p. 176-187.

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

MANZANILLA, E.G.; NOFRARÍAS, N.; ANGUITA, M.; CASTILHO, 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**, Savoy, v. 84, p. 2743-2751, 2006.

MARIANNE N.L.; MARCHEN, S.; LEIF, H.S. The combined effect of antioxidants and modified atmosphere packaging on protein and lipid oxidation in beef patties during chill storage. **Meat Science**, Savoy, v. 76, p. 226-233, 2007.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 2000. 220 p.

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

MELLOR, S. Alternatives to antibiotic. **Pig Progress**, Doetinchen, v. 16, p. 18-21, 2000.

MENTEN, J.F.M. **Eficácia, efeito sinérgico e modo de ação de agentes antimicrobianos como promotores do crescimento de suínos**. 1995. 106 p. Tese (Livre Docência em Suinocultura) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.

\_\_\_\_\_. Probióticos, prebióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Cascavel. **Anais...** Cascavel: CBNA, 2003. p. 107-138.

MOLLY, K. Formulation to solve the intestinal puzzle. **Pig Progress**, Doetinchen, v. 17, n. 8, p. 20-22, 2001.

MROZ, Z.; GRELA, E.R.; KRASUCKI, W.; KIES, A.K.; SCHONER, F.J. Microbial phytase in combination with formic acid for reproductive sows. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 76, Suppl. 1, Abstract 177, 1998.

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**, Savoy, v. 78, p. 2622-2632, 2000.

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**, Amsterdam, v. 55, p. 78-84, 1993.

NAMKUNG, H.; LI, M.; GONG, J.; YU, H.; COTTRILL, M.; DE LANGE, C.F.M. Impact of feeding blends of organic acids and herbal extracts on growth performance, gut microbiota and digestive function in newly weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 84, n. 4, p. 697-704, 2004.

NASCIMENTO, G.G.F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P.C.; SILVA, G.L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 31, p. 247-256, 2000.

NASCIMENTO FILHO, V.F.; ABADALA, A.L.; KORNDORFER, C.M. Sensibilidades analíticas de diferentes modos de excitação em fluorescência de raios X para medidas de traçadores em fezes de animais. In: ENCONTRO CIENTÍFICO DOS PÓS GRADUANDOS DO CENA/USP, 1997, Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba: CENA, 1997. p. 69.

NELDER, J. A.; WEDDERBURN, R. W. M. Generalized linear models. **Journal of Royal Statistical Society. Series A**, Ottawa, v.135, n.3, p. 370-384, 1972.

OETTING, L.L. **Extratos vegetais como promotores do crescimento de leitões recém-desmamados**. 2005. 66 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

OETTING, L.L.; UTIYAMA, C.E.; GIANI, P.A.; RUIZ, U.S.; MIYADA, V.S. Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 4, p. 1389-1397, 2006.

OMOGBENIGUM, F.O.; NYACHOTI, C.M.; SLOMINSKI, B.A. The effect of supplementing microbial phytase and organic acids to a corn-soybean based diet fed to early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 81, p. 1806-1813, 2003.

OZER, H.M.; SHOKMEN, M.; GULLUCE, M.; ADIGUZEL, A.; SAHIN, F.; SOKMEN, A.; KILIC, H.; BARIS, O. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of *Hippomarathun microcarpum* (Bieb.) from turkey. **Journal Agriculture Food Chemistry**, Oxon, v. 55, p. 937-942, 2007.

PAPAGEORGIU, G.; BOTSOGLOU N.; GOVARIS, A.; GIANNENAS, I.; ILIADIS, S.; BOTSOGLOU, E. Effect of dietary oregano oil and a-tocopheryl acetate supplementation on iron-induced lipid oxidation of turkey breast, thigh, liver and heart tissues. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 87, p. 324-335, 2003.

PARTANEN, K. Uso de aditivos na produção de suínos. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS E TECNOLOGIA NA PRODUÇÃO DE RAÇÕES, Campinas, 2002. **Anais...** Campinas: CBNA, 2002. p. 45-62.

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

PARTANEN, K.; SILJANDER-RASI, H.; PENTIKÄINEN, J.; PELKONEN, S.; FOSSI, M. Effects of weaning age and formic acid-based feed additives on pigs from weaning to slaughter. **Archives of Animal Nutrition**, London, v. 61, n. 5, p. 336-356, 2007.

PENZ JR., M.; SILVA, A.B. da; RODRIGUES, O. Ácidos orgânicos na alimentação de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Piracicaba. **Anais...** Santos: APINCO, 1993. p. 111-119.

PIVA, A.; CASADEI, G.; BIAGI, G. An organic acid blend can modulate swine intestinal fermentation and reduce microbial proteolysis. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 82, p. 527-532, 2002.

PLATEL, K.; SRINIVASAN, K. Influence of dietary spices or their active principles on digestive enzymes of small intestinal mucosa in rats. **International Journal Food Sciences and Nutrition**, Abingdon, v.47, p. 55-59, 1996.

\_\_\_\_\_. Digestive stimulant action of spices: A myth or reality? **Indian Journal of Medical Research**, New Delhi, v. 119, p. 167-179, 2004.

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

PLUSKE, J.R.; WILLIAMS, I.H.; AHERNE, F.X. Maintenance of villous height and crypt depth in piglets by providing continuous nutrition after weaning. **Animal Science**, Penicuik, v.62, p.131-144, 1996.

PLUSKE, J.R.; KERTON, D.J.; CRANWELL, P.D.; CAMPBELL, R.G.; MULLAN, B.P.; KING, R.H.; POWER, G.N.; PIERZYNOWSKI, S.G.; WESTROM, B.; RIPPE, C.; PEULEN, O.; DUNSHEA, F.R. Age, sex, and weight at weaning influence organ weight and gastrointestinal development of weanling pigs. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 54, p. 515-527, 2003.

POUILLART, P.R. Role of butyric acid and its derivatives in the treatment of colorectal cancer and hemoglobinopathies. **Life Sciences**, Stockholm, v. 63, n. 20, p. 1739-1760, 1998.

RACANICCI, A.M.C.; DANIELSEN, B.; SKIBSTED, L.H. Mate (*Ilex paraguariensis*) as a source of water extractable antioxidant for use in chicken meat. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 227, p. 255-260, 2008.

RACANICCI, A.M.C.; DANIELSEN, B.; MENTEN, J.F.M.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; SKIBSTED L.K. Antioxidant effect of dittany (*Origanum dictamnus*) in pre-cooked chicken meat balls during chill-storage in comparison to rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **European Food Research and Technology**, Berlin, v.218, p.521-524, 2004.

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**, Savoy, v. 76, p. 1880-1886, 1998.

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

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**, Savoy, v. 70, p. 196-206, 1992.

RØDTJER, A.; SKIBSTED, L.H.; ANDERSEN, M.L. Antioxidative and prooxidative effects of extracts made from cherry liqueur pomace. **Food Chemistry**, Oxon, v. 99, p. 6-14, 2006.

ROEDIGER, W.E. The colonic epithelium in ulcerative colitis: an energy-deficiency disease? **Lancet**, London, v. 4, p. 712-715, 1980.

ROSTAGNO, H.S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 2. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia, 2005. 186 p.

SALVAT, A.; ANTONNACCI, L.; FORTUNATO, R.H.; SUAREZ, E.Y.; GODOY, H.M. Screening of some plants from northern Argentina for their antimicrobial activity. **Letters in Applied Microbiology**, Oxon, v. 32, p. 293-297, 2001.

SCHÖNE, F.; VETTER, A.; HARTUNG, H.; BERGMANN, H.; BIERTÜMPFEL, A.; RICHTER, G.; MÜLLER, S.; BREITSCHUH, G. Effects of essential oils from fennel (*Foeniculi aetheroleum*) and caraway (*Carvi aetheroleum*) um pigs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, München, v. 90, p. 500-510, 2006.

SI, W.; GONG, J.; TSAO, R.; ZHOU, T.; YU, H.; POPPE, C.; JOHNSON, R.; DU, Z. Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, Oxon, v. 100, p. 296-305, 2006.

SILVA, M. C. **Ácidos orgânicos e suas combinações em dietas para leitões desmamados aos 21 dias de idade**. 2002. 64 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

SRINIVASAN, D.; NATHAN, S.; SURESH, T.; PERUMALSAMY, P.L. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, Berlin, v. 74, p. 217-220, 2001.

SONCINI, R.A. Restrições do uso de aditivos na alimentação animal: expectativa da agroindústria. In: SIMPÓSIO SOBRE AS IMPLICAÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS DO USO DE ADITIVOS NA PRODUÇÃO ANIMAL, 1999, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: UNIMEP, 1999. p.99-104.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**. Cary, 2001. 155 p.

STRYER, L. **Biochemistry**. 3<sup>rd</sup> ed. New York: WH Freeman, 1988. 881 p.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos**. Rio de Janeiro: Livraria Alheneu, 1990. 515 p.

THAELA, M.J.; JENSEN, M.S.; CORNELISSEN, G.; HALBERG, F.; NODDEGAARD, F.; JAKOBSEN, K.; PIERZYNOWSKI, S.G. Circadian and ultradian variation in pancreatic secretion of meal-fed pigs after weaning. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 76, p. 1131-1139, 1998.

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

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

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**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 2359-2367, 2006.

VIEIRA, R.H.S.F; RODRIGLES, D.P.; GONÇALVEZ, F.A; MENEZES, F.G.R.; ARAGÃO, J.S.; SOUSA, O.V. Microbicidal effect of medicinal plant extract (*psidium guajava* Linn and *Carica papaya* Lin) upon bactéria isolated from fish muscle and known to induce diarrhea in children. **Revista Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 43, n. 3, p. 145-148, 2001.

VIOLA, E.S.; VIEIRA, S.L. Ácidos orgânicos e suas misturas em dietas de suínos. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2003. p. 255-284.

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

WALSH, M.C.; SHOLLY, D.M.; HINSON, R.B.; SADDORIS, 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**, Savoy, v. 85, p. 1799-1808, 2007b.

WANG, R.; BOURNE, S. Can 2000 years of herbal medicine history help us solve problems in year 2000?. In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 14., 1998, Nottingham. **Proceedings...** Nottingham: ALLTECH, 1998. p. 168-184.

WINDISCH, W.M.; SCHEDLE, K.; PLITZNER, C.; KROISMAYR, A. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 86, p. 140-148, 2007.

YOUNG, J.F.; STAGSTED, J.; JENSEN, S.K.; KARLSSON, A.H.; HENCKEL, P. Ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopherol and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. **Poultry Science**, Beekbergen, v. 82, p. 1343-1351, 2003.

ZOETENDAL, E.G.; COLLIER, C.T.; KOIKE, S.; MACKIE, R.I.; GASKINS, H.R. Molecular ecology analysis of the gastrointestinal microbiota: Review. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 134, p. 465-472, 2004.

ZUCCHI, O.L.A.D.; NASCIMENTO FILHO, V.F. Caracterização qualitativa e quantitativa de elementos, pela técnica de fluorescência de raios X, em suplementos minerais para animais. I. Dispersão de comprimento de onda. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 1427-1439, 1995.

## **APÊNDICES**

APÊNDICE A - Peso vivo (kg) dos animais ao 1º, 14º e 34º dia do período experimental, considerando a média da unidade experimental

Dias de experimento	Bloco	Tratamentos <sup>1</sup>				
		T1	T2	T3	T4	T5
1º dia	1	8,08	8,18	8,19	8,23	8,15
	2	8,11	7,35	7,34	7,35	7,41
	3	6,65	6,67	6,51	6,47	6,53
	4	5,58	5,53	5,51	5,44	5,55
	5	6,02	5,92	6,05	6,09	5,90
	6	5,46	5,42	5,39	5,45	5,53
	7	5,00	5,09	5,09	4,98	5,00
	8	4,50	4,66	4,69	4,52	4,59
	Média	6,18	6,10	6,10	6,07	6,08
14º dia	1	14,80	12,88	13,96	14,23	12,42
	2	14,45	11,56	13,05	11,83	13,39
	3	11,96	12,01	12,64	10,92	12,38
	4	9,37	10,10	9,95	11,35	10,70
	5	10,55	9,33	9,98	10,21	9,41
	6	9,19	10,08	8,15	8,82	10,21
	7	7,60	8,49	8,74	9,39	8,01
	8	7,79	8,10	8,18	9,65	7,69
	Média	11,29	10,49	11,07	11,94	10,06
35º dia	1	26,82	23,76	22,53	25,79	21,27
	2	24,93	21,74	22,73	22,20	24,03
	3	22,70	22,92	23,62	21,49	22,60
	4	17,86	19,43	18,93	20,96	19,53
	5	22,03	19,08	20,22	20,21	19,39
	6	19,68	21,29	17,41	17,11	21,80
	7	16,68	18,15	17,51	19,67	16,82
	8	16,13	18,85	17,37	20,91	16,07
	Média	21,47	21,30	19,95	23,35	18,67

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

APÊNDICE B - Consumo diário de ração por leitão (g) nos períodos de 1 a 14 e 1 a 34 dias, considerando a média da unidade experimental

Dias de experimento	Bloco	Tratamentos <sup>1</sup>				
		T1	T2	T3	T4	T5
1 a 14 dias		630,48	500,00	579,05	589,52	470,95
		636,67	459,05	540,00	471,43	625,24
		500,95	483,33	567,62	429,05	511,90
		397,14	397,14	403,33	542,38	463,33
		451,43	359,05	422,38	397,14	356,67
		354,29	425,71	318,57	365,71	456,19
		278,57	351,43	397,14	421,43	328,57
		326,19	320,95	347,14	521,90	279,05
		Média	446,96	412,08	446,90	467,32
1 a 34 dias		900,39	797,25	695,29	849,41	660,39
		846,67	705,10	754,71	692,55	804,90
		757,45	748,24	802,94	677,65	736,67
		667,25	748,24	614,90	622,94	562,75
		792,35	643,73	710,39	660,59	661,96
		684,31	739,02	634,90	565,88	780,98
		569,41	622,16	619,41	715,49	565,29
		536,86	676,86	638,24	812,16	476,08
		Média	719,34	710,07	683,85	699,58

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

APÊNDICE C - Ganho diário de peso por leitão (g) nos períodos de 1 a 14 e 1 a 34 dias, considerando a média da unidade experimental

Dias de experimento	Bloco	Tratamentos <sup>1</sup>				
		T1	T2	T3	T4	T5
1 a 14 dias		480,00	335,71	412,38	428,10	304,76
		452,86	300,95	407,62	320,00	426,67
		379,05	381,43	437,62	318,10	417,62
		270,95	326,19	317,14	421,90	368,10
		323,33	243,81	280,48	294,29	250,95
		266,19	332,86	197,14	240,95	333,81
		185,71	243,33	260,48	314,76	214,76
		234,76	245,71	249,52	366,67	221,43
		Média	324,11	301,25	320,30	338,10
1 a 34 dias		551,18	458,24	421,76	516,27	385,88
		513,43	423,33	452,55	436,67	488,82
		471,96	478,04	503,14	441,96	472,55
		411,18	456,47	394,71	408,82	361,18
		470,78	387,06	416,67	415,49	396,67
		418,24	466,67	353,53	343,14	478,43
		343,53	384,31	365,29	432,16	347,65
		341,96	417,25	373,14	482,06	337,45
		Média	440,28	433,92	410,10	434,57

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

APÊNDICE D - Conversão alimentar nos períodos de 1 a 14 e 1 a 34 dias, considerando a média da unidade experimental

Dias de experimento	Bloco	Tratamentos <sup>1</sup>				
		T1	T2	T3	T4	T5
1 a 14 dias		1,31	1,49	1,40	1,38	1,55
		1,41	1,53	1,32	1,47	1,47
		1,32	1,27	1,30	1,35	1,23
		1,47	1,22	1,27	1,29	1,26
		1,40	1,47	1,51	1,35	1,42
		1,33	1,28	1,62	1,52	1,37
		1,50	1,44	1,52	1,34	1,53
		1,39	1,31	1,39	1,42	1,26
		Média	1,39	1,38	1,42	1,39
1 a 34 dias		1,63	1,74	1,65	1,65	1,71
		1,65	1,67	1,67	1,59	1,65
		1,60	1,57	1,60	1,53	1,56
		1,62	1,64	1,56	1,52	1,56
		1,68	1,66	1,70	1,59	1,67
		1,64	1,58	1,80	1,65	1,63
		1,66	1,62	1,70	1,66	1,63
		1,57	1,62	1,71	1,68	1,41
		Média	1,63	1,64	1,67	1,61

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

APÊNDICE E – Valores de altura de vilosidade (AV  $\mu\text{m}$ ), profundidade de cripta (PC  $\mu\text{m}$ ), relação altura de vilosidade:profundidade de cripta (AV:PC) e densidade de vilosidades (DV) do duodeno e do jejuno dos animais abatidos ao final do período experimental

Tratamento	Bloco	AV	PC	AV:PC	DV	AV	PC	AV:PC	DV
		duodeno	duodeno	duodeno	duodeno	jejuno	jejuno	jejuno	jejuno
T1	1	231,30	97,18	2,38	37,00	312,09	103,64	3,01	47,00
T1	2	310,47	107,34	2,89	44,67	296,85	100,18	2,96	52,50
T1	3	341,86	119,80	2,85	33,00	364,26	145,66	2,50	50,33
T1	4	307,35	106,88	2,88	43,33	295,01	107,11	2,75	63,50
	Média	297,75	107,80	2,75	39,50	317,05	114,15	2,81	53,33
T2	1	258,53	116,80	2,21	40,00	230,14	96,03	2,40	69,70
T2	2	277,23	103,64	2,67	53,33	272,38	85,64	3,18	50,50
T2	3	266,38	97,87	2,72	34,75	270,31	97,18	2,78	60,00
T2	4	286,70	91,64	3,13	50,33	289,23	97,18	2,98	66,50
	Média	272,21	102,49	2,68	44,60	265,52	94,01	2,83	61,68
T3	1	283,46	105,95	2,68	58,00	315,09	121,65	2,59	64,67
T3	2	234,07	69,94	3,35	45,00	446,20	95,57	4,67	53,00
T3	3	381,57	108,95	3,50	42,00	251,79	96,12	2,62	57,50
T3	4	250,69	93,03	2,69	49,67	246,76	99,49	2,48	59,00
	Média	287,45	94,47	3,05	48,67	314,96	103,21	3,09	58,54
T4	1	423,81	132,50	3,20	39,00	340,25	128,11	2,66	79,67
T4	2	274,69	108,26	2,54	32,33	320,63	112,88	2,84	58,00
T4	3	346,48	97,18	3,57	34,50	304,70	92,80	3,28	69,33
T4	4	272,38	107,34	2,54	49,67	330,09	117,49	2,81	62,00
	Média	329,34	111,32	2,96	38,88	323,92	112,82	2,90	67,25
T5	1	288,54	100,41	2,87	37,00	331,94	119,11	2,79	59,00
T5	2	328,94	122,57	2,68	37,00	283,00	108,26	2,61	59,50
T5	3	269,52	104,43	2,58	32,50	372,57	127,19	2,93	64,67
T5	4	279,77	99,03	2,83	41,67	294,08	89,10	3,30	59,00
	Média	291,69	106,61	2,74	37,04	320,40	110,92	2,91	60,54

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

## APÊNDICE F - Valores de pH do estômago, do jejuno e do ceco

Tratamento	Bloco	Duodeno	Jejuno	Ceco
T1	1	2,14	6,96	5,80
T1	2	2,11	7,43	6,21
T1	3	3,76	7,07	6,58
T1	4	3,08	7,37	6,13
	Média	2,77	7,21	6,18
T2	1	2,85	7,30	6,43
T2	2	4,15	7,16	6,22
T2	3	3,05	6,86	6,41
T2	4	4,48	7,32	6,38
	Média	3,63	7,16	6,36
T3	1	2,46	7,23	5,73
T3	2	3,21	7,50	5,96
T3	3	2,59	7,29	6,01
T3	4	1,93	7,39	6,40
	Média	2,55	7,35	6,03
T4	1	4,51	6,62	5,71
T4	2	2,47	7,17	6,05
T4	3	2,80	7,34	6,33
T4	4	1,92	7,13	5,99
	Média	2,93	7,07	6,02
T5	1	4,62	6,93	5,98
T5	2	4,82	7,22	6,09
T5	3	2,58	7,27	6,03
T5	4	2,49	7,17	6,20
	Média	3,63	7,15	6,08

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

APÊNDICE G - Pesos absolutos (g) dos órgãos digestórios, assim como do comprimento e da relação peso:comprimento do intestino delgado e peso vivo (kg) dos animais abatidos ao final do período experimental

Trat	Bloco	Estômago vazio (g)	Pâncreas (g)	Fígado (g)	ID vazio (g)	Ceco (g)	Comp. ID (m)	Rel. P/C (g/m)	Peso vivo (kg)
T1	1	180,00	40,00	583,00	1153,00	39,00	14,42	79,96	26,82
T1	2	152,00	40,00	473,00	1145,00	33,00	16,57	69,10	24,93
T1	3	145,00	33,00	474,00	1077,00	38,00	15,57	69,17	22,70
T1	4	124,00	26,00	457,00	952,00	47,00	15,04	63,30	17,86
	Média	150,25	34,75	496,75	1081,75	39,25	15,40	70,38	23,08
T2	1	173,00	48,00	538,00	1270,00	43,00	17,70	71,75	23,76
T2	2	137,00	44,00	542,00	977,00	50,00	15,78	61,91	21,74
T2	3	125,00	32,00	526,00	973,00	47,00	14,24	68,33	22,92
T2	4	131,00	25,00	537,00	983,00	52,00	14,40	68,26	19,43
	Média	141,50	37,25	535,75	1050,75	48,00	15,53	67,56	21,96
T3	1	144,00	35,00	471,00	1200,00	40,00	17,59	68,22	22,53
T3	2	173,00	34,00	596,00	1072,00	50,00	16,81	63,77	22,73
T3	3	135,00	34,00	542,00	1084,00	37,00	17,30	62,66	23,62
T3	4	116,00	23,00	420,00	900,00	27,00	15,91	56,57	18,93
	Média	142,00	31,50	507,25	1064,00	38,50	16,90	62,80	21,95
T4	1	173,00	40,00	617,00	1325,00	48,00	17,92	73,94	25,79
T4	2	131,00	27,00	434,00	965,00	30,00	16,84	57,30	22,20
T4	3	129,00	37,00	381,00	869,00	29,00	13,14	66,13	21,49
T4	4	109,00	34,00	461,00	946,00	38,00	15,23	62,11	20,96
	Média	135,50	34,50	473,25	1026,25	36,25	15,78	64,87	22,61
T5	1	164,00	38,00	596,00	1156,00	53,00	15,85	72,93	21,27
T5	2	154,00	33,00	526,00	1104,00	52,00	16,13	68,44	24,03
T5	3	137,00	34,00	513,00	995,00	36,00	15,00	66,33	22,60
T5	4	139,00	32,00	460,00	960,00	42,00	16,01	59,96	19,53
	Média	148,50	34,25	523,75	1053,75	45,75	15,75	66,92	21,86

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

APÊNDICE H – Valores de matéria seca (%), proteína bruta (%), energia bruta (kcal/kg) e cromo (%) das amostras de rações e fezes

Amostra <sup>1</sup>	Matéria seca (%)	Proteína bruta <sup>2</sup> (%)	Energia bruta <sup>2</sup> (kcal/kg)	Cromo <sup>2</sup> (%)
Ração <sup>3</sup> T1	90,37	20,77	4426	0,038
Ração <sup>3</sup> T2	90,46	19,09	4440	0,038
Ração <sup>3</sup> T3	90,36	20,61	4422	0,038
Ração <sup>3</sup> T4	90,26	19,64	4416	0,038
Ração <sup>3</sup> T5	90,33	19,62	4424	0,038
Fezes T1	94,94	29,13	4380	0,257
Fezes T1	93,97	30,26	4465	0,258
Fezes T1	93,66	29,78	4571	0,274
Fezes T1	93,54	29,93	4446	0,279
Fezes T2	95,04	29,19	4544	0,243
Fezes T2	94,69	27,90	4467	0,243
Fezes T2	94,95	27,25	4381	0,298
Fezes T2	95,81	27,78	4460	0,231
Fezes T3	94,29	30,63	4455	0,278
Fezes T3	94,34	30,90	4534	0,229
Fezes T3	94,32	30,61	4474	0,248
Fezes T3	94,8	31,32	4502	0,268
Fezes T4	94,03	26,04	4512	0,308
Fezes T4	94,71	30,22	4442	0,247
Fezes T4	94,22	27,68	4477	0,253
Fezes T4	94,73	29,59	4532	0,276
Fezes T5	95,52	28,98	4613	0,250
Fezes T5	95,35	31,01	4640	0,246
Fezes T5	94,92	27,73	4598	0,261
Fezes T5	95,06	27,00	4757	0,220

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

<sup>2</sup>Valores expressos com base na matéria seca.

<sup>3</sup>Ração inicial com 0,05% de Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

APÊNDICE I – Média da frequência de diarreia (percentagem de dias com diarreia), por unidade experimental, no período de 1 a 14 e 1 a 34 dias de experimentação

Trat	Bloco	1 a 14 dias	1 a 34 dias
T1	1	48	23
T1	2	48	32
T1	3	27	0
T1	4	48	52
T1	5	0	0
T1	6	17	23
T1	7	24	23
T1	8	0	32
T2	1	48	40
T2	2	27	0
T2	3	27	23
T2	4	48	40
T2	5	24	0
T2	6	24	0
T2	7	24	40
T2	8	0	23
T3	1	64	23
T3	2	48	23
T3	3	39	0
T3	4	27	0
T3	5	51	46
T3	6	35	23
T3	7	47	40
T3	8	24	0
T4	1	71	58
T4	2	27	40
T4	3	48	0
T4	4	39	23
T4	5	17	40
T4	6	30	32
T4	7	24	23
T4	8	17	23
T5	1	0	52
T5	2	27	23
T5	3	48	0
T5	4	27	23
T5	5	35	23
T5	6	17	0
T5	7	39	46
T5	8	39	40

<sup>1</sup>T1=Controle; T2=Antimicrobiano; T3=Fitogênico; T4=Butirato de sódio e T5=Fitogênico + Butirato de sódio.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)